



## Kemik İliği Transplantasyonunda Kimerizm Analizi

### Chimerism Analysis in Bone Marrow Transplantation

Ebru Dünder Yenilmez<sup>1</sup>, Abdullah Tuli<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Adana, Turkey

#### ABSTRACT

Chimerism analysis is a diagnostic test to follow the donor blood cells and the lymph node in the recipient after allo-stem cell transplantation. The chimerism analysis in blood and bone marrow samples provides important information about engraftment of donor cells and the risk of relapse of the underlying disease. Chimerism analysis is performed with PCR using polymorphic DNA sequences like short tandem repeat (STR) markers. In this review we summarized the description of chimerism, types, the methods used, sample selection and the clinical importance of chimerism analysis.

**Key words:** Chimerism, hematopoietic stem cell transplantation.

#### ÖZET

Kimerizm analizi, allo-kök hücre transplantasyonundan sonra verici kaynaklı lenf bezi ve kan hücrelerinin alıcıda bulunması şeklinde uygulanan bir tanı testidir. Kan ve kemik iliği örneklerinde yapılan bu analiz, donör hücrelerinin engraftmanı ve altta yatan hastalık relapsının riski hakkında önemli bilgiler verir. Kimerizm analizi, "Polimeraz Chain Reaction" yöntemi kullanılarak, "Short Tandem Repeats" gibi polimorfik DNA dizi belirteçleri yardımıyla gerçekleştirilir. Bu derlemede, kimerizm tanımı, tipleri, kullanılan analiz tekniği, örnek seçimi ile kimerizm analizinin klinik önemi özetlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Kimerizm, hematopoietik kök hücre transplantasyonu.



## Giriş

Kimerizm, genetik olarak farklı olan iki hücre grubunun aynı organizmada bulunması durumudur<sup>1</sup>. Kimerizm sözcüğü Yunan mitolojisinde yer alan ve Likya'da terör estiren, aslan başlı, keçi gövdeli, şeytan kuyruklu, ağzından ateş saçan "Chimera" adlı bir canavardan köken almıştır<sup>2,3</sup>. Kan transfüzyonları, kök hücre transplantasyonu, organ transplantasyonu, canlıda dölleme gibi tedavi seçeneklerinde edinsel kimerizm ortaya çıkabilir ve geçici ya da kalıcı kimeraların oluşmasına sebep olabilir<sup>3</sup>. Bu derlemede, kimerizmin tanımı, tipleri, kullanılan analiz tekniği, örnek seçimi ile kimerizm analizinin klinik önemi özetlenmiştir.

## Kimerizm Kullanım Alanı

Kemik iliği transplantasyonu, kemik iliği kök hücrelerinin hastanın kendisinden kendisine veya başka birinden hastaya verilmesi işlemidir. Kendi iliğinin geri verilmesi işlemine 'otolog', başka birinden alınan kök hücrelerin verilmesi işlemine 'allojeneik' transplant denilmektedir<sup>4</sup>. Kök hücre nakli günümüzde çocuklarda pek çok hematolojik, kalıtsal, metabolik ve malign hastalıkta tedavi edici bir yöntem olarak başarı ile kullanılmaktadır<sup>3</sup>.

Kök hücre transplantasyonunun günümüzde 3 uygulama şekli vardır: allojeneik, otolog (kendinden olan) ve sinjeneik kök hücre transplantasyonu. Kök hücre kaynağı olarak da kemik iliği yanında periferik kök hücre, kordon kanı ve fetal karaciğer hücrelerinden faydalanılmaktadır. Kök hücrelerin verildiği gün 0. gün olarak kabul edilir. Bu günden sonra ortalama 2 hafta içinde kan hücreleri düzelmeye başlar. Bu durum yeni iliğin oluştuğunun göstergesidir. Tam kanıtlamak için kemik iliği değerlendirmesi yapılır. Alınan örnekte vericinin dokusuna ait belirteçlere bakılır. Bu işleme kimerizm analizi denir<sup>4,5</sup>. Hematopoietik kök hücre transplantlarında kimerizm, Allo-kök hücre transplantasyonundan sonra verici kaynaklı lenf bezi ve kan hücrelerinin alıcıda bulunması şeklinde tanımlanır. İlik tamamen verici kaynaklı hale dönüşür, bazı transplantasyon türlerinde ise bu dönüşüm zamanla olur. Kimerizm allo-kök hücre transplantasyonlarından sonra greftin kabulü ya da reddinin takibinde yol göstericidir<sup>6,7</sup>.

## Kimerizm Tipleri

Allo-kök hücre naklinden sonra görülen kimerizm verici ve alıcıdan köken alan hücrelerin varlığına göre değişik şekillerde gelişebilir (Tablo 1)<sup>7</sup>. Genel olarak alıcının hematopoietik

dokularında verici kaynaklı hücrelerin >%95 bulunması Tam Kimerizm olarak adlandırılır. Genel olarak verici hematopoezinin konağının yerini aldığına işaret eder. Alıcıda verici kaynaklı hücrelerin %5-95 arasında bulunması ise Miks (Karma) Kimerizm olarak ifade edilir, lenfositler gibi hücresel kompartmanlarda hem verici hem de alıcı hücrelerin varlığını gösterir<sup>4</sup>. Split kimerizm terimi, vericiden bir veya daha fazla kompartman türediğinde kullanılabilir.

Nakil sonrası gelişen kimerizm dinamik bir olaydır. Tam kimerik bir olgu Miks kimerizm hale gelebilir veya bunun tersi olabilir. Miks kimerizimli olgularda ise hastaya (alıcıya) ait otolog kök hücre miktarı artabilir ya da azalabilir ya da sabit kalabilir<sup>6</sup>. Artan Miks Kimerizm bazen sadece alıcı tipi hücrelerin oluşması ile sonlanabilir (Otolog geri dönüşüm). Bir hücre tipinde (örn; T-hücreleri) verici tipi Tam Kimerizm, diğerlerinde ise toplam ya da kısmen alıcı tipi kimerizm olması Split kimerizm olarak isimlendirilir<sup>7</sup>. Mikrokimerizm ise %0.1-0.3 arasında verici tipi hücrelerin görülmesi ile gelişen bir Miks Kimerizm durumudur. Graft Versus Host Hastalığı (GVHH: Verici bağışıklık sisteminin alıcının sağlıklı dokularına saldırması sonucu oluşan bir durumdur.) üzerine etkili olabilir<sup>8</sup>.

Kimerizm analizi, günümüzde allojeneik kök hücre nakli sonrası, kalan alıcı hücrelerinin miktarını tespit etmek için yapılan rutin bir tanı yöntemidir<sup>8</sup>. Kan ve kemik iliği örneklerinde alıcı ve verici hücre dengesinin analizi, verici hücrelerinin engraftmanı ve altta yatan hastalık tekrarı riski hakkında önemli bilgiler verir<sup>8</sup>. Kimerizm analizi, PCR kullanılarak, kısa ardışık tekrarlar (STR) gibi polimorfik DNA dizileri, tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) ve insersiyon/delesyon (INDEL) belirteçleri yardımıyla gerçekleştirilir<sup>9</sup>. Transplant sonrası yeni kan oluşum sisteminin menşeinin tanımlanması, verici kök hücre engraftmanının izlemi ve olası hastalık tekrarının takibi açısından önemlidir<sup>10,11</sup>.

## **Kök Hücre Transplantasyonunda Kimerizm Testleri İçin Örnek Seçilmesi ve Ölçümlerin Sıklığı**

Kök hücre transplantasyonunda kimerizm testleri için çevre kanı ya da kemik iliği örnekleri kullanılabilir. Kimerizm takibi için allojeneik kök hücre transplantasyonu öncesi alıcının çevre kanı örneklerinden kişinin genetik materyali (DNA) elde edilir<sup>12</sup>. Habis kan hastalıklarında, yoğunluğu azaltılmış hazırlık rejimli kök hücre transplantasyonu yapıldığında kimerizm tipi

GVHH veya greft kaybının erken göstergesi olabilir. Bu olgularda kimerizm ölçümlerinin daha sık aralarla (her 2-4 haftada bir) yapılması önerilmektedir<sup>13</sup>.

**Tablo 1. Kimerizm Tipleri<sup>7</sup>**

Kimerizm Tipi	Tanımlama	İçerik
Tam Kimerizm	%100 verici hücresi saptanması	Çoğu çalışma semikantitatif ve az sayıda konak hücresi saptanamaz olabilmesine rağmen tam kimerizm tam lenfohematopoetik yerine geçmeyi ifade eder.
Miks Kimerizm	Verilen hücresele kompartmanda örneğin lenfositlerden konak hücreler saptanması	Genelde %5-10 verici hücresi miks kimerizm olarak kabul edilir. Genel olarak konak lenfohematopoetik hücrelerin herhangi bir güvenilir tespiti miks kimerizm olarak dikkate alınabilir.
Split Kimerizm	Bir veya daha fazla konak hücre serisi ve bir ya da daha çok verici hücre serisi saptanması	Split kimerizmin ayrıntıları kesindir, örneğin miyeloid hücreler %100 konak ve T-hücreleri %100 vericidir.
Mikrokimerizm	<%1 konak hücrelerin saptanması	Mikrokimerizm organ transplantasyonunda yüksek derecede duyarlı teknikler kullanılarak belirlenebilir. Allojeneik kök hücre transplantasyonundan sonra kullanımı önerilmez.

## Sonuç

Kimerizm analizleri için duyarlı ve bilgilendirici teknikler kullanılmalıdır. Kimerizm ölçümü için çevre kanı hücreleri genellikle kemik iliğinden daha faydalıdır. Akut lösemili hastalarda nüksleri erken değerlendirmek ve takip için kemik iliği örnekleri kullanılabilir. T-hücre uzaklaştırılmış transplantasyonlarda, yoğunluğu azaltılmış hazırlık rejimli kök hücre

transplantasyonlarda veya GVHH tedavisi için yeni profilaktik rejimlerin kullanıldığı durumlarda kimerizm ölçümleri transplant sonrası 1, 3, 6. ve 12. aylara yapılmalıdır.

Habis olmayan hastalıklarda kimerizm tayini genellikle transplant sonrası 1, 2. ve 3. aylarda yapılmalıdır. Bu grupta yer alan hastalıklarda verici tipi kimerizmi arttıracak girişimler altta yatan hastalığa göre yapılmalıdır. Çünkü bazı hastalıklarda (örn. ağır aplastik anemi) transplant sonrası otolog dönüşüm olduğu halde hastalık bulguları düzelebilir. Ayrıca bu girişimler sırasında GVHH gelişme olasılığı da göz önünde bulundurulmalıdır<sup>14-15</sup>.

## Kaynaklar

1. Hamerton JL, Harnes DWH. Cytological identification of radiation chimeras. *Nature*. 1956; 177:239-47.
2. Anderson D, Billingham RE, Lampkin GH, Medawar PB. The use of skin-grafting to distinguish between monozygotic and dizygotic twins in cattle. *Heredity*. 1951; 5:379-97.
3. Sargin D. Graft fonksiyonu ve kimerizm. 7.Ulusal Kemik İliği Transplantasyonu ve Kök Hücre Tedavileri Kongresi, Antalya, 2012.
4. Yılmaz S. Kadınlarda fetal Y kromozomu mikrokimerizminin nicel polimeraz zincir reaksiyon yöntemi ile saptanması (Yüksek lisans tezi). Ankara, Ankara Üniversitesi, 2005.
5. Barth E, Molorgio C, Tamaro P. Allogeneic bone marrow transplantation in hematologic disorders of childhood: new trends and controversies. *Haematologica*. 2000; 85:2-8.
6. Bader P, Niethammer D, Willasch A, Kreyenberg H, Klingebiel T. How and when should we monitor chimerism after allogeneic stem cell transplantation? *Bone Marrow Transplant*. 2005; 35:107-19.
7. Antin JH, Childs R, Filipovich AH, Giralt S, Mackinnon S, Spitzer T et al. Establishment of complete and mixed donor chimerism after allogeneic lymphohematopoietic transplantation: recommendations from a workshop at the 2001 Tandem Meetings of the International Bone Marrow Transplant Registry and the American Society of Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2001; 7:473-85.
8. Uzunel M, Hauenberger D. Allojeneik kök hücre transplantasyonu sonrası kimerizm analizi. *Türkiye Klinikleri J Hem Onc-Special Topics*. 2012; 5:94-9.
9. Bensinger WI, Martin PJ, Storer B, Clift R, Forman SJ, Negrin R et al. Transplantation of the bone marrow compared with peripheral blood cells from HLA-identical relatives in patients with hematological cancers. *New Engl J Med*. 2001; 344:175-81.

10. Shono Y, Ueha S, Wang Y, Abe J, Kurachi M, Matsuno Y et al. Bone marrow graft-versus-host disease: early destruction of hematopoietic niche after MHC-mismatched hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2010; 115:5401-11.
11. Aguila HL. Hematopoietic niches: targets of GVHD. *Blood*. 2010; 115:5284-85.
12. Nakamea H, Storer B, Sandmaier BM, Maloney DG, Davis C, Corey L et al. Cytopenias after day 28 in allogeneic hematopoietic cell transplantation: impact of recipient/donor factors, transplant conditions and myelotoxic drugs. *Haematologica*. 2011; 96:1838-45.
13. Bader P, Niethammer D, Willasch A, Kreyenberg H, Klingebiel T. How and when should we monitor chimerism after allogeneic stem cell transplantation? *Bone Marrow Transplant*. 2005; 35:107-19.
14. Stumph J, Vnencak-Jones CL, Koyama T, Frangoul H. Comparison of peripheral blood and bone marrow samples for detection of post transplant mixed chimerism. *Bone Marrow Transplant*. 2008; 41:589-90.
15. Lion T. Detection of impending graft rejection and relapse by lineage-specific chimerism analysis. *Methods Mol Med*. 2007; 134:197-216.

**Correspondence Address / Yazışma Adresi**

Ebru Dünder Yenilmez  
Çukurova Üniv. Tıp Fak.  
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı  
Adana, Turkey  
e-mail: edundar@cu.edu.tr