



Allojenik Kordon Kanı Transplantasyonu Allogeneic Cord Blood Transplantation

Banu Oflaz Sözmen¹, Mehmet Ertem²

¹Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Hematoloji ve Onkoloji Bilim Dalı, İstanbul, Turkey

²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Hematoloji ve Onkoloji Bilim Dalı, Ankara, Turkey

ABSTRACT

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is an established treatment modality for many malignant and benign hematologic, metabolic and immunologic disorders. Cord blood has been used as an alternative to bone marrow and peripheral blood as the graft source. The clinical experience with cord blood transplantation has gradually increased both in pediatric and adult patient populations. So far double cord blood transplantation, in vitro expansion of cord blood unit and infusion of the cord blood into bone marrow space has been studied to expand the clinical applications of cord blood transplantation. The HLA match between the selected units as well as the patient, nucleated cell number of the transfused unit(s) have been shown to be most important in the unit selection.

Key words: cord blood transplantation; hematopoietic stem cell transplantation; HLA

ÖZET

Allojenik hematopoetik kök hücre transplantasyonu günümüzde maliyn ve maliyn olmayan pek çok hematolojik ve metabolik hastalıkta, immün yetmezlik sendromlarında küratif bir tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır. Kordon kanının kemik iliği ve periferik kana alternatif kök hücre kaynağı olarak kullanımı uygun vericiye ulaşımın güçlüğü nedeni ile gündeme gelmiş ve özellikle son on yılda pediatrik ve yetişkin yaş gruplarında klinik uygulamalarda yerini almıştır. Günümüzde kordon kanı transplantasyonunun yaygınlaştırılması için çift kordon kanı ünitesi kullanılması, kordon kanının nakil öncesi sayıca çoğaltılması ve kemik iliği içine infüzyonu gibi uygulamalar kullanılmaktadır. Kordon kanı transplantasyonunda tedavi başarısını belirlemede seçilen kordon kanı üniteleri ve alıcı arasındaki HLA uyumu ile verilen çekirdekli hücre sayısı önem kazanmaktadır.

Anahtar kelimeler: kordon kanı transplantasyonu, hematopoetik kök hücre transplantasyonu, HLA



Giriş

Allojenik hematopoetik kök hücre transplantasyonu, günümüzde yüksek riskli hematolojik malinitelerde ve kemik iliği yetmezlikleri, hemoglobinopatiler, kalıtsal ağır immün yetmezlikler ve metabolik depo hastalıkları gibi pek çok maliyetli olmayan hastalıkta küratif bir tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır¹⁻³. Allojenik hematopoetik kök hücre transplantasyonu için en uygun verici, doku tipi tam uygun olan kardeş veya aile içi bireydir. Ancak tam uygun aile içi bir verici bulunması olasılığı sadece % 25-30'dur. Hastaların geri kalan büyük çoğunluğunda aile dışı gönüllü verici adaylarının arasından doku tipi uygun olan bir vericinin bulunması gerekmektedir.

Bu amaçla kemik iliği donör kayıt sistemi (NMDP) geliştirilmiştir. Günümüzde NMDP ve bağlantılı kayıt sistemlerinde 20 milyonu aşkın gönüllü yetişkin verici bulunmasına rağmen başta karışık etnik yapısı olan hastalar ve kayıt sisteminde az temsil edilen ırklara mensup hastalar olmak üzere pek çok hasta için her zaman uygun verici bulma olanağı olmamaktadır⁴. Ayrıca, araştırmalar sonunda uygun bir verici belirlense bile bu kişinin son yaşadığı yerin bulunması, halen gönüllü olup olmadığının saptanması, sağlık durumunun buna uygun olduğunun teyit edilmesi, uygunsa transplant öncesi gerekli olan incelemelerin tamamlanması gerekmektedir. Tüm bu işlemlerin sonunda verici adayının uygun olduğu kabul edilirse onun için uygun olan bir zamanda kemik iliğinin toplanıp hastaya ulaştırılması gerekmektedir. Tüm bu işlemler zaman alıcı ve masraflı olduğu gibi aynı zamanda verici için ağır verici olmaktadır. Bu nedenlerle allojenik hematopoetik kök hücre transplantasyonu uygulamalarında kök hücre kaynağı olarak kemik iliği veya periferik kanın kullanılmasına alternatif olarak kordon kanının kullanılması gündeme gelmiştir. Günümüze kadar yaklaşık 30.000 kordon kanı transplantasyonu yapılmıştır. Tüm dünyadaki allojenik kordon kanı bankalarında yaklaşık 600.000 kordon kanı ünitesi bulunmaktadır⁵.

Bu derlemede kordon kanı transplantasyonunun tarihçesi, kordon kanı hücrelerinin farklılıkları, günümüze kadar yayınlanmış olan kordon kanı transplantasyonu verileri ve bu verilerin kemik iliği transplantasyon sonuçları ile karşılaştırılması, kordon kanının verimliliğini arttırmak için kullanılan teknikler, başarılı bir kordon kanı transplantasyonu için verilmesi önerilen çekirdekli hücre sayısı ve HLA doku tipi uygunluğu önerileri üzerinde durulacaktır. Bu şekilde, nakil sonrası engrafmanın gerçekleşmesi için kordon kanı ile verilmesi gereken minimum çekirdekli hücre sayısının ne olduğu; kordon kanı transplantasyonu sonrası

engrafman yetersizliğinin sıklığı ve nedenlerinin ne olduğu, "Graft versus host" (GVH) hastalığının sıklığında beklenildiği gibi bir azalma gözlenip gözlemlenmediği, "Graft versus leukemia" (GVL) etkisinde bir azalma olup olmadığı ve bu nedenle lösemi nedeniyle nakil yapılan hastalarda nüks oranlarında artış görülüp görülmediği sorularına yanıt aranacaktır.

Tarihçe

Kordon kanının hematopoetik kök hücre açısından zengin olduğu ilk olarak 1970'li yılların başında yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir^{6,7}. Kordon kanının kök hücre transplantasyonu için bir kaynak olarak kullanılabilmesi ise ilk olarak 1982 yılında Edward A. Boyse tarafından öne sürülmüştür⁸. Aynı araştırmacının bu hipotezi kanıtlayabilmek için 1984-85 yıllarında hayvanlarda yürüttüğü çalışmalar sonucunda ablasyona uğratılmış farelere embriyo kanı verilerek hematopoetik hücrelerin yeniden yapılandırılabilmesi gösterilmiştir⁸. Yapılan hayvan çalışmalarının sonucunda bu yaklaşımın insanlarda da uygulanıp uygulanamayacağı gündeme gelmiştir. Bu amaçla Broxmeyer ve arkadaşları insan kordon kanının en verimli toplama ve saklama yöntemlerini araştırmaya başlamışlardır. Bu yürütülen araştırmalarda 100'den fazla kordon kanının dondurma işlemi öncesi ve sonrasındaki kök hücre sayıları, bu hücrelerin canlılığı ve ürünün sterilitesi incelenmiştir⁹. Kordon kanının en uygun toplama ve saklama yöntemlerinin bu araştırmalar sonucunda belirlenmesi ile resmi olmayan ilk kordon kanı bankası da bu laboratuvarın içerisinde kurulmuştur¹⁰. Yine bu laboratuvarında Fanconi aplastik anemili bir çocuğun sağlıklı ve doku tipi uygun olduğu gösterilmiş kardeşinin kordon kanı toplanarak saklanmıştır. Bu saklanan kordon kanı ile ilk transplantasyon Paris'te 6 Ekim 1988'de Gluckman ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir¹¹. Daha sonra 1991 yılında, lösemi tanısı ile iki çocuğa daha kardeşlerinin kordon kanı verilerek hematopoetik kök hücre transplantasyonu uygulanmıştır¹²⁻¹³.

Bu ilk başarılı klinik deneyimlerin sonucunda kordon kanının daha yaygın olarak aile dışı hastalar için de kullanımı gündeme gelmiştir. Bu amaç doğrultusunda doğum sonrası genellikle kullanılmayıp atılan kordon kanlarının toplanıp, dondurularak saklanması ile ilk kordon kanı bankacılığı resmi olarak 1992 yılında New York Kan Merkezi bünyesinde başlatılmıştır. Yine aynı yıl içerisinde kordon kanı transplantasyonunun gerçek fayda ve risklerini en kısa zamanda ve en doğru olarak saptayabilmek için Uluslararası Kordon Kanı Transplantasyon Kayıt Sistemi oluşturulmuştur⁸. Allojenik kordon kanı bankacılığının başlatılması sonucu Kurtzberg ve arkadaşları ilk olarak aile dışı bir bireyin kordon kanını

kullanarak, 1993 yılında başarılı bir hematopoetik kök hücre transplantasyonu gerçekleştirmiştir. Bunların sonucunda giderek artan sayıda kordon kanı transplantasyonu uygulanmış ve aile içi veya aile dışı bireylerin kordon kanı kullanılarak yapılan ilk allojenik kordon kanı transplantasyon hasta serileri sırasıyla 1995 ve 1996 yıllarında yayınlanmıştır^{14,15}. İlk deneyimlerden günümüze gelindiğinde, çoğunluğu çocuk ve aile dışı bireylerden olmak üzere toplam 30.000'den fazla kordon kanı transplantasyonu yapılmış ve kök hücre kaynağı olarak kemik iliğine alternatif olduğu kanıtlanmıştır⁵. Bu süreç içinde, allojenik transplantasyon amacı ile dünyadaki tüm allojenik kordon kanı bankalarında kullanılmaya hazır olarak bekleyen kordon kanı miktarı Ocak 2014 tarihi itibarıyla 601.000 üniteye ulaşmıştır (Bone marrow donors worldwide, bmdw.org).

Son yıllar içinde kordon kanının giderek artan sıklıkta hematopoetik kök hücre transplantasyonu amaçlı kullanılması ile birlikte klinik deneyimler artmış ve gerçekten kemik iliğine bir alternatif olup olmadığının daha yeterli verilere dayanılarak tartışılabilmesi mümkün olmuştur.

Kordon Kanı Hücrelerinin Farklılıkları

Kordon kanında bulunan hematopoetik kök hücreler erişkin kemik iliğindeki kök hücrelerden niteliksel olarak bazı farklılıklar gösterir. Kordon kanı, kök hücrelerin daha immatür olan altgrubu açısından erişkin kemik iliğine göre daha zengindir. Bu özellikteki kordon kanı kök hücreleri in vitro olarak daha büyük hematopoetik koloniler oluştururlar, büyüme faktörü gereksinimleri daha farklıdır, in vitro kültürlerde daha fazla çoğalabilirler ve daha uzun telomeraza sahiptirler¹⁶. Kordon kanı kök hücrelerinin in vitro olarak bu özelliklere sahip olması teorik olarak kemik iliğine göre daha az sayıdaki kök hücre miktarı ile hematopoetik engrafmanın gerçekleşebileceğini düşündürmektedir.

Kordon kanı hücrelerinin ikinci önemli farklılığı ise doğum sırasındaki immün sistemin immatür olmasıdır. Kordon kanı lenfositleri naif ve immatürdür; çift-negatif CD3+ hücreler açısından daha zengindirler ve daha az sitokin üretirler. Kordon kanı lenfositleri interferon-gama (IFN- γ), interlökin-4 (IL-4), ve interlökin-10 (IL-10) için yeterli fakat interlökin-2 (IL-2) için çok az mRNA transkriptleri eksprese ederler. Ancak poliklonal T-hücre repertuarı tam olarak gelişmiştir ve düşük seviyede CD95 nedeniyle de apoptozisten korunabilirler¹⁷. Sonuç olarak, erken NK ve T-hücre sitotoksitesi yetersizdir fakat sekonder aktivasyon olabilir. Bu preklinik çalışmalar sonucu, teorik olarak kordon kanı transplantasyonu sonrası daha fazla

aktive T-lenfosit içeren kemik iliği transplantasyonuna oranla daha az akut ve kronik GVH hastalığı gelişmesi fakat GVL etkisinin de korunması beklenebilir¹⁸. Bu teorik avantaj, tam uygun olmayan bireylerin kordon kanının kemik iliğine göre daha az komplikasyonla kullanılabilirliğini düşündürmektedir.

Kordon kanının 20 yildan daha uzun bir süre dondurularak saklanabileceği, çözülmesinden sonra hematopoetik kök hücre ve pluripotent hücre sayısının verimli olarak korunmuş olduğu gösterilmiştir. Kordon kanındaki hematopoetik kök hücrelerin engrafman kapasitesinin kemik iliğindekilerden daha fazla olduğu immünosupresif fare deneylerinde gsterilmiştir^{19,20}.

Klinik Deneyimler

A. Çocuklarda Aile İçi Bireylerden Kordon Kanı Transplantasyon Deneyimleri

ocuk hastalara doku tipi tam uygun kardeşten uygulanan kordon kanı transplantasyonu ile kemik iliği transplantasyonu sonuçlarını graft-versus-host hastalığı(GVHH) riski, hematopoetik engrafman zamanı ve sağkalım oranları açısından karşılaştırmak için Eurocord kordon kanı transplantasyon kayıt sistemi ile uluslararası kemik iliği transplantasyon kayıt sisteminin (CIBMTR) verileri kullanılarak karşılaştırmalı bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada 1990-1997 yılları arasında ocuk hastalara doku tipi tam uygun kardeşlerden yapılan 113 kordon kanı transplantasyon sonuçları ile 2052 kemik iliği transplantasyon sonuçları karşılaştırılmıştır. 113 hastanın 61 tanesine, 2052 hastanın 1263 tanesine hematolojik malinite ile nakil yapılmıştır. Kordon kanı transplantasyonu yapılan hastalarda nötrofil ve trombosit engrafmanının daha geç, akut ve kronik GVHH sıklığının daha düşük ve genel sağkalım oranlarının benzer olduğu grlmştr^{21,22}. Sonuç olarak çocuklarda malinite ve malinite dışı hastalıkların hematopoetik kök hücre transplantasyonu ile tedavisinde, aile içi bireylerden uygulanan HLA uygun kordon kanı transplantasyonunun HLA uygun kemik iliği transplantasyonuna alternatif olabileceği sonucuna varılmıştır.

Locatelli ve arkadaşlarının Eurocord ve EBMT(Avrupa kemik iliği transplantasyon grubu) grupları adına yaptıkları başka bir yayında ise talasemi major ve orak hücreli anemi tanıları ile HLA tam uygun kardeşten yapılan 96 kordon kanı transplantasyonu ve 389 kemik iliği transplantasyonu, toplam 485 hastanın sonuçları kıyaslanmıştır. Kemik iliği transplantasyonu yapılan hastalar ile kıyaslandığında kordon kanı transplantasyonu yapılan hastalar daha geç(ortanca yaş 6 ve 8), daha yakın zamanda tedavi görmüş(ortanca yıl 2001 ve 1999)

hastalar olarak saptanmıştır. Talasemi major tanılı Pessaro sınıf II-III olan hastalar kemik iliği grubunda kordon kanı grubuna kıyasla daha fazla bulunmuştur(%44 ve %39). Kemik iliği grubundaki hastalarla kıyaslandığında kordon kanı grubundaki hastalarda nötrofil ve trombosit engrafmanı daha geç olmuştur. Akut evre II-IV GVHH daha az görülmüştür. Yaygın kronik GVHH hiç görülmemiştir. 6 yıllık genel sağkalım arasında fark görülmemiştir(%95 ve %97). 6 yıllık hastaliksız sağkalım, talasemi majorlü hastalarda kemik iliği ve kordon kanı transplantasyonu sonrası sırasıyla %86 ve %80, orak hücreli anemi hastalarında %92 ve %90 olarak bulunmuştur. Çoklu değişken analizlerinde hastaliksız sağkalım oranlarında iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır.

Sonuç olarak hemoglobinopatilerde HLA tam uygun kardeşten uygulanan hematopoetik kök hücre nakillerinde kemik iliği ve kordon kanı transplantasyonları eşit derecede başarılı bulunmuştur. Kordon kanı transplantasyonu yapılan 96 hastanın detaylı analizinde 6 yıllık hastaliksız sağkalımın kullanılan hazırlama rejiminden bağımsız olarak, GVHH profilaksisi için metotreksat alan ve almayan grupta anlamlı farklı olduğu saptanmıştır. Metotreksat almayan grupta 6 yıllık hastaliksız sağkalım %90+/- 4 iken metotreksat alan grupta %60+/-4 bulunmuştur²³.

B. Çocuklarda Aile Dışı Bireylerden Kordon Kanı Transplantasyon Deneyimleri

Akut lösemili çocuk hastalarda aile dışı vericilerden uygulanan kordon kanı ve kemik iliği transplantasyonu sonuçlarını karşılaştırmak amacı ile çok merkezli, retrospektif bir çalışma yapılmıştır²⁴. Bu çalışmada akut lösemili toplam 541 çocuğa uygulanan 99 kordon kanı, 180 T-hücreden fakirleştirilmiş kemik iliği ve 262 manipüle edilmemiş kemik iliği transplantasyon sonuçları hasta, hastalık ve transplantasyona ait değişkenler göz önüne alınarak karşılaştırılmıştır. Bu 3 grup arasında alıcı ile verici arasındaki doku uygunluğu belirgin farklılık göstermektedir. HLA doku tipi uygunsuzluğu kordon kanı grubunun %92'sinde, T hücreden fakir kemik iliği grubunun %43'ünde ve manipüle edilmemiş kemik iliği grubunun ise sadece %18'inde vardır. Risk faktörleri göz önüne alınmadan bu 3 grup karşılaştırıldığında 2-yıllık hastaliksız yaşam kordon kanı, T hücreden fakir kemik iliği ve manipüle edilmemiş kemik iliği transplantasyon gruplarında sırası ile %31, %37 ve %43 oranında bulunmuştur. Ancak prognostik değişkenlere göre hesaplandığında 3 grup arasında hastaliksız yaşam açısından belirgin bir fark izlenmemiştir. Tüm değişkenler göz önüne alındığında kordon kanı grubunda, manipüle edilmemiş kemik iliği grubuna kıyasla hematopoetik engrafmanın daha geç olduğu,

transplanta bağlı mortalitenin daha yüksek olduğu ancak akut GVHH'nin daha az olduğu görülmüştür. T-hcrenden fakir kemik iliği nakli alıcılarında ise manipüle edilmemiş kemik iliği alıcılarına göre akut GVHH'nin daha az ve nüks riskinin ilk 100 gün içinde daha fazla olduğu izlenmiştir. Kronik GVH hastalığı T hcrenden fakir kemik iliği ve kordon kanı transplantasyonları sonrası daha az olarak gelişmiştir. Mortalite genelde T hcrenden fakir kemik iliği transplantasyonu yapılan grupta daha yüksek oranda izlenmiştir. zet olarak, prognostik değişkenler göz önüne alındığında bu 3 grubun uzun dönemde birbirlerine hiçbir üstünlüğü yoktur. Kordon kanı transplantasyonu sonrası engraftmandaki gecikme ve transplanta bağlı mortalite oranında artma, manipüle edilmemiş kemik iliği transplantasyonu sonrası daha yüksek oranda gelişen GVHH ile dengelenmektedir. Sonuç olarak bu kapsamlı çalışma, kordon kanının tam uygun kemik iliği bulunamayan akut lösemili çocuklar için uygun bir kök hücre kaynağı olduğunu göstermektedir.

Eapen ve arkadaşları uluslararası kemik iliği transplantasyon kayıt sistemi adına 2007 yılında akut lösemili çocuklarda 503 aile dışı kordon kanı transplantasyonu ve 282 kemik iliği transplantasyonu sonuçlarını kıyaslamalı olarak yayınlamıştır. Kordon kanı transplantasyonu yapılan hastaların 35'i HLA uygun, 201'i 1 antijen, 267'si 2 antijen HLA uygunsuz graft ile (HLA-A,B antijen düzeyinde, HLA-DRB1 allel düzeyinde incelenmiş); kemik iliği transplantasyonu alıcılarının 116'sı HLA uygun (HLA-A,B,C ve HLA-DRB1 allel düzeyinde uygun), 166'sı HLA uygunsuz graftlar ile transplante edilmiştir. HLA 1 veya 2 antijen uygunsuz kemik iliği ile nakil yapılan hastalarda evre 2-4 akut GVHH ve kronik GVHH daha fazla grlmştir. 5 yıllık lsemisiz sağkalım tüm gruplar arasında benzer, hatta HLA tam uygun kordon kanı transplantasyonu yapılan grupta kemik iliği transplantasyon grubuna oranla daha iyi bulunmuştur. 5 yıllık lsemisiz sağkalım, HLA tam uygun kemik iliği, HLA uygunsuz kemik iliği, HLA tam uygun kordon kanı ve 1 veya 2 antijen uygunsuz kordon kanı transplantasyonları sonrası sırası ile %38, %37, %60 ve %45'tir. Transplanta bağlı mortalite, verilen total çekirdekli hücre sayısı $3 \times 10^7/\text{kg}$ altında olan ve 1 HLA antijeni uygunsuz kordon kanı alıcılarında, 2 HLA antijeni uygunsuz kordon kanı alıcılarında ise verilen hücre dozundan bağımsız olarak daha yüksek bulunmuřtur²⁵. Çocuklarda kordon kanı ve kemik iliği transplantasyon çalışmalarının meta analizini yapan bir yayında akut evre 3-4 GVHH oranlarında farklılık bulunmazken, kronik GVHH kordon kanı alıcılarında daha az sıklıkta grlmştir. 2 yıllık genel sağkalım oranlarında farklılık bulunmamıřtır²⁶. Çocuklarda talasemi, orak hücreli anemi ve Fanconi aplastik anemisi gibi maliyn olmayan hastalıklarda,

HLA uygunsuz aile dışı kordon kanı transplantasyonu sonrası sağkalım oranları %40 olarak belirtilmiştir. Bu durumlarda sağkalımı iyileştiren faktörler verilen total çekirdekli hücre sayısının $5 \times 10^7/\text{kg}$ 'dan yüksek olması ve HLA uygun verici seçimi olarak tespit edilmiştir²⁷⁻²⁸.

C. Erişkinlerde Aile Dışı Bireylerden Kordon Kanı Transplantasyon Deneyimleri

Laughlin ve arkadaşları tarafından erişkin hastalardaki erken klinik deneyimleri aktaran yayında ölümcül hematolojik hastalığı olan 68 yetişkin hastaya myeloablative hazırlık sonrası HLA antijen uygunsuz aile dışı kordon kanı transplantasyonu uygulanmıştır. Bu erken sonuçlar hastaların %40'nın ilk yüz gün içinde ölmesi nedeni ile çocuklardaki kadar yüz güldürücü olmamıştır, ancak yetişkinlerde kordon kanı transplantasyonu sonrası engrafmanın sağlanabildiğini, ciddi akut ve kronik GVHH riskinin kabul edilebilir düzeyde olduğunu göstermesi açısından önemlidir²⁹. İlerleyen yıllarda Japonya'da tek merkezli bir çalışmada hematolojik malinite tanısı ile 68 kordon kanı, 45 kemik iliği transplantasyonu yapılan, toplam 113 hastanın sonuçlarının kıyaslamalı analizi yapılmıştır. Kordon kanı verilen grupta kemik iliği verilen gruba kıyasla nötrofil ve trombosit engrafmanının daha yavaş, akut evre 3-4 GVHH riskinin daha düşük olduğu ve transplanta bağlı mortalite oranlarında artış olmadığı gösterilmiştir. Kemik iliği grubunda 9 (%38) hasta, kordon kanı grubunda 10 (%63) hasta nöks/dirençli hastalık nedeni ile kaybedilmiştir. Bu fark çoklu değişken analizlerde anlamlı bulunmamıştır³⁰. Verilerin teyidi için daha geniş çaplı randomize bir çalışmaya ihtiyaç olsa da HLA uygun aile içi vericisi olmayan hastalar için sonuçlar umut verici bulunmuştur.

Erişkin, hematolojik malignite tanısı ile myeloablative hazırlama rejimi sonrası kordon kanı transplantasyonu yapılan hastalarda, mortaliteye etkisi olan faktörleri araştırmak için, 1995 ve 2005 yılları arasında Avrupa'da ve ABD'de, 3 uluslararası merkezin verilerinin toplandığı retrospektif bir çalışmada yapılmıştır. Bu çalışmada HLA 4-6 antijen uyumlu, aile dışı vericilerden yapılan, toplam 514 kordon kanı transplantasyonu verileri analiz edilmiştir. Yüzüncü gün, 6 aylık ve 1 yıllık sağkalım oranları sırasıyla %56, %46 ve %37 bulunmuş ve merkezler arasında fark saptanmamıştır. Çoklu değişken analizlerde verilen total çekirdekli hücre dozunun $2,5 \times 10^7/\text{kg}$ den az olması, ileri yaş, hastalığın ileri evrede olması, pozitif CMV serolojisi ve nakilin yapıldığı merkezin kordon kanı ile transplantasyon tecrübesi (10 yıldan az süredir kordon kanı transplantı yapılıyor olması) daha yüksek yüzüncü gün ve birinci yıl mortaliteleri ile ilişkili bulunmuştur³¹. Bu sonuçlarla kordon kanının erişkin hasta grubunda da

HLA uygun aile içi veya dışı kemik iliği donörü olmadığında hematopoetik kök hücre kaynağı olarak kullanılabileceği kabul edilmiştir.

Kordon Kanının Daha Yaygın Kullanılması İçin Uygulamalar

Kordon kanında sınırlı miktarda kök hücrenin bulunması bu önemli kök hücre kaynağının erişkinler ve büyük çocuklar için kullanımını sınırlamaktadır³². Bu nedenle kordon kanının verimliliğinin artırılması ve nakil stratejilerinin değerlendirilmesi söz konusu olmuştur. Aşağıda ana başlıklar altında kordon kanının daha yaygın kullanımını sağlamak için yapılan klinik uygulamalar özetlenmeye çalışılmıştır.

1. Çift Kordon Kanı Ünitesi Kullanılması

Erişkinlerde yapılan kordon kanı transplantasyon deneyimlerinin artması ve verilen total çekirdekli hücre sayısının sağkalıma etkisinin fark edilmesi sonrasında iki ünite kordon kanı ile transplantasyona yönelinmiştir³³⁻³⁴. Kilogram başına minimum gerekli çekirdekli hücre sayısının bir kordon kanı ünitesi ile sağlanamadığı hasta grubunda, daha çoğunlukla yetişkin hasta popülasyonunda, alıcı ve birbiri ile 4-6/6 HLA uyumlu iki kordon kanı ünitesinin engraftmanı sağladığı gösterilmiştir³³. Avery ve arkadaşlarının verilen hücre sayısının ve yüksek rezolüsyonlu HLA uygunluğunun engraftman üzerindeki etkisini araştıran çalışmasında çift kordon kanı ünitesi kullanılarak yapılan 84 nakil sonuçları incelenmiştir. %94 uzun süreli engraftman oranının hemen hemen tüm alıcılarda tek ünite tarafından sağlandığı gösterilmiştir. Yüksek CD3+ hücre sayısının ve yüksek canlı CD34+ hücre yüzdelerinin dominant ünitenin belirlenmesinde etkili olduğu gösterilmiştir. Myeloablatif hazırlama rejimi sonrası dominant üniteye toplam çekirdekli hücre sayısının, CD34 hücre oranının, koloni oluşturan ünite sayısının yüksek olmasının kalıcı ve hızlı nötrofil engraftmanı ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Yüksek rezolüsyonda alıcı ve verici arasındaki HLA uygunsuzluğunun engraftman ve ünite dominansında etkisi bulunmamıştır. Hastaya verilen iki ünite arasındaki HLA uyumu arttıkça (7-10 karşılık 10-10) ilk başta iki ünitenin de engraftmanı olduğu gözlenmiştir, ancak iki ünite arasındaki bu HLA uyumunun uzun süreli engraftmanı etkilemediği gösterilmiştir³⁴.

2. Kordon Kanının Ex Vivo Ekspansiyonu

Kordon kanındaki CD34+ hücrelerdeki endojen Notch reseptörlerinin hücre kültürlerinde, suni delta benzeri ligand 1 ile çoğaltıldığında aktive olduğu ve bu yolla CD34+ hücre sayısının 100 kata kadar artırılabilirdiği gösterilmiştir. Bu şekilde notch ile aktive edilmiş hücrelerin

engrafmanının immünsüpresif farelerde yapılan deneylerde daha hızlı olduğu gösterilmiştir³⁵. Yapılan ön klinik çalışmalarda bu yöntemle kordon kanındaki CD34+ hücre sayısının arttırılabildiği ve manipüle edilmemiş kordon kanı ünitesi ile birlikte nakil edildiğinde ortanca nötrofil engrafman süresini 16 güne düşürdüğü gösterilmiştir. Aynı merkezde eş zamanlı olarak çift kordon kanı ile nakil yapılan hastaların ortanca nötrofil engrafman süresi 26 gün olarak bildirilmiştir. Bu iki süre kıyaslandığında anlamlı farklı bulunmuştur³⁶. Aynı çalışmanın 2013 yılında olan güncellemesine göre notch ile çoğaltılmış kordon kanı nakli yapılan 17 hastanın, ortanca nötrofil engrafman süresi 11 güne kadar düşürülmüş ve eş zamanlı çift kordon kanı transplantasyonu yapılan 36 hastanın ortanca nötrofil engrafman süresi olan 26 gün ile kıyaslandığında anlamlı bulunmuştur³⁷.

Kordon kanının vücut dışında çoğaltılması için kullanılan başka bir teknik de kordon kanındaki hematopoetik öncü hücrelerin mezenkimal stromal hücreler ile kültüre edilmesidir³⁸. 2012 yılında yayımlanan bir makalede hematolojik malinite tanısı ile nakil yapılan yetişkin 31 hastaya mezenkimal kök hücre kültürü ile çoğaltılmış bir ünite kordon kanı ile manipüle edilmemiş kordon kanı birlikte verilmiştir. Kontrol grubu olarak manipüle edilmemiş çift kordon kanı ünitesi ile nakil yapılan 80 hastanın sonuçları değerlendirilmiştir. Çalışma ve kontrol gruplarında ortanca nötrofil engrafman süresi sırası ile 15 ve 24 gün ile anlamlı farklı, ortanca trombosit engrafman süresi ise sırasıyla 42 ve 49 gün olarak yine anlamlı farklı bulunmuştur. Çalışma grubunda alıcının kilosu başına düşen CD34+ hücre ve total çekirdekli hücre sayısının artması ile nötrofil engrafmanının hızlanması arasında anlamlı ilişki gösterilmiştir³⁹.

3. Kordon Kanının Kemik İliği İçine İnfüzyonu

Kordon kanı kök hücrelerinin kemik iliği içine enjeksiyonu ile yuvalanmasını arttırarak engrafman sürelerinin kısaltılabileceği düşünülmüştür. Bu amaçla bir grup araştırmacı kemik iliği içine tek ünite kordon kanı enjekte edilmek yoluyla nakil yapılan hastaların sonuçları ile çift ünite kordon kanı nakli yapılan hastaların sonuçlarını kıyaslamıştır. Kemik iliği içine enjekte edilen grupta nötrofil ve trombosit engrafmanın daha hızlı olduğu, akut GVHH oranlarının daha düşük olduğu belirtilmiştir⁴⁰. Ancak kıyaslanan iki grupta kullanılan hazırlama ve GVHH profilaksi rejimleri farklılık göstermektedir. Bu iki rejimin de aynı olduğu, prospektif kıyaslamalı bir çalışmanın sonuçları değerlendirilmeden kemik iliği içine infüzyon yöntemin anlamlı üstünlüğü hakkında yorum yapılması uygun değildir.

HLA Uygunluğu ve Hücre Sayısına Göre Kordon Kanı Ünitesinin Seçilmesi

Amerikan ulusal kemik iliği donör programı ve Eurocord önerilerine göre kordon kanı transplantasyonunda, standart olarak HLA -A ve -B için antijen düzeyinde (düşük ve orta çözünürlükte), -DRB1 için allel düzeyinde (yüksek çözünürlükte) HLA testi önerilmektedir⁴¹. 2006 ve 2008 yıllarında yayımlanan iki çalışmada maliyen hastalıklarda verici seçiminde çekirdekli hücre sayısının en az, toplamada 3×10^7 /kg, infüzyon sırasında 2.0×10^7 /kg olması, ideal HLA uyumunun 4-6/6 olması ve 2 antijen uyumsuzluk varsa HLA-DRB1 uyumlu olması önerilmektedir. Hücre miktarının fazla olmasının, 3-4 antijen uygunsuzluk dışında HLA uyumsuzluğunun olumsuz etkisini azalttığı gösterilmiştir. Malign olmayan hastalıklarda ideal HLA uyumu 5-6/6, kabul edilen en fazla HLA uyumsuz antijen sayısı 2, seçilen kök hücre kaynağında çekirdekli hücre sayısının en az toplamada 4.0×10^7 /kg, infüzyonda 3.5×10^7 /kg olması gerektiği gösterilmiştir⁴²⁻⁴³.

Pediyatrik ve erişkin, toplam 1061 lösemi ve myelodisplazi tanılı hastaya yapılan, aile dışı, tek ünite kordon kanı transplantasyonu sonuçları transplanta bağlı mortalitenin hücre dozundan bağımsız olarak en düşük HLA 6/6 (A ve B antijen, DRB1 allel düzeyinde) uygun ünitelerle yapılan transplant sonrası olduğunu göstermiştir⁴⁴. Çok değişkenli analizlerde HLA uygunsuzluğu arttıkça verilen hücre sayısının daha yüksek olması gerektiği, HLA 4/6 uygun ünitelerde 5/6 uygun ünitelere kıyasla transplanta bağlı mortalitenin benzer olabilmesi için verilen total çekirdekli hücre sayısının $2,5 \times 10^7$ /kg yerine $>5 \times 10^7$ /kg olması gerektiği gösterilmiştir⁴⁴. Yıllar içinde yapılan kordon kanı transplantasyonu sayısının artması ile allel düzeyinde HLA uyumunun transplant sonuçları üzerindeki etkisi hakkında bilgi artmaktadır.

2011 yılında Eapen ve arkadaşları tarafından uluslararası kemik iliği nakli kayıt sistemi ve Netcord verileri kullanılarak yapılan çalışmada, HLA -A,-B, -DR1 tam uyumlu kordon kanı transplantasyonlarında, nüks dışı mortalite HLA-C uyumsuzluğu olan grupta HLA-C uyumlu olan gruba göre istatistiksel anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur. Aynı fark 1 antijen uyumsuzluğu olan grupta da görülmüştür⁴⁵. Bu çalışmanın limitasyonu HLA uygunluğunun -A,-B,-C lokuslarında antijen düzeyinde çalışılmış olmasıdır. Aynı grubun 2014 Ocak ayında yayımladığı makalesinde, hematolojik malinite tanısı ile tek kordon kanı ünitesi kullanılarak yapılan kordon kanı transplantasyonlarında HLA A,B,C ve DRB1 lokuslarında allel düzeyinde uygunluğun nüks dışı mortaliteye etkisi incelenmiştir. Hematolojik malinite ve

myelodisplastik sendrom tanısı ile yapılmış, toplam 1568 kordon kanı transplantasyon verileri incelenmiş, alıcı ve vericinin HLA –A, -B, -C, -DRB1 lokuslarında allel düzeyinde uygunluğunda transplant dışı mortalitenin en düşük olduğu gösterilmiştir. Transplant dışı mortalite 1 veya 2 allel uygunsuz nakillerde 3 veya daha fazla allel uygunsuzluğu olanlara göre %10-15 daha düşük bulunmuştur. HLA uygunluğundan bağımsız olarak kordon kanı ünitesindeki total çekirdekli hücre sayısının 3x 107/kg'dan daha düşük olmasının transplant dışı mortaliteyi %15-20 oranında arttırdığı, bu düzeyin üstünde hücre içeren üniteler kullanıldığında ise transplant dışı mortalitede düşüş olmadığı gösterilmiştir. Bu verilere dayanarak minimum çekirdekli hücre sayısını içeren kordon kanı ünitesi sağlandıktan sonra allel düzeyinde en uygun ünitenin seçilmesi gerekliliği vurgulanmıştır⁴⁶. Uygun çekirdekli hücre sayısını içeren çok sayıda HLA uygunsuz kordon kanı ünitesi olması durumunda vericinin inherite edilmemiş maternal antijeninin(NIMA-non inherited maternal antigen) alıcının HLA'sı ile uyumunun transplanta bağlı mortaliteyi düşürdüğü gösterilmiştir⁴⁷.

Sonuç

Allojenik kordon kanı transplantasyonunun uygun hastalık, endikasyon ve hasta seçimi yapıldığı takdirde etkili bir tedavi yöntemi olduğu günümüzde kabul edilmiştir. Transplantasyon öncesi kordon kanı ünitesi veya ünitelerinin seçiminde HLA doku tipi uyumu ve verilecek ünitenin içerdiği total çekirdekli hücre sayısı tedavinin başarılı olabilmesi için önem taşımaktadır. Bu değerli tedavi yönteminin başarı oranlarını arttırmak ve klinik uygulama alanlarını genişletmek için yapılan preklinik ve klinik çalışmalar devam etmektedir. Bu çalışmaların sonuçları ve günümüze kadar transplante edilen hastaların uzun süreli takip sonuçları gelecekteki tedavi planlarımızda etkili olacaktır.

Kaynaklar

1. Ballen KK, King RJ, Chitphakditi P, Bolan CD, Agora E, Hartzman RJ et al, The National Marrow Donor Program experience: the first 20 years of unrelated donor stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2008;14:2-7
2. Urbano-Ispizua A, Schmitz N, de Witte T, Frassoni F, Rosti G, Schrezenmeier H et al. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: definitions and current practice in Europe. *Bone Marrow Transplant.* 2002;29:639-46.
3. Çetin M, Ertem M. Çocukluk çağı hastalıklarında kemik iliği transplantasyonu endikasyonları. *Katkı.* 2002;23:540-50.

4. Appelbaum FR. Pursuing the goal of a donor for everyone in need. *N Eng J Med.* 2012;367:1555-6.
5. Ballen KK, Gluckman E, Broxmeyer HE. Umbilical cord blood transplantation: the first 25 years and beyond. *Blood.* 2013;122:491-98.
6. Knudtson S. In vitro growth of granulocyte colonies from circulating cells in human cord blood. *Blood.* 1974;43:357-61.
7. Gabutti V, Foa R, Mussa F, Aglietta M. Behavior of human hematopoietic stem cells in cord and neonatal blood. *Haematologica.* 1975;4:60-8.
8. Wagner JE, Kurtzberg J. Allogeneic umbilical cord blood transplantation. In *Cellular Characteristics of Cord Blood Transplantation* (Ed HE Broxmeyer):113-45: Maryland, AABB Press Bethesda, 1998.
9. Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc G, Cooper S, Bard J, English D et al. Human umbilical cord blood as a source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1989; 86:3828-32.
10. Broxmeyer HE. The past, present, and future of cord blood transplantation. In: *Cellular Characteristics of Cord Blood Transplantation* (Ed HE Broxmeyer):1-9. Maryland, AABB Press Bethesda, 1998.
11. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical cord-blood from HLH-identical sibling. *N Eng J Med.* 1989;321:1174-8.
12. Wagner JE, Broxmeyer HE, Byrd RL, Zehnbauser B, Schmeckpeper B, Shah N et al. Transplantation of umbilical cord-blood after myeloablative therapy: analysis of engraftment. *Blood.* 1992;79:1874-81.
13. Vilmer E, Sterkers G, Rahimy C, Denamur E, Elion J, Broyart A et al. HLA-mismatched cord blood transplantation in a patient with advanced leukemia. *Transplantation.* 1992;53:1155-7.
14. Wagner JE, Kernan NA, Steinbuch M, Broxmeyer HE, Gluckman E et al. Allogeneic sibling umbilical cord-blood transplantation in children with malignant and non-malignant disease. *Lancet.* 1995;346:214-9.
15. Kurtzberg J, Laughlin M, Graham M, Smith C, Olson JF, Halperin EC et al. Placental blood as a source of hematopoietic stem cells for transplantation into unrelated recipients. *N Eng J Med* 1996;335:157-66.
16. Noort WA, Falkenburg JHF. Hematopoietic content of cord blood. In: *Cord Blood Characteristics: Role in Stem Cell Transplantation* (Eds SBA Cohen, E Gluckman, A Madrigal):13-37, London, Martin Dunitz, 2000.

17. Garderet L, Dulphy N, Douay C, Chalumeau N, Schaeffer V, Zilber MT, et al. The umbilical cord-blood $\alpha\beta$ T-cell repertoire: characteristics of a polyclonal and naïve but completely formed repertoire. *Blood*. 1998;91:340-6.
18. De La Sella V, Gluckman E, Bruley-Rosset M. Graft versus host disease and graft versus leukemia effect in mice grafted with newborn blood. *Blood*. 1998;92:3968-73.
19. Broxmeyer HE, Lee MR, Hangoc G, Cooper S, Prasain N, Kim YJ, et al. Hematopoietic stemprogenitor cells, generation of induced pluripotent stem cell, and isolation of endothelial progenitors from 21- to 23.5 year cryopreserved cord blood. *Blood*. 2011;117:4773-77
20. Vormoor J, Lapidot T, Pflumio F, Risdon G, Patterson B, Broxmeyer HE, et al. Immature human cord blood progenitors engraft and proliferate to high levels in SCID mice. *Blood*. 1994;83:2489-97
21. Gluckman E, Rocha V, Boyer Chamard A, Locatelli F, Arcese W, Pasquini R, et al. Outcome of cord-blood transplantation from related and unrelated donors. *N Eng J Med* 1997;337:373-9.
22. Rocha V, Wagner JE, Sobocinski KA, Klein JP, Zhang MJ, Honowitz MM, et al. Graft-versus-host disease in children who have received a cord-blood or bone marrow transplant from an HLA-identical sibling. *N Eng J Med*. 2000;342:1846-54.
23. Locatelli F, Kabbara N, Ruggeri A, Ghavamzadeh A, Roberts I, Li CK, Bernaudin F, et al. Outcome of patients with hemoglobinopathies given either cord blood or bone marrow transplantation from an HLA identical sibling. *Blood*. 2013;122:1072-8.
24. Rocha V, Cornish J, Sievers EL, Filipovich A, Locatelli F, Peters C, et al. Comparison of outcomes of unrelated bone marrow and umbilical cord blood transplants in children with acute leukemia. *Blood*. 2001;97:2962-71.
25. Eapen M, Rubinstein P, Zhang MJ, Stevens C, Kurtzberg J, Scaradavou A, et al. Outcomes of transplantation of unrelated donor umbilical cord blood and bone marrow in children with acute leukemia; a comparison study. *Lancet*. 2007;369:1947-54
26. Hwang WY, Samuel M, Tan D, Koh LP, Lim W, Linn YC. A meta-analysis of unrelated donor umbilical cord blood transplantation versus unrelated donor bone marrow transplantation in adults and pediatric patients. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2007;13:444-53.
27. Ruggeri A, Eapen M, Scaradavou A, Cairo MS, Bhatia M, Kurtzberg J et al. Umbilical cord blood transplantation for children with thalassemia and sickle cell disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011;17:1375-82.
28. Gluckman E, Rocha V, Ionescu I, Bierings M, Harris RE, Wagner , et al. Results of unrelated cord blood transplant in Fanconi anemia patients. *Biol Blood Marrow transplant*. 2007;13:1073-82.
29. Laughlin MJ, Barker J, Bambach B, Koc ON, Rizzieri DA, Wagner JE et al. Hematopoietic engraftment and survival in adult recipients of umbilical cord blood from unrelated donors. *N Engl J Med*. 2001;344:1815-22.

30. Takahashi S, Iseki T, Ooi, J, Tommonari A, Takasugi K, Shimohakamada Y et al, Single-institute comparative analysis of unrelated bone marrow transplantation and cord blood transplantation for adult patients with hematologic malignancies. *Blood*. 2004;104:3813-20.
31. Cohen YC, Scaradavou A, Freedman LS, Rubinstein P, Gluckman E, Rocha V et al. Factors affecting mortality following myeloablative cord blood transplantation in adults:A pooled analysis of three international registries. *Bone Marrow Transplant*. 2011;46:70-6.
32. Sanz GF, Saavedra S, Planelles D, Senent L, Cervera J, Barragán E et al. Standardized, unrelated donor cord blood transplantation in adults with hematological malignancies. *Blood*. 2001;98:2332-8.
33. Ballen KK, Spitzer T, Antin JH, McAfee S, Dey BR, Attar E et al. Double unrelated reduced intensity umbilical cord blood transplantation in adults. *Blood Marrow Transplant*. 2007;13:82-9.
34. Avery S, Shi W, Lubin M, Gonzales AM, Heller G, Castro-Malaspina H et al. Influence of infused cell dose and HLA match on engraftment after double unit cord blood allografts. *Blood*. 2011;117:3277-85.
35. Delaney C, Varnum-Finney B, Aoyama K, Brashem-Stein C, Bernstein ID. Dose dependent effects of the Notch ligand Delta 1 on ex vivo differentiation and in vivo marrow repopulating ability of cord blood cells. *Blood*. 2005;106:2693-9.
36. Delaney C, Heimfeld S, Brashem-Stein C, Voorhies H, Manger RL, Bernstein ID. Notch mediated expansion of human cord blood progenitor cells capable of rapid myeloid reconstitution. *Nat Med*. 2010;16:232-6.
37. Delaney C, Bollard CM, Shpall EJ. Cord blood engineering. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013;19:74-8.
38. Robinson SN, Ng J, Niu T, Yang H, McMannis JD, Karandish S et al. Superior ex vivo cord blood expansion following co-culture with bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Bone Marrow Transplant*. 2006;37:359-66.
39. de Lima M, McNiece I, Robinson SN, Munsell M, Eapen M, Horowitz M et al. Cord blood engraftment with ex vivo mesenchymal cell coculture. *N Engl J Med*. 2012;367:2305-15.
40. Rocha V, Labopin M, Ruggeri A, Podesta M, Gallamini A, Bonifazi F et al. Unrelated cord blood transplantation:outcomes after single unit intrabone injection compared with double unit intravenous injection in patients with hematological malignancies. *Transplantation* 2013;95:1284-90.
41. Kamani N, Spellman S, Hurley CK, Barker JN, Smith FO, Oudshoorn M et al; State of the art review: hla matching and outcome of unrelated donor umbilical cord blood transplants. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2008;14:1-6.
42. Gluckman E. Cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2006;12:808-12.

43. Rocha V, Locatelli F. Searching for alternative hematopoietic stem cell donors for pediatric patients. *Bone Marrow Transplant.* 2008;41:207-14.
44. Barker JN, Scaradavou A, Stevens CE. Combined effect of total nucleated cell dose and HLA match on transplantation outcome in 1061 cord blood recipients. *Blood.* 2010;115:1843-9.
45. Eapen M, Klein JP, Sanz GF, Spellman S, Ruggeri A, Arasetti C et al. Effect of donor recipient HLA matching at A, B, C and DRB1 on outcomes after umbilical cord blood transplantation for leukemia and myelodysplastic syndrome. *Lancet Oncol.* 2011;12:1214-21.
46. Eapen M, Klein JP, Ruggeri A, Spellman S, Lee SJ, Anasetti C et al. Impact of allele level HLA matching on outcomes after myeloablative single unit umbilical cord blood transplantation for hematologic malignancy. *Blood.* 2014;123:133-40.
47. Rocha V, Spellman S, Zhang MJ, Ruggeri A, Purtill D, Brady C et al. Effect of HLA-matching recipients to donor non-inherited maternal antigens on outcomes after mismatched umbilical cord blood transplantation for hematologic malignancy. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2012;18:1890-6.

Correspondence Address / Yazışma Adresi

Banu Oflaz Sözmen
Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi
Pediatrik Hematoloji Onkoloji Bilim Dalı.
İstanbul, Turkey
e-mail: bsozmen@ku.edu.tr.