

T.C
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİMDALI

**ALLOJENİK KEMİK İLİĞİ NAKLİ YAPILAN
HASTALARDA CMV DNA ANTİJENEMİ
DURUMUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr.Merve KESKİNKILIÇ
İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ

İZMİR – 2019

T.C
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİMDALI

**ALLOJENİK KEMİK İLİĞİ NAKLİ YAPILAN
HASTALARDA CMV DNA ANTİJENEMİ
DURUMUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Merve KESKİNKILIÇ
İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr İnci ALACACIOĞLU

TEŞEKKÜR

Tez hazırlama sürecinde çalışmanın planlanması, uygulanması ve sonuçlandırılmasında destek veren tez danışman hocam Prof. Dr. İnci Alacacıoğlu'na,

Bu konuyla ilgili çalışmam konusundaki yönlendirmeleri için Prof. Dr. Güner Hayri Özsan'a,

Tezimin her aşamasında bilgisini ve yardımlarını esirgemeyen, bana her daim yol gösteren Uzm Dr. Şerife Medine Solmaz' a,

Tez konusu belirlemedeki destekleri için Uzm. Dr. Doğuş Türkyılmaz ve Uzm. Dr. Aybüke Olgun'a,

İç Hastalıkları uzmanlığım sürecinde mesleki gelişimime katkıda bulunan tüm İç Hastalıkları Anabilim Dalı Üyeleri ve Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Fatoş Önen'e,

Tez verilerime katkılarından dolayı Mikrobiyoloji Anabilimdalı Öğretim üyesi Prof. Dr. Arzu Sayiner 'e,

Uzmanlık eğitimim süresince yanımda olan arkadaşlarım Dr. Zehra Yağmur Şahin ve Dr. Gizem Korkut'a,

Değerli çalışma arkadaşlarıma, yandal uzman hekimlerine, diğer bölümlerdeki asistan hekim arkadaşlarıma, hemşire, sekreter ve yardımcı sağlık personeline,

Sevgili üniversite arkadaşlarıma,

Sonsuz destek ve sevgileriyle her zaman yanımda olan, fedakarlıkları hiç tükenmeyen, bugünlere gelmemde en büyük katkıya sahip, varlıklarından güç bulduğum canım annem Safiye Keskinkılıç'a ve babam İbrahim Keskinkılıç'a ;

sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Saygılarımla
Dr. Merve KESKİNKILIÇ
DEÜTF İç Hastalıkları
Anabilimdalı
İZMİR

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
RESİMLER DİZİNİ	v
TABLolar DİZİNİ	vi
KISALTMALAR	vii
ÖZET.....	x
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. KÖK HÜCRE	4
2.1.1. Hematopoetik Kök Hücre Nakli	6
2.1.2.1. Singeneik Hematopetik Kök Hücre Nakli	6
2.1.2.2. Otolog Hematopetik Kök Hücre Nakli	7
2.1.2.3. Allojenik Hematopetik Kök Hücre Nakli	8
2.2. HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE NAKİL KOMPLİKASYONLARI	9
2.2.1. Graft Reddi (Rejeksiyon)	9
2.2.2. Enfeksiyonlar	10
2.2.3. Hepatik Veno-okluzif Hastalık	11
2.2.4. Graft Versus Host Hastalığı	11
2.2.5. Kardiyovasküler Komplikasyonlar	13
2.2.6. Renal Komplikasyonlar	14
2.2.7. Endokrin Komplikasyonlar	14

2.3. HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE NAKLİ SONRASI CMV ENFEKSİYONU	14
2.3.1. Giriş	14
2.3.2. Patofizyoloji	16
2.3.3. Histopatoloji	17
2.3.4. Klinik Prezantasyonu	17
2.3.4.1. CMV Pnömonisi	17
2.3.4.2. Gastrointestinal Enfeksiyonlar	18
2.3.4.3. Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonları	18
2.3.4.4. CMV Retiniti	19
2.3.4.5. Diğer Bozukluklar	19
2.3.5. Tanı	19
2.3.6. CMV Enfeksiyonu Önleme	21
2.3.7. CMV Hastalığının Tedavisi	22
2.3.8. Gelecek Perspektifleri	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
4. BULGULAR	26
5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇLAR	37
7. KAYNAKLAR	39

SEKİLLER DİZİNİ

Şekil – 1 : Kök Hücre Özellikleri

Şekil – 2 : Kök Hücre Çeşitleri

Şekil – 3 : OHKHN Şematizasyonu

Şekil – 4 : AHKHN Şematizasyonu

Şekil – 5 : CMV Yapısı

Şekil – 6 : CMV Tedavi Çeşitleri



RESİMLER DİZİNİ

Resim -1: CMV pp65 Antijen İmmunfloresan Testi



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo-1 : Hematopoetik Kök Hücre Nakli Sonrası Komplikasyonlar

Tablo-2 : Akut Ve Kronik Graft-Versus-Host Hastalığı Sınıflama

Tablo-3 : Akut GVHH ın Derecelendirme Sistemi

Tablo-4 : Hasta Özellikleri

Tablo-5 : Hasta Tanı Dağılımı

Tablo-6 : Nakil Öncesi Hazırlık Rejimi

Tablo-7 : Tam Kan Sayımı Parametreleri, CD34, Engrafman Süresi Ortalama Değerleri

Tablo-8 : Transplante Hasta / Dönör CMV durumları

Tablo-9 : pp65 ve CMV DNA PCR Sonuçların Dağılımı

Tablo-10: Referanslardaki CMV DNA Cut-Off Değerlerine Göre CMV Enfeksiyonu Gelişimi Açısından CMV DNA PCR Sonuç Ve Antijenemi Sonuçlarının Karşılaştırılması

KISALTMALAR

AGVHH : Akut Graft-Versus-Host Hastalığı

AHKHN : Allojenik Hematopoetik Kök Hücre Nakli

AIDS : Edinsel İmmun Yetmezlik Sendromu

ALL : Akut Lenfoid Lösemi

AML : Akut Miyeloid Lösemi

ANA : Antinükleer Antikor

ATG : Antitimosit Globulin

BAL : Bronkoalveoler Lavaj

BOS : Beyin Omurilik Sıvısı

CMV : Sitomegalovirüs

CRP : C-reaktif Protein

CXCR4 : Kemokin reseptör -4

GCV: Gansiklovir

GİS : Gastrointestinal Sistem

GM : Galaktomannan

GVHH : Graft-Versus-Host Hastalığı

Haplo- KHN : Haploidentikal Kök Hücre Nakli

HB: Hemoglobin

HCMV : İnsan Sitomegalovirüs

HEMCİS : Hematoloji Bilim Dalı Elektronik Medikal Kayıt Sistemi

HHV-5 : Human Herpes Virüs- 5

HKHN : Hematopoetik Kök Hücre Nakli

HLA : İnsan Lökosit Antijeni

IBMTR : Uluslararası Kemik İliği Nakil Kayıt Veri Tabanı

İE : Immediate Early

İV : İntravenöz

İViG : İntravenöz İmmunoglobulin

KH : Kök hücre

MAC-1 : Makrofaj 1 Antijen

MDS: Miyelodisplastik Sendrom

MMF : Mikofenolat Mofetil

MSS : Merkezi Sinir Sistemi

NEU : Nötrofil

NHL : Non-Hodgkin Lenfoma

OHKHN : Otolog Hematopoetik Kök Hücre Nakli

OPN : Osteopontin

PCR : Polimerize Zincir Reaksiyonu

PLT : Platelet

PP65 : 65 kDa Fosfoprotein

RF: Romatoid Faktör

RIC : Reduce İntensive Chemotheraphy

SDF-1: Stromal Hücre Kaynaklı Faktör-1

TBI : Total Body İrridasyon

TPO : Trombopoetin

VCAM : Vascular Cell Adhesion Molecule

VLA-4 : Very Late Antigen-4

WBC : White blood cell



ÖZET

ALLOJENİK KEMİK İLİĞİ NAKLİ YAPILAN HASTALARDA CMV DNA ANTİJENEMİ DURUMUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Merve KESKİNKILIÇ

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı

35340 - İnciraltı/İzmir

kilicmerwe@hotmail.com

Hematopoetik kök hücre nakli (HKHN), hematopoetik sistemin yeniden yapılanmasını sağlamak amacıyla kişinin kendinden veya doku grubu uyumlu kişilerden kök hücrelerin toplanarak uygun koşullarda alıcıya nakledilmesidir. HKHN hasta ve donör arasındaki ilişki ve kök hücrelerin anatomik kaynağı arasındaki ilişkiye göre otolog HKHN, singeneik HKHN ve allojenik HKHN olarak üç gruba ayrılır. Allojenik HKHN, HLA doku grubu uyumlu vericiden alıcıya kök hücrelerin hazırlama rejimi sonrası transfer edilmesidir. Allojenik HKHN (AHKHN) sonrası sitomegalovirüs (CMV) reaktivasyon riski %30-50 gibi değerlere ulaşmakta olup nakil sonrası gelişen CMV enfeksiyonları en önemli viral morbidite ve mortalite nedenidir. CMV enfeksiyonunun tespiti için viral kültür ve serolojik yöntemler gibi tarama testleri kullanılmaktadır. CMV 65 kDa fosfoprotein (pp65) antijenemisini saptamaya çalışan serolojik yöntemin duyarlılığı daha düşüktür. CMV DNA'sının polimerize zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile saptanması, daha duyarlı bir test olup, düzey kantitatif olarak hesaplanabilmektedir. Bu çalışmada Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı'nda takip edilen AHKHN yapılan hastalarda CMV DNA Antijenemisinin uygulanan immunsupresif tedavi, nötropeni, lenfopeni, hemoglobin düzeyi, trombositopeni, mobilizasyon ve hazırlık rejimi, c-reaktif protein (CRP) düzeyi, greft versus host hastalığı (GVHH), alıcıdaki galaktomannan (GM) durumu, alıcı ve vericinin CMV immunitesi, yaş,

cinsiyet ile bağlantısının incelenmesi ve diğer ölçüm yöntemi olan PCR ile karşılaştırılması hedeflendi.

Çalışmaya Haziran 2009- Ekim 2016 tarihleri arasında AHKHN yapılmış olan 39 hastadan bakılan 138 örnek dahil edildi. Hastaların demografik özellikleri, klinik durumu, engrafman zamanları, transplant hazırlık rejimleri, graft versus host hastalığı (GVHH) gelişme durumu, CMV enfeksiyon durumu, alıcı ve vericinin CMV immunitesi, CMV enfeksiyonu geliştiği andaki GVHH derecesi, aldığı immunsupresif tedavi, beyaz küre, nötrofil ve lenfosit değerleri retrospektif incelendi.

K/E; 1.05/1 olup medyan yaş $38 \pm 11(18-64)$ idi. Hastaların transplant anındaki labaratuvar değerleri incelendiğinde ortalama hemoglobin (hb) 10g/dL (5,5-15g/dL), beyaz küre sayısı $5100 \times 10^3/\mu\text{L}$ ($200 \times 10^3/\mu\text{L} - 30900 \times 10^3/\mu\text{L}$), ortalama trombosit sayısı $69 \times 10^3/\mu\text{L}$ ($4 \times 10^3/\mu\text{L} - 373 \times 10^3/\mu\text{L}$), nötrofil (neu) $3200 \times 10^3/\mu\text{L}$ ($100 \times 10^3/\mu\text{L} - 4500 \times 10^3/\mu\text{L}$), lenfosit $1200 \times 10^3/\mu\text{L}$ ($10 \times 10^3/\mu\text{L} - 1360 \times 10^3/\mu\text{L}$) idi. Transplant anındaki CMV Ig G % 68' inde pozitif , % 23 ünde negatifti, % 9 olguda ulaşılamadı. Dönörlerin % 17'sinde CMV Ig G negatif , %83'ünde Ig G pozitif. Tüm hastalar GVHH profilaksi olarak Metotrexat-siklosporin , antiviral profilaksi olarak valasiklovir almıştı. İnfüze edilen CD34 + hücre miktarı ortalama $5,9 \times 10^6/\text{kg}$ ($2-12 \times 10^6/\text{kg}$) olup nötrofil engrafmanı ortalama 12 günde, trombosit engrafmanı ortalama 15,7 günde oldu. % 23,2 sinin (n:32) trasplant sonrası CMV enfeksiyonu geçirdiği tespit edildi. CMV enfeksiyonu gelişen 7 hastanın 6' sında GİS enfeksiyonu, 1' inde ise CMV pnömonisi görüldü. Tümüne antiviral gansiklovir tedavisi verildi, ancak 3 hastada valgansiklovir ile devam edildi. 7 hastaya aktif enfeksiyonu nedeniyle ve diğer hastalara ise preemptif amaçlı antiviral tedavi uygulandı. 1 hastada gansiklovire direnç düşünülerek sifedovire geçildi. CMV enfeksiyonu tespit edilmiş hastaların tespit anındaki GVHH durumları incelendiğinde % 42,8'inde cilt GVHH, % 19,5'inde cilt ve gis GVHH, % 10,2' sinde cilt ve akciğer GVHH, % 7,2'sinde cilt ve hepatik GVHH mevcuttu, % 20,3 ünde ise GVHH yoktu. İmmunsupresif tedavi olarak % 54,4'ü steroid-siklosporin, % 19,2' si siklosporin, % 10,3'ü steroid, % 9,5'i steroid-siklosporin-MMF, % 6,6'sı prednol-takrolimus almaktaydı. 1 hastaya fotoforez tedavisi, 2 hastaya da mezenkimal kök hücre tedavisi uygulanmıştı. Medyan 30 aylık izlem sonucunda allojenik nakil yapılan olgularımızın % 76,8' u ölmüş , % 23,2 yaşıyordu.

CMV antijenemi ve CMV DNA eş zamanlı pozitifliği olan 138 epizod incelendi. O dönemdeki beyaz küre, nötrofil ve lenfosit değerlerine bakıldı. Engrafman sonrası lenfosit değeri ile CMV DNA titresi arasında istatistiksel anlamlılık yoktu ($p=0,07$). Hastalar lenfosit sayısı <500 ve >500 üstü olarak ikiye ayrıldığında lenfosit değeri <500 olan hasta grubunda

istatistiksel olarak anlamlı şekilde CMV DNA pozitiflik oranı daha yüksekti ($p=0,017$). Lenfosit sayısı ile CMV antijenemi arasında istatistiksel anlamlılık saptandı ($p=0,038$). Lenfosit arttıkça antijenemi pozitifliği daha yüksekti. Beyaz küre değeri ve nötrofil değeri ile CMV DNA arasında korelasyon tespit edildi ($p=0,003$, $p=0,002$). Nötrofil değeri <1000 , $1000-2000$, >2000 ile CMV DNA arasında da korelasyon izlendi, nötrofil değeri arttıkça CMV DNA titresi artıyordu ($p=0,027$). Ayrıca nötrofil değeri ve CMV antijeni ile arasında da istatistiksel ilişki vardı ($p=0,034$). Yine, CMV antijenemi ile nötrofil değerleri <1000 ve >1000 olarak incelendiğinde istatistiksel ilişkinin belirginleştiği izlendi ($p=0,005$). Nötrofil değeri >1000 olan hasta grubunda CMV antijenemi pozitifliği yüksekti. CMV antijenemi ve CMV DNA değerleri arasında anlamlı bir korelasyon tespit edildi ($p=0,033$). Örneklerin 8' inde (% 5,8) CMV pp65 antijenemi ve CMV DNA PCR negatif; 49' unda (% 35,5) ise her iki test de pozitif sonuçlanmıştır. CMV antijenemi negatif/ CMV pozitif örnek sayısı 81 (% 58,7) iken, antijenemi pozitif/ CMV PCR negatif örnek yoktu. İki testte de pozitif gelen 49 örneğin CMV PCR ortalama değeri 57.887 kopya/ml'di (70 - 1.213.633 kopya/ml). Her iki test ile pozitif saptanan örnekler arasında anlamlı korelasyon saptandı ($p=0,018$). ROC analizi ile bakıldığında plazmada 322 kopya/ml CMV viral yükün ≥ 1 antijen pozitif hücre/200 bin lökosit karşılık geldiği görüldü (Duyarlılık % 68,5; Özgüllük % 31,5).

Sonuç olarak, CMV tespitinde kullanılan pp65 ve PCR tetkikleri arasında anlamlı ilişki bulunmaktadır. Beyaz küre ve nötrofil değerleri CMV antijenemi ve DNA sonuçlarını etkilemektedir. Nötrofil ve platelet engraftmanı ile CMV antijenemisi arasında da anlamlı ilişki bulunmakta olup geç engraftmanı olanlarda CMV pozitiflik oranı yüksektir ve CMV klinik sıklıkla bu olgularda görülmektedir.

ANAHTAR KELİMELEER: Allojenik Hematopoetik Kök Hücre Nakli, CMV Enfeksiyonu, CMV Antijenemisi (pp65), CMV DNA PCR, Nötrofil Engraftman.

ABSTRACT

EVALUATION OF CMV DNA ANTIGENEMIA DURING ALLOGENIC BONE RELEVANT PATIENTS

Merve KESKİNKILIÇ, MD

Dokuz Eylul University School of Medicine, Department of Internal Medicine

Dokuz Eylul University School of Medicine, Department of Internal Medicine,

35340 Inciraltı/Izmir

kilicmerwe@hotmail.com

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCN) is the collection of stem cells from a person's or tissue-group-compatible individuals to restore the hematopoietic system to the recipient under appropriate conditions. According to the relationship between the HSCN patient and the donor and the relationship between the anatomical source of the stem cells, three groups are distinguished as autologous HSCN, syngeneic HSCN and allogeneic HSCN. Allogeneic HSCN is the post-regulatory transfer of stem cells to the HLA donor-recipient donor recipient. The risk of cytomegalovirus (CMV) reactivation after allergen HSCN (AHSCN) reaches 30-50 % and CMV infections after transplantation is the most important cause of viral morbidity and mortality. Screening tests such as viral culture and serological methods are used to detect CMV infection. The serological method is less sensitive to CMV 65 kDa phosphoprotein (pp65) antigenemia. The detection of CMV DNA by the polymerase chain reaction (PCR) method is a more sensitive test and the level can be calculated quantitatively.

In this study, immunosuppressive therapy, neutropenia, lymphopenia, hemoglobin level, thrombocytopenia, mobilization and preparation regimen, c-reactive protein (CRP) level, graft versus host disease (GVHD), the presence of galactomannan (GM) in the recipient, the investigation of CMV immunity, age, sex with the recipient and donor, and comparison with other measurement method PCR.

The study included 138 specimens from 39 patients who had AHSCN between June 2009 and October 2016. Demographic characteristics of patients, clinical status, time of engraftment, transplant preparation regimens, graft versus host disease (GVHD) development status, CMV infection status, CMV immunity of the donor and donor, GVHD degree at the time of CMV infection, immunosuppressive therapy, white blood cell, neutrophil and Lymphocyte values were analyzed retrospectively.

Female/ male rate was 1.05/1 and the median age was 38 ± 11 (18-64). When the laboratory values of the patients were examined, the mean hemoglobin (hb) was 10g / dL (5,5-15g / dL), the white blood cell count was $5100 \times 10^3/\mu\text{L}$ ($200 \times 10^3 / \mu\text{L}$ - $30900 \times 10^3 / \mu\text{L}$), and the mean platelet count was 69×10^3 ($4 \times 10^3 / \mu\text{L}$ - $373 \times 10^3 / \mu\text{L}$), neutrophil (neu) $3200 \times 10^3 / \mu\text{L}$ ($100 \times 10^3 / \mu\text{L}$ – $4500 \times 10^3 / \mu\text{L}$), lymphocyte $1200 \times 10^3 / \mu\text{L}$ ($10 \times 10^3 / \mu\text{L}$ – $1360 \times 10^3 / \mu\text{L}$). CMV IgG at the time of transplantation was positive in 68 %, negative in 23 %, could not be reached in 9 %. In 17 % of the rotors CMV Ig G was negative and 83 % was IgG positive.

All patients received methotrexate-cyclosporine as GVHD prophylaxis and valaciclovir as antiviral prophylaxis. The mean CD34 + cell count was $5,9 \times 10^6 / \text{kg}$ ($2-12 \times 10^6 / \text{kg}$), and the mean time to neutrophil engraftment was 12 days and the mean platelets engraftment was 15.7 days. 23,2 % (n: 32) were found to have undergone CMV infection after transplantation. Of the 7 patients who developed CMV infection, 6 had GIS infection and 1 had CMV pneumonia. All of them were given antiviral ganciclovir treatment, but 3 patients were treated with valganciclovir. Seven patients were treated with antiviral treatment for active infection and preemptive therapy for other patients. In 1 patient, sidefovir was switched to ganciclovir resistance

Skin GVHD was found to be 42,8 %, skin and gastric GVHD 19,5 %, skin and lung GVHD 10.2 %, skin and hepatic GVHD 7,2 %, and 20.3 % GVHD were not found to have GVHD when the detected GVHD cases of CMV infected patients were examined . Immunosuppressive therapy was 54,4 % for steroid + cyclosporine combination, 19,2 % for cyclosporine 10,3 % for steroid, 9,5 % for steroid-cyclosporine-MMF combination and 6,6 % for prednol- tacrolimus combination. One patient underwent photopheresis treatment and two patient had mesenchymal stem cell therapy. As a result of the median 30-month follow-up, 76,8% of our cases who had allogeneic transplantation died and 23,2 % were alive.

138 episodes with CMV antigenemia and CMV DNA concurrent positivity were examined. White blood cell count, neutrophil and lymphocyte levels were evaluated. There was no statistical significance between the post-engraftment lymphocyte and CMV DNA titer

($p = 0,07$). When the lymphocyte count was divided into two as <500 and > 500 over, the patients with lymphocytes <500 had a significantly higher CMV DNA positivity rate ($p = 0,017$). There was statistically significant difference between lymphocyte count and CMV antigenemia ($p = 0,038$). As lymphocytes increased, antigenemia was higher. White blood cell count and neutrophil value were correlated with CMV DNA ($p = 0,003$, $p = 0,002$). Neutrophil value <1000 , $1000-2000$, > 2000 was also correlated with CMV DNA, as the neutrophil value increased CMV DNA titer increased ($p = 0,027$). There was also a statistical relationship between neutrophil value and CMV antigen ($p = 0,034$). Again, when the neutrophil values were examined with <1000 and > 1000 as CMV antigenemia, it was observed that the statistical relation was significant ($p = 0,005$). CMV antigenemia positivity was high in patients with neutrophil values > 1000 . There was a significant correlation between CMV antigenemia and CMV DNA values ($p = 0,033$). In 8 of the samples (5.8%) CMV pp65 antigenemia and CMV DNA were PCR negative; In 49 (35.5 %) both tests were positive. The number of CMV antigenemia negative / CMV positive samples was 81 (58.7 %), whereas the positive / CMV PCR negative sample was not available. The mean value of the CMV PCR of 49 samples, which were positive in both tests, was 57.887 copies / ml (70 - 1.213.633 copies / ml). A significant correlation was found between the two tests and the positive samples ($p = 0,018$). ROC analysis showed that 322 copies / ml of CMV viral load corresponds to ≥ 1 antigen-positive cell / 200 thousand leukocytes (Sensitivity 68.5 %; Specificity 31.5 %).

As a result, there is a significant relationship between pp65 and PCR tests used in CMV detection. White blood cells and neutrophil values affect CMV antigenemia and DNA results. There is a significant relationship between neutrophil and platelet engraftment and CMV antigenemia, and CMV positivity rate is higher in patients with late engraftment and CMV is seen in these cases.

KEY WORDS: Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation, CMV Infection, CMV Antigenemia (pp65), CMV DNA PCR, Neutrophil Engraftment

1.GİRİŞ VE AMAÇ:

Hematopoetik kök hücre nakli (HKHN), hematopoetik sistemin yeniden yapılanmasını sağlamak amacıyla kişinin kendinden veya doku grubu uyumlu kişilerden kök hücrelerin toplanarak uygun koşullarda alıcıya nakledilmesidir. HKHN hasta ve donör arasındaki ilişki ve kök hücrelerin anatomik kaynağı arasındaki ilişkiye göre otolog HKHN, singeneik HKHN ve allojenik HKHN (AKHHN) olarak üç gruba ayrılır. AHKHN, HLA doku grubu uyumlu vericiden alıcıya kök hücrelerin hazırlama rejimi sonrası transfer edilmesidir (1). AHKHN aşamaları; hastaya transplant kararının verilmesi ardından, vericinin seçimi, hasta ve vericinin hazırlanması, hazırlık rejimi verilmesi, kök hücre toplanması ve infüzyonu, GVHH profilaksisi, destek tedavisi ve engraftman takibi şeklinde olmaktadır (2). AHKHN konjenital veya sonradan gelişen birçok hematolojik hastalıklarda ve kanserlerinde kür sağlayabilen etkili bir tedavi yöntemidir (3).

Allojenik hematopoetik kök hücre nakli sonrası gelişen sitomegalovirüs (CMV) enfeksiyonları en önemli viral morbidite ve mortalite nedenidir. CMV reaktivasyonu veya primer enfeksiyon AHKHN yapılan hastalarda %15-80 oranında gözlemlenir (4,5). CMV seropozitifliği ve/veya nakil sonrası CMV reaktivasyonu, AHKHN sonuçlarını kötü yönde etkilemektedir. Önceleri, çoğu CMV reaktivasyonları ve pnömonileri nakil sonrası erken dönemde görülmekte iken, rutin gansiklovir profilaksisi veya viral reaktivasyon saptandıktan sonra uygulanan preemptif tedavilerle bu oran oldukça düşmüştür. Buna karşın, son dönemde geç CMV reaktivasyon ve hastalıklarının yüksek olduğu anlaşılmıştır. Geç CMV hastalığı yaklaşık % 4 ila % 15 arasında görülmekte ve genellikle nakil sonrası 4-12. aylar arasında ortaya çıkmaktadır (6). Alıcı ve vericinin seronegatif olması durumunda transplant sonrası CMV hastalığı %3'den az iken her ikisinin de seropozitif olması halinde % 30 lara varan CMV hastalığı ortaya çıkabilir. Günümüzde en yaygın sorun gastrointestinal sistem (GİS) hastalık ve özellikle de CMV kolitidir. Bunun yanında daha az olarak özefajit, hepatit, retinit, ensefalit gibi tablolar görülebilir. Enfeksiyon organ tutuluğu olmadan ateş ve sitopeni tablosu oluşturabilir. CMV enfeksiyonu bu direkt etkileri yanında GVHD sıklığında artma, akut lösemili hastalarda yapılan transplantasyonlardan sonra relaps olasılığını azaltma gibi dolaylı etkiler de gösterebilmektedir (7).

CMV enfeksiyonunun tespiti için, viral kültür ve serolojik yöntemleri içeren tarama testleri kullanılır. Standart kültür 2 -3 hafta sonra sonuç verdiğinden hızlı kültür yöntemleri

daha çok uygulanmaktadır. Bunlar genellikle latent ve aktif infeksiyonu ayırdemez. Serolojik testlerden ilki CMV pp65 antijenemisini saptamaya çalışan yöntem olup, duyarlılığı daha düşüktür (7). Viral pp65 antijeni, CMV replikasyon döngüsünün erken safhasında kan lökositlerinde eksprese edilen yapısal bir geç proteindir. Antijenemi, 2×10^5 periferik kan lökositlerinden oluşan bir sitospin preparatında CMV matris fosfoprotein pp65 için bir immünfloresan tetkikinde pozitif lökosit çekirdeğinin nicelleştirilmesi ile ölçülür. Özellikle nötropenik hastalarda, yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilir; antijenemi test sonucu yeterli sayıda polimorfonükleer lökosit varlığına bağlıdır (8). Optimal sonuç için örnekler 6 saat içinde çalışılmalıdır (7). Diğeri ise CMV DNA'sının PCR yöntemi ile saptanması olup, kantitatif real-time PCR metodu ile CMV DNA'sı daha duyarlı bir şekilde ve kantitatif olarak hesaplanabilmektedir (6). PCR genelde büyük iyi korunmuş bölgelerdeki bir dizi erken ve geç antijen genlerini CMV DNA'nın saptanması için hedefler. DNA tam kan, lökositler, plazma veya herhangi bir başka dokudan (doku biyopsisi numuneleri) veya vücut sıvılarından (idrar, beyin omurilik sıvısı (BOS), bronkoalveoler lavaj (BAL)) çıkarılabilir (8). Ölçüm için canlı hücre varlığı gerekmez. Primerlerin bağladığı bölgelerde mutasyon varlığında yanlış negatif sonuçlar alınabilir. Virus genomunda başka bir bölgeye uygun primer kullanılması ile durum aydınlanabilir. Böyle durumlarda pp65 antijen pozitif iken PCR negatif çıkabilmektedir. Mutasyonu belirlemede en kesin yöntem dizi analizidir (7). Standart PCR testi antijenemi tespiti için kullanıldığında testin duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla % 55,4 ve % 95.5 olduğu görülmüştür (9). PCR ve pp65 taramaları CMV ilişkili GİS patolojilerinin % 25 kadarında negatif sonuç verebilmektedir (7).

Allojenik hematopoetik kök hücre naklinde asiklovir, valasiklovir ve intravenöz gansiklovir CMV profilaksisinde kullanılabilir. Bunların içerisinde etkinliği en yüksek olan gansiklovirdir; ancak kemik iliği toksisitesi vardır. Asiklovir ve valasiklovir ise daha düşük etkinlikte, ancak daha az toksiktir (10,11). Preemptif tedavi, asemptomatik hastalarda aktif CMV infeksiyonuna dair herhangi bir kanıt varlığında antiviral tedavi verilmesi durumudur . Bu tedavi şekli kanda antijenemi veya nükleik asit tespitine dayanmaktadır. Preemptif tedavinin, AKHHN hastalarında kullanımı ile CMV ilişkili mortalite ve CMV hastalığının azaldığı hem randomize kontrollü çalışmalarda hem de vaka serilerinde gösterilmiştir (4). Tedavide kullanılan antibiyoterapi ajanları gansiklovir, foskarnet ve sidofovirdir. İlk seçilecek ajan gansiklovirdir (12).

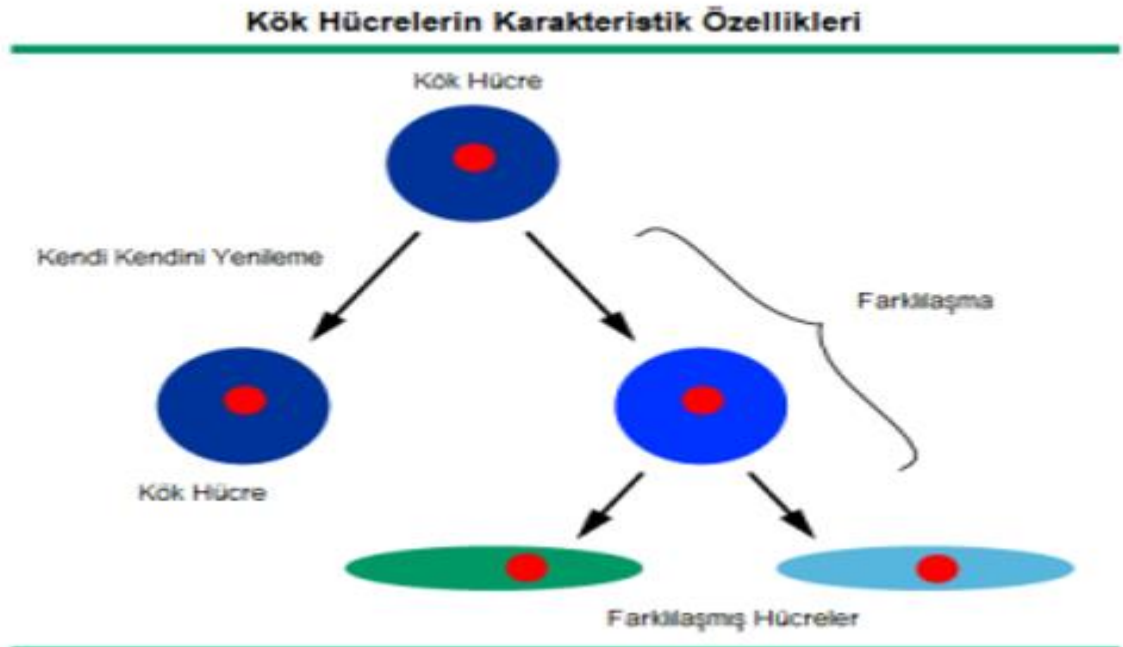
Bu alışmada DEÜTF'nde takip edilen AHKHN yapılan hastalarda CMV DNA Antijenemisinin uygulanan immunsupresif tedavi, nötropeni, lenfopeni, hemoglobin düzeyi, trombositopeni, mobilizasyon ve hazırlık rejimi, CRP düzeyi, GVHH, alıcıdaki GM durumu, alıcı ve vericinin CMV immunitesi, yaş, cinsiyet ile bağlantısının incelenmesi ve diğer ölçüm yöntemi olan PCR ile karşılaştırılması ve bu konuda Türkiye verilerine katkıda bulunulması hedeflendi.



2.GENEL BİLGİLER

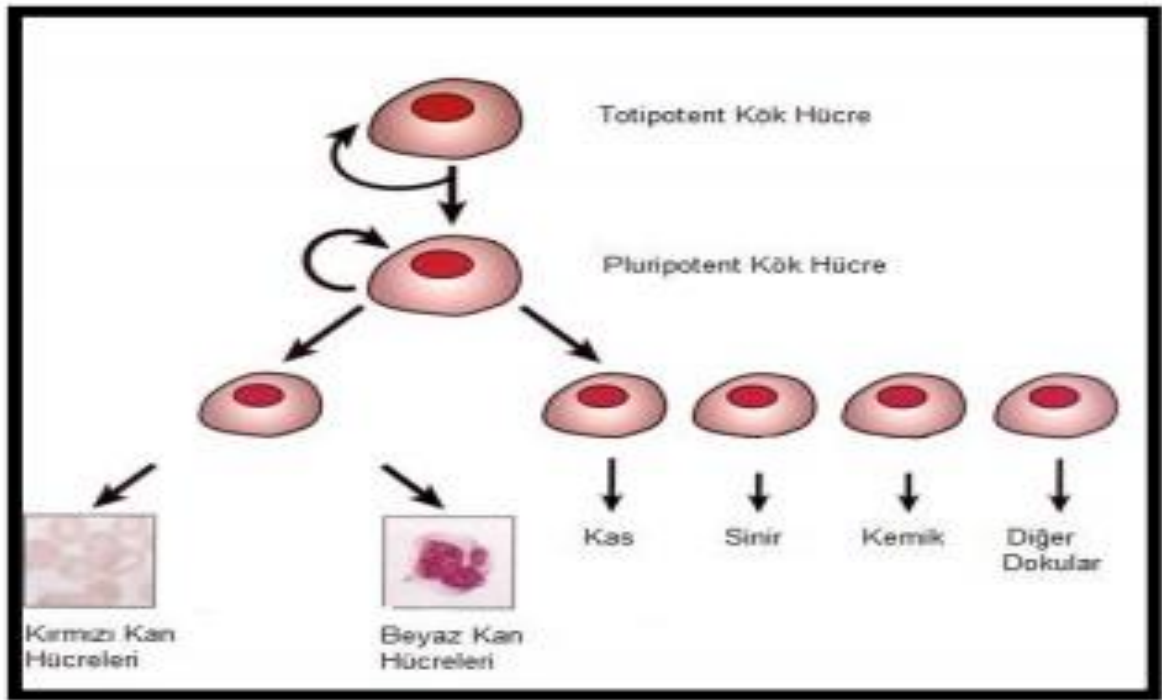
2.1. KÖK HÜCRE

Kendini yenileyebilen, uzun süre bölünebilen ve aynı zamanda gereksinime göre farklılaşarak diğer doku hücrelerine dönüşebilen hücrelere "kök hücreler" denir. Farklılaşmamış kök hücrelerin, kendi karakteristik özelliklerini taşıyan en az bir benzer hücre oluşturabilme (self renewal); tek bir hücreden birden fazla hücre serisine farklılaşabilme (multi-lineage differentiation) ve bir dokunun işlevsel olarak yeniden yapılandırılmasını sağlama özellikleri vardır (13). Şekil 1’de kök hücrelerin özellikleri gösterilmektedir (14). Kendini yenileme özelliği hücrelerin biyolojik olarak yaşlanmaksızın ve farklılaşma potansiyelini kaybetmeksizin çoğalabilmesinin göstergesidir. Kendini yenileme özelliği her zaman aynı hücreye bölüneceği anlamına gelmez, bölünme sonucu kendinden farklı hücreler de oluşabilir (15,16). Bir dokudan elde edilen kök hücrelerin, uygun uyarılarla ve uygun ortam şartlarında, farklı doku hücrelerine dönüşebilme yetenekleri olduğu bilinmektedir. Bu özellik plastisite (transdiferansiyasyon) olarak tanımlanır (17).



Şekil 1 : Kök Hücre Özellikleri (18)

Kök hücreler (KH) farklılaşabilme yeteneklerine göre totipotent, pluripotent ve multipotent kök hücreler olarak sınıflandırılırlar. Totipotent KH'ler, embriyo sonrası tüm doku ve organlar ile embriyo dışı membranların kaynağını oluşturan hücrelerdir. Pluripotent KH'ler 3 germ tabakasına; ektoderm (nöron, deri vs.), mezoderm (kas, kemik vs.) ve endoderm (hepatosit, pankreatik β hücresi vs.)'e farklılaşabilirlerken, multipotent KH'ler tek bir doku ya da germ tabakasının hücrelerine farklılaşabilen KH'lerdir (Şekil-2) (19).



Şekil 2: Kök Hücre Çeşitleri (18)

Hematopoetik KH'lerin tedavi amacı ile ilk kez tanımlanmaları 20. yüzyılın başlarına dayanmaktadır. Özellikle 2. Dünya Savaşı sonrası dönemde radyasyona bağlı kemik iliğinin baskılanmasının keşfi ile çalışmalar artmıştır. 1956 yılında Nowell ve arkadaşlarının, radyasyona maruz kalmış farelere verilen kemik iliği hücrelerinin çoğaldıklarını ve fonksiyonlarını devam ettirdiklerini göstermesinin ardından lösemiler, kemik iliği aplazileri gibi hastalıklarda kök hücre naklinin kullanılabileceği fark edilmiştir (20). İlk uygulamalar 1950'li yıllarda başlamakla birlikte kryoprezervasyon teknolojisinin gelişmesiyle, günümüzdeki uygulamalara benzer yaklaşımların başlaması 1970'lerin sonu 1980'lerin başı olmuştur (21). 1979 yılında periferik kök hücre ile yapılan 6 otolog nakil, vaka serisi olarak

Goldman ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. 1989 yılında ise ilk allojenik periferik kök hücre nakli yayınlanmıştır (22).

Ülkemizde ilk otolog kök hücre nakli 1984 yılında, ilk allojeneik kök hücre nakli ise 1985 yılında GATA’da yapılmıştır. Periferik kandan ilk otolog kök hücre nakli ise 1992 yılında, allogeneik nakil de 1993 yılında Ankara Üniversitesi İbn-i Sina Hastanesinde yapılmıştır.

2.1.1.Hematopoetik Kök Hücre Nakli

Hematopoetik kök hücre transplantasyonu; kemik iliği veya periferik kandan elde edilen hematopoetik kök hücrelerin toplanması ve infüzyon yoluyla verilmesi işlemidir (23). Kişinin kendisinden veya sağlıklı insan lökosit antijeni (HLA) uyumlu vericiden alınan, kemik iliği veya aferez yöntemi ile elde edilen kök hücreden zengin periferik lökositler, primer hastalığın tedavisinin ardından veya hazırlayıcı rejimler ile kemik iliği baskılanmasını takiben hastaya verilir. Hematopoetik kök hücre nakli hematolojik malignitelerde, kemik iliği yetmezliklerinde, immün yetmezliklerde, konjenital hematolojik hastalıklarda ve bazı solid tümörlerde kabul edilen etkin bir tedavi yöntemi olduğu gibi bazı nörolojik ve kalıtsal metabolik hastalıklarda da hastalığı düzeltebilmekte ya da iyileşme sağlayabilmektedir (24). Hematopoetik kök hücre verici tiplerine göre HKHN genel olarak üç gruba ayrılmaktadır:

1. Singeneik kök hücre nakli; genetik olarak tam uyumlu tek yumurta ikizlerinden yapılan nakil şeklidir.
2. Otolog kök hücre nakli; hastanın kendisinden toplanan HKHN'lerin hazırlık rejimi sonrasında tekrar hastaya verilmesi işlemidir.
3. Allojenik kök hücre nakli; sağlıklı, doku grubu uygun başka bir insandan alınan HKH'lerin hazırlık rejimi sonrasında alıcıya verilme işlemidir.

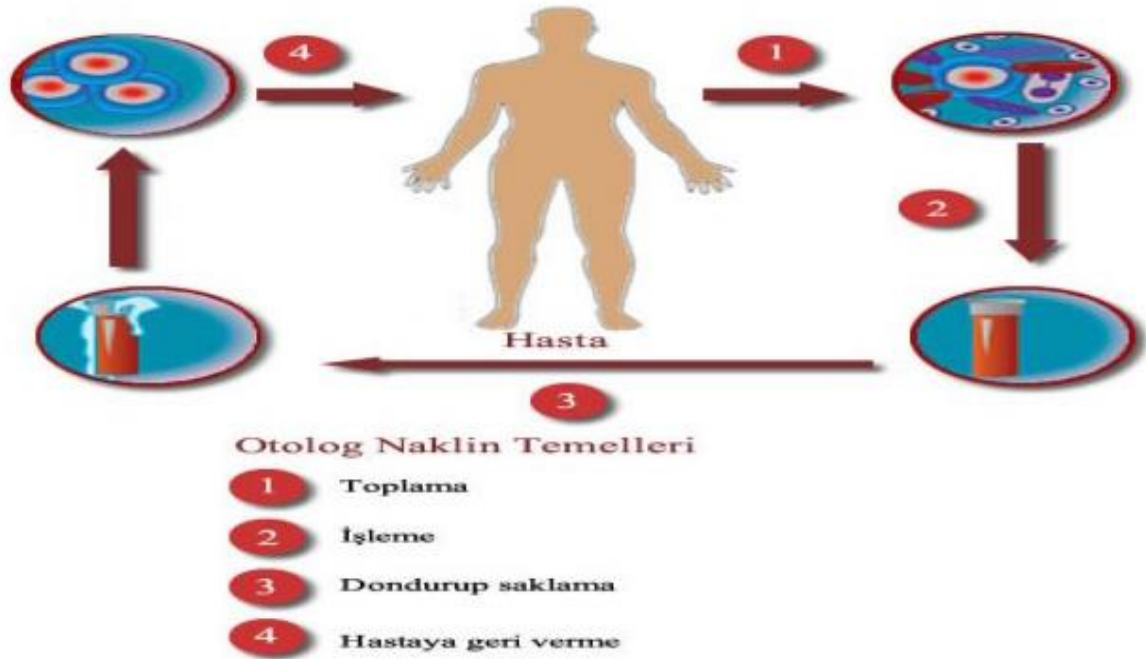
2.1.1.1.Singeneik Hematopoetik Kök Hücre Nakli

Singeneik; genetik olarak tam uyumlu bireyler (tek yumurta ikizleri) arasında yapılır. Yaklaşık olarak tüm nakillerin % 1’ini oluşturur. Bu nakilde tüm genetik özellikler ve HLA

antijenleri aynıdır (23). HLA molekülleri, tiplerine göre hangi hücrelerde bulunacağı değişmekle birlikte hücre yüzeyinde yer alan glikoprotein yapısında moleküllerdir. HLA moleküllerinin en önemli görevlerinden biri immun yanıtın düzenlenmesidir (25).

2.1.1.2. Otolog Hematopoetik Kök Hücre Nakli

Yüksek doz kemoterapi sonrasında pansitopeniye girmiş (eritrosit, trombosit ve beyaz küre yapımı baskılanmış) hastaların kemik iliğini desteklemek amacıyla, daha önce hastadan elde edilmiş, mobilize periferik kan veya kemik iliği kaynaklı kök hücrelerin, hastanın kendisine verilmesidir (Şekil-3). Kök hücre desteksiz olarak verildiğinde, nötrofil sayısını 3 hafta veya daha uzun süre milimetreküp 1000'in altında olacak şekilde baskılayan kemoterapi yüksek doz kemoterapi olarak tanımlanır. Otolog hematopoetik kök hücre nakli (OHKHN) en yaygın kullanım alanını hematolojik hastalıklar, özellikle multipl myelom ve lenfoma oluşturmaktadır (22).



Şekil 3: OHKHN Şematizasyonu (26)

2.1.1.3. Allojenik Hematopoetik Kök Hücre Nakli

Allojenik HKHN sağlıklı gönüllü vericiden alınan hematopoetik kök hücrelerin, alıcıya malign hücreleri yok etmek amacıyla, yüksek doz kemoterapi sonrası verilmesi işlemidir (Şekil-4) (27). Allojenik HKHN uzun soluklu bir süreçtir. Hastanın bilgilendirilmesi ve onamı alındıktan sonra hastanın allojenik HKHN için uygunluğunun değerlendirilmesi, uygun verici seçimi, kök hücre kaynağının seçilmesi, kök hücre ürününün elde edilmesi, ürünün infüzyonu veya saklamaya hazırlanması, hastaya hazırlık rejiminin ve immünsupresif tedavinin verilmesi, kök hücre infüzyonu yapılması, engraftman ve iyileşmenin kaydedilmesi, erken ve geç allojenik HKHN komplikasyonlarının izlemi ve tedavisini içerir (28).



Şekil 4: AHKHN Şematizasyonu (26)

Hematopoetik kök hücre nakillerinin başarılı bir engraftman ve post transplantasyon immün yapılanma ile sonuçlanabilmesi için HLA uyumu olmazsa olmaz koşuldur. Bu konuda en önemli gen çiftleri 6. kromozoma bağlı HLA-A, HLA-B, HLA-C ve HLA-DR lokuslarıdır (27). Aileden birinin hastayla HLA doku uyumu % 30-40 gibi yüksek oranlarda iken aile dışında bir kişiden doku uyumu sağlamak çok düşük bir olasılık taşır (29). HLA uyumlu kardeşi olmayan hastalarda, ulusal ve uluslararası kemik iliği verici programları aracılığıyla akraba olmayan yakın HLA uyumu olan bir kişi ya da kısmi uyumlu akraba verici

kullanılabilir (27). AHKHN’de HLA açısından en uygun donör tek yumurta ikizidir. Ancak tek yumurta ikizi bulmak çok nadir bir durumdur. Bu nedenle yaygın olarak HLA’sı uygun kardeşler ya da akraba olmayan donörler kullanılırlar (30).

Mobilizasyon ve HKHN başarısını arttırmayı sağlayacak kriterlerde HLA en önde gelen belirleyicidir. HLA tam uygun birden fazla verici saptandığı durumlarda verici adaylarının HLA dışı özellikleri de göz önüne alınmalıdır. Bazı verici özelliklerinin engraftman, GVHH ve rejeksiyon gibi durumları etkileyebildiği bilinmektedir. En uygun akraba veya akraba dışı vericiyi seçmek için HLA’ya ek olarak hangi özelliklerin etkili olabileceğini araştıran çok sayıda çalışma mevcuttur. Genellikle araştırılan verici yaşı, cinsiyeti, kilosu, ırk, CMV serolojisi, ABO kan grubudur. Vericinin genç olması, erkek cinsiyet, verici kilosunun fazla olması, CMV seronegatifliğinin nakil başarısını artırdığı bilinmektedir (31,32).

2.2.HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE NAKLİ KOMPLİKASYONLARI

Nakil ilişkili mortalite son yıllarda destek tedavileri, önleyici tedaviler ve erken tanı ile birlikte giderek azalmış olsa da HKHN tedavi edici özelliğinin yanında birçok komplikasyonla birlikte karşımıza çıkmaktadır (Tablo-1). Hem enfeksiyöz hem de non-enfeksiyöz komplikasyonlar daha çok allojenik nakillerde ortaya çıkmaktadır (33,34). AHKHN’den sonra en az iki yıl sağkalımı olan 1479 hastanın dahil edildiği bir kohort çalışmasında en sık ölüm nedeni primer hastalığın relapsı (% 29) iken non-relaps mortalitenin nedenleri kronik GVHH (% 22), enfeksiyonlar (% 11), sekonder maligniteler (% 7), pulmoner komplikasyonlar (% 5), kardiyak toksisite (% 2) ve diğer tedavi ilişkili olaylar (% 8) olarak bulunmuştur (35).

2.2.1 Greft reddi (Rejeksiyonu)

Greft reddi AHKHN yapılan hastalarda nadir görülen ancak sonuçları ciddi olabilen bir komplikasyondur. En sık nedeni alıcının immün mekanizması tarafından greftin reddidir. Hastalığın relapsı, enfeksiyonlar ve kök hücre sayısının yetersiz olması diğer yaygın nedenlerdir. Daha sık görülen hastanın nakil sonrası hiç engraftman olmaması ile karakterize primer greft reddi iken engraftman başladıktan sonra ortaya çıkan greft reddi sekonder greft

reddi olarak adlandırılır. Görülme sıklığı allojenik nakillerde % 5 olarak bulunmuştur. Bu hastalarda tekrar nakil yapılması gerekmektedir (36).

Tablo 1: Hematopoetik kök hücre nakli sonrası komplikasyonlar

Greft reddi
Primer hastalığın relapsı
Tedavi ilişkili toksisite
Kardiyovasküler sorunlar (miyoperikardit, hiperlipidemi, ateroskleroz)
Renal disfonksiyon
Endokrin bozukluklar (tip 2 diyabetes mellitus, hipogonadizm, hipotiroidizm)
Veno-oklüzif hastalık
Mukozit
Hemorajik sistit
İdiyopatik pnömoni sendromu
Lökoensefalopati
Nöropati
Hepatit
Enfeksiyonlar
Kateter enfeksiyonları
Bakteriyemi, fungemi
Pnömoni (viral, fungal, bakteriyel, pneumocystis carini)
Graft versus host hastalığı
Akut
Kronik
Bronşiolitis obliterans
İdiyopatik pnömoni

2.2.2.Enfeksiyonlar

Uzamış nötropeni, immünsüpresif tedaviler (GVHH'yi önlemek veya azaltmak için verilen) ve kateter uygulamaları nedeni ile HKHN yapılan hastalarda enfeksiyonlar sık görülen komplikasyonlardandır (37,38). Nakil sonrası süreç üç faza ayrılmaktadır: engraftman öncesi (0-30 gün), erken nakil sonrası (30-100 gün) ve geç nakil sonrası (>100 gün). Engraftman öncesi dönemde etken patojenler bakteriler ve Candida türleridir, eğer nötropeni uzun sürerse Aspergillus türleri de görülebilmektedir. Erken nakil sonrası faz CMV, Pneumocystis jiroveci ve Aspergillus enfeksiyonları ile karakterizedir. Geç nakil sonrası fazdaki hastalar ise CMV, respiratuar virüsler ve kapsülsüz bakteri enfeksiyonları açısından risk altındadır (39).

2.2.3. Hepatik veno-oklüzif hastalık

Kök hücre nakli sonrası endotelial hasarlanmaya bağlı erken dönem komplikasyonları ortaya çıkmaktadır (40). Glutasyon enzimatik sistem aktivitesinin az olduğu hastalarda kullanılan bazı ilaçlardan meydana gelen toksik metabolitler temizlenemediği için özellikle hepatik asinüsün zon 3 bölgesinde hasara yol açarlar. Bu mekanizma ile meydana gelen veno-oklüzif hastalık; diğer adı ile sinuzoidal obstrüksiyon sendromu klinik olarak hızlı kilo artışı, asit, ağrılı hepatomegali ve sarılık ile karakterizedir (41). Ciddi formlarında % 80'e varan mortalitesi nedeniyle dikkatle değerlendirilmesi ve akılda tutulması gerekir. HLA uyumsuz donör, akraba dışı donör, miyeloablative hazırlık rejimleri, yüksek doz busulfan içeren rejimler, altta yatan kronik karaciğer hastalığı, transfüzyona bağlı demir yüklemesi, ileri yaş, ikinci kez nakil yapılması gibi durumlarda risk artmaktadır (42,43). Profilaksiste sıklıkla heparin kullanılırken orta ve ağır veno-oklüzif hastalık tedavisinde defibrotid etkili bulunmuştur (44).

2.2.4. Graft versus host hastalığı (GVHH)

Graft versus host hastalığı allojenik nakillerde vericinin aktive T lenfositlerinin alıcının dokularını antijenik olarak yabancı tanıyarak saldırması ile oluşur. Ortaya çıkışı zamanı ve klinik özelliklerine göre sınıflandırılır (Tablo - 2) (44).

Tablo 2: Akut ve kronik graft-versus-host hastalığı sınıflaması

	Zaman	Akut GVHH bulguları	Kronik GVHH bulguları
Akut GVHH			
Klasik akut	≤100 gün	Var	Yok
Persistan, tekrarlayıcı, geç başlangıçlı	>100 gün	Var	Yok
Kronik GVHH			
Klasik kronik	Limit yok	Yok	Var
Overlap sendromu	Limit yok	var	Var

GVHH: Graft-versus-host hastalığı.

Akut GVHH esas olarak cilt, karaciğer ve bağırsakları tutar. Klinik olarak yaygın eritematöz makülopapüler deri döküntüleri, bazı olgularda büller, bulantı, kusma, karın ağrısı, sulu bazen kanlı olabilen ishal ve sarılık şeklinde ortaya çıkabilir. Kronik GVHH çoğunlukla cilt, ağız, karaciğer ve göz gibi organları tutar. Daha az olarak gastrointestinal sistem, akciğer

ve eklemler etkilenirler. Cilt lezyonları sklerotik özelliktedir. Bazı hastalarda ise hem akut hem kronik GVHH semptomlarının görüldüğü overlap sendromu gelişebilmektedir (45).

Akut GVHH oranı donöre ve kullanılan GVHH profilaksisine göre değişmekle birlikte %40 dolaylarındadır. Kronik GVHH ise % 50-70 sıklıkla görülmektedir (46,47). 346 hastanın analiz edildiği bir çalışmada akut GVHH' nin kümülatif insidansının klasik AGVHH (n = 320) ve geç başlangıçlı (n = 26) olmak üzere % 44.7 olduğu tespit edilmiştir (48). AGVHH için risk faktörleri (49,50).

- HLA eşitsizliği derecesi (HLA uyumsuzluğu veya ilgisiz donör),
- Bağışçı ve alıcı cinsiyet eşitsizliği (erkek alıcıya kadın donör),
- Transplant hazırlama rejiminin yoğunluğu,
- Akut GVHH profilaktik rejimi kullanılması,
- Greftin kaynağı (periferik kan veya kemik iliği, göbek kord kanından daha büyük.)

Akut GVHH'da deri, karaciğer ve bağırsaklarda izlenen klinik bulguların derecelendirilmesi nin prognoza etkisi, önemi ve skrolama sistemlerinin iyi tutulması erken dönemde yapılmalıdır (Tablo-3). Grade II ile Grade III-IV akut GVHH geliştiren hastalarda mortalite riski daha yüksektir (51).

Tablo 3: Akut GVHH ın Derecelendirme Sistemi

Organların Klinik Derecelendirme (Grading) Sistemi				
Organ	Grade	Tanımı		
Deri	+ 1	Vücut yüzeyinin < 25%'inde makülo-papüler eritem		
	+ 2	Vücut yüzeyinin %25-%50'sinden fazla makülo-papüler rash		
	+ 3	Yaygın eritem		
	+ 4	Yaygın eritem, bullöz lezyonlar ve sıkıka deskuamasyon		
Karaciğer	+ 1	Bilirubin düzeyi: 2.0-3.0 mg/dl		
	+ 2	Bilirubin düzeyi: 3.1-6.0 mg/dl		
	+ 3	Bilirubin düzeyi: 6.1-15 mg/dl		
	+ 4	Bilirubin düzeyi: 15 mg/dl'den fazla		
Bağırsak	+ 1	Diare > 30 ml/kg veya > 500 ml/gün		
	+ 2	Diare > 60 ml/kg veya > 1000 ml/gün		
	+ 3	Diare > 90 ml/kg veya > 1500 ml/gün		
	+ 4	Diare > 90 ml/kg veya 2000 ml/gün veya şiddetli karın ağrısı veya ilus varlığı		
Hastaya Verilecek Toplam Grade Hesaplanması				
GRADE	Deri	Karaciğer	Bağırsak	ECOG Performans Skoru
I	+1 - +2	0	0	0
II	+1 - +3	+1 ve/veya	+1	0 - 1
III	+2 - +3	+2 - +3 ve/veya	+2 - +3	2 - 3
IV	+2 - +4	+2 - +4 ve/veya	+2 - +4	3 - 4

Uluslararası Kemik İliği Nakil Kayıt Veri Tabanının (IBMTR) tanımlamasına göre AGVVH derecelendirilmesi aşağıdaki gibidir (52):

- Grade A - Evre 1 deri tutulumu (karaciğerde veya mide-bağırsak tutulumu olmaksızın) (vücudun % 25'ini aşan makülopapüler döküntü)
- Grade B - Evre 2 deri tutulumu; evre 1 ile 2 bağırsak veya karaciğer tutulumu
- Grade C - Evre 3 herhangi bir organ sisteminin tutulumu (genel eritrodermi; bilirubin 6.1 ila 15.0 mg / dL; diyare 1500-2000 mL / gün)
- Grade D - Evre 4 herhangi bir organ sisteminin tutulumu (bullöz formasyonlu genel eritrodermi; bilirubin > 15 mg / dL; ishal > 2000 mL / gün veya ağrı veya ileus)

2.2.5.Kardiyovasküler komplikasyonlar

Hematopoetik kök hücre nakli yapılan hastalarda kardiyovasküler hastalık gelişme riski nakil yapılmayan kardeşlerine göre artmış olarak bulunmuştur (53).

Antrasiklinler gibi kardiyotoksik kemoterapi ajanlarının kullanılmasının yanı sıra GVHH profilaksisinde kullanılan kalsinörin inhibitörleri ve steroidlerin hipertansiyon ve hiperlipidemi gelişmesinde rolü olduğu gösterilmiştir (54,55).

2.2.6. Renal komplikasyonlar

Radyasyon hasarı, kalsinörin inhibitörlerinin kullanımı, kemoterapi ajanlarının direkt toksik etkileri, hipertansiyon ve GVHH ile birlikte görülen immün mekanizmalar nedeniyle HKHN yapılan hastalar artmış renal disfonksiyon riski ile karşı karşıyadırlar. Artmış risk miyeloablatif rejimlerde olduğu kadar diğer hazırlık rejimlerinde de gösterilmiştir. Daha önceleri öne sürülen düşük yoğunluklu hazırlık rejimlerinin daha az renal toksisiteye yol açtığı ile ilgili görüşler de yapılan çalışmalar ile geçerliliğini kaybetmiştir (56).

2.2.7. Endokrin Bozukluklar

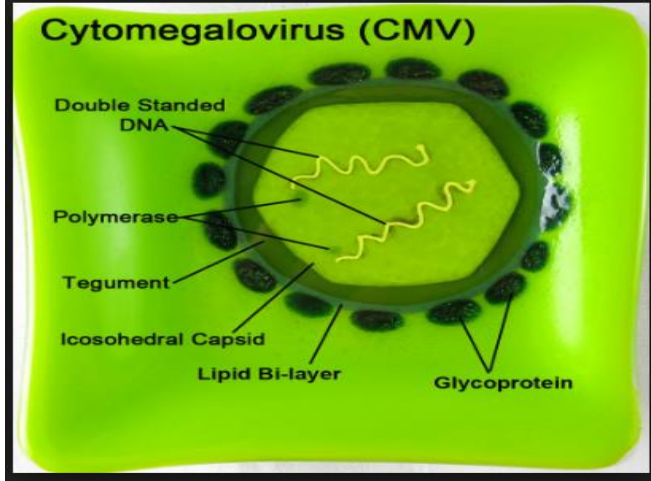
Hematopoetik kök hücre nakli sonrası hastalarda tip 2 diyabetes mellitus, osteopeni, hipotiroidi, hipogonadizm ve metabolik sendrom oranlarında artış görülmüştür. Özellikle tüm vücut ışınlama yapılan hastalarda hipotiroidi daha sık görülmektedir. Hipogonadizm ve infertilite ise genç yaşta nakil yapılacak hastalar için göz önünde bulundurulması ve önceden bu açıdan konsülte edilmesi gereken bir komplikasyondur (57).

2.3. HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE NAKİL SONRASI CMV ENFEKSİYONU

2.3.1 Giriş

Sitomegalovirüs, konjenital CMV hastalığı ile birlikte asemptomatikten immün sistemi baskılanmış olan hastalarda ciddi son organ disfonksiyonuna uzanacak kadar geniş bir yelpazede hastalık spektrumuna sahiptir. CMV herpesvirüsler, Herpesviridae veya human herpesvirüs-5 (HHV-5) olarak bilinen viral ailesinin bir üyesidir (58). CMV, nükleokapsidinde 150-200 nm büyüklüğündeki lineer çift zincirli bir DNA molekülü içeren, tüm herpes virüsleri arasında en büyüğüdür (Şekil-5) (59). CMV, enfekte olmuş hücrelerde

belirgin intranükleer inklüzyon cisimcikleri oluşturup hücreyi genişleterek uzun süreli latent enfeksiyona neden olma eğilimindedir. Diğer herpesvirüsler gibi, ilk enfeksiyonun iyileşmesinden sonra, CMV konakçıda uykuda kalır. Viral reaktivasyon, immün sistemi baskılayarak bağışıklık sisteminin baskısı sırasında ortaya çıkar. CMV enfeksiyonları genellikle tükürük bezleri ile ilişkilidir (58).



Şekil 5 : CMV Yapısı (59)

Sitomegalovirüs epitel hücreleri, hematopoetik hücreler ve bağ dokusu gibi çeşitli vücut hücrelerini enfekte edebilir (60). Altı yaşından büyük nüfusun yaklaşık % 59' u CMV' ye maruz kalmıştır ve artan yaşla birlikte nüfusun seroprevalansı artmıştır. CMV, sanayileşmiş ülkelerdeki yetişkinlerin % 60 ila % 70' ine ve gelişmekte olan ülkelerde % 100' e yakın bir şekilde bulaşmaktadır. CMV enfeksiyonu 4 şekilde gözükabilir (58):

- Primer enfeksiyon: Seronegatif hastalarda enfeksiyon; asemptomatik olabilir.
- Tekrarlayan enfeksiyon: Seropozitif hastalarda CMV'nin reinfeksiyonu veya reaktivasyonu.
- CMV enfeksiyonu: Vücut sıvılarında (idrar, kan) veya dokuda CMV varlığı.
- CMV hastalığı: İlişkili olmayan spesifik belirtiler ve semptomlar ve / veya uç organ tutulumu ile CMV enfeksiyonu.

Sitomegalovirüs enfeksiyonu, AHKHN vakalarında, % 30-50 vakada klinik olarak anlamlı enfeksiyon göstererek önemli bir problem teşkil etmektedir (61). HLA uyumlu nakil olumsuz sonucun önlenmesi için tercih edilen transplantasyon olmakla birlikte, HLA uyumu olmayan ve bağışçısı olmayan hastalar için ancak haploidentikal kök hücre nakli (Haplo-KHN) transplantasyon için alternatif olarak kullanılabilir (62). Donor veya alıcının önceki

seropozitif durumdan bağımsız olarak, AKHKN olgularının % 32- % 70'inde CMV enfeksiyonu gelişebilir (59). Transplantasyonun ilk 3-4 ayında daha çok CMV enfeksiyonu riski vardır. CMV enfeksiyonu genellikle geç post-engrafman dönemlerinde görülür (63).

2.3.2. Patofizyoloji

Sitomegalovirüs bulaştıktan ve primer enfeksiyon temizlendikten sonra, miyeloid hücrelerde uykuda kalır. Viral replikasyon ve reaktivasyon öncelikle sitotoksik T hücre immünitesini içermektedir (58). İmmünkompetan bireylerde CMV latent olarak vücutta asemptomatik olarak kalır (64). Bununla birlikte, reaktivasyon meydana geldiğinde, virionlar kan dolaşımına ve diğer vücut sıvılarına salınır ve bu da çoğunlukla bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda semptomların varlığına yol açar (58). Transplantasyon vakalarında CMV enfeksiyonlarının çoğunluğu virüsün latent aşamasından reaktive hale geçmesinden kaynaklanır (65). Erişkinlerde transplantasyon sonrası bağışıklık sisteminin yeniden yapılanması timik fonksiyonun zayıflığı nedeni ile esas olarak allogreftte matür T hücrelerinin periferik genişlemesine bağlıdır. İmmün yapılanma süreci yaş, HLA uyumsuzluğu, kök hücrelerin kaynağı ve greft bileşimi, hazırlık rejimi ve steroid uygulamasından etkilenir (62).

Transplant alıcılarının serolojik durumu, kemik iliği transplant vakalarında CMV reaktivasyonu için önemli bir risk faktörüdür (66). Diğer çalışmada da alıcıların seroloji durumunun HKHN reddi ve mortalite için baskın bir risk faktörü olduğunu göstermiştir (67) (68). Konakçı bağışıklık sistemi enfeksiyondan sonra virionu tanır ve konak bağışıklık sisteminin aktivasyona yol açar. Birkaç çalışma, kemik iliği transplantasyonu CD-4 T hücrelerinin göreceli olarak yavaş bir oranda rejenere olduğunu bildirmiştir, ki bu daha sonra CMV replikasyonunun kontrolü için sitotoksik T hücrelerine sınırlı yardım sağlamaktadır (69) (70). Haplo- KHN uygulanan hastalar, HLA uyumlu transplantasyondan daha yüksek CMV antijenemi insidansına sahiptir (71). HKHN olgularında CMV enfeksiyonları için diğer risk faktörleri ileri yaş, tüm vücut ışınlaması nedeni ile immünsüpresyon, antitimosit globulinler, kemoterapötik rejimler ve göbek kordonu kanından transplantasyon yapılmasıdır (72,73). Non-miyeloablative alıcılar, çoğunlukla alemtuzumab içeren kemoterapiye veya antilenfosit globulinlere bağlı olarak geç CMV enfeksiyonuna daha yatkındırlar (73).

2.3.3. Histopatoloji

Diğer herpesvirüsler gibi, CMV de genleri ile enfeksiyonu kontrol eder.

- Enfeksiyondan sonra 0 ila 4 saat içinde erken genler transkripsiyonu düzenlenmesinde rol oynar.
- Enfeksiyondan 4 ila 48 saat sonraki erken genler, viral DNA replikasyonuna ve daha transkripsiyonel düzenlemeye katılır.
- Geç genler enfeksiyonun geri kalanı boyunca viral çıkışa ve yapısal proteinler için kodlara kadar eksprese edilir.
- CMV, işlevsel DNA polimerazı kodlarken, virüs, genlerinin transkripsiyonu için konakçı RNA polimerazı kullanır.
- Viral çift zincirli DNA genomunun sentezi, konakçı hücre çekirdeğinde, özel viral replikasyon bölümleri içinde meydana gelir (58).

2.3.4 Klinik Prezantasyonu

Primer CMV enfeksiyonu genellikle asemptomatik veya subklinik bulgulara sahiptir. Bağışıklık sistemi sağlam olan hastalarda CMV'nin en sık görülen prevalansı mononükleoz, ateş, döküntü ve lökositoz ile karakterizedir.

Diğer bulgular anemi, anormal karaciğer fonksiyon testleri, trombositopeni, romatoid faktör (RF) ve antinükleer antikor (ANA) pozitifliğidir. İmmünsupresif konaklarda organ tutulumu nadirdir. Bununla birlikte, CMV, örneğin HIV, solid organ nakli ve kemik iliği transplantasyonu gibi baskılanmış bir bağışıklık sistemi olan hastalarda önemli bir fırsatçı patojendir. Bu, hepatit, pnömonit ve kolit gibi spesifik organ hastalıkları ile ortaya çıkabilir (58).

2.3.4.1 CMV pnömonisi

Sitomegalovirüs pnömoni, vakaların çoğunda spesifik olmayan semptomları olan potansiyel ölümcül bir hastalıktır (74). CMV pnömonisi insidansı, HKHN sonrası antiviral profilaksi veya önleyici tedavinin etkin kullanımı nedeniyle azalan bir eğilim göstermektedir (75). Otolog alıcılar arasında insidans yaklaşık % 1 ila % 6, allojenik alıcılar arasında % 10 -

% 30 civarındadır (76). CMV pnömonisinin tanısı klinik ve radyolojik kanıtlara dayanmaktadır. Ek olarak mikrobiyolojik olarak CMV kanda, bronkoalveolar lavajda veya akciğer dokusunda tespit edilebilir. Viral identifikasyon veya akciğer biyopsisinde inklüzyon cisimciğinin gösterilmesi için immünohistokimyasal boyama, altın standart bir tetkiktir, ancak biyopsi her zaman bu gibi durumlarda uygun bir seçenek değildir (77). Antiviral öncesi döneme kıyasla, CMV pnömonisinin mortalite oranı, spesifik antivirallerin veya yüksek dozda immüno globulinlerin kullanılması nedeniyle % 50' den daha azına düşmüştür (günde 0.2-0.5 mg / kg) (74).

2.3.4.2 Gastrointestinal Enfeksiyonlar

Sitomegalovirüs GIS enfeksiyonlarının insidans oranı % 2 civarında olup genellikle transplantasyonun ilk iki yıl içerisinde görülür (78). Tüm GIS yolu boyunca herhangi bir yerde meydana gelen ülseratif bir durum olmakla birlikte, üst GiS tutulumu, hematolojik maligniteleri olan veya HKHN sonrası hastalarda daha sık görülür (79).

Sitomegalovirüs özofajiti genellikle kendini odinofaji ve disfaji ile gösterir. Endoskopi ile CMV inklüzyon cisimlerini içeren karakteristik ülserlerin görülmesi tanıyı kesinleştirir (80). CMV gastriti şiddetli ve sürekli epigastrik ağrı ile kendini gösterir. Kolorektal tutulum HKHN hastalarında daha sık görülür (79). CMV koliti genellikle ishal, karın ağrısı, anoreksi ve ateş ile kendini gösterir. Kolonik perforasyon, hemoraji ve peritonit CMV kolitinin komplikasyonu olarak ortaya çıkabilir (81).

2.3.4.3 Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonları

Merkezi sinir sistemi (MSS) tutulumu, HKHN veya edinilmiş immün yetmezlik sendromunda (AIDS) olduğu gibi derin immün yetmezlik bozukluğu olan hastalarda görülür (82). CMV de MSS tutulumu genellikle hastalığın sonraki evresinde görülür (83). Kraniyal sinir felci ile birlikte bilişsel bozuklukların hızlı ilerlemesi ile kendini gösterir (84). Tanı genellikle radyolojik inceleme ile yapılır ve BOS PCR ile CMV saptanması tanı için yararlı bir araçtır (83).

2.3.4.4 CMV Retinitis

Sitomegalovirüs retinitis, HKHN' den sonra geç bir komplikasyon olarak ortaya çıkabilir ve tüm geç CMV bulgularının %5' ini oluşturur (85). Genellikle periferik retina bölgesinden başlayan ve enfeksiyonun erken evresinde hastaların görme yetilerine minimal zarar veren yavaş ilerleyen bir hastalıktır (86).

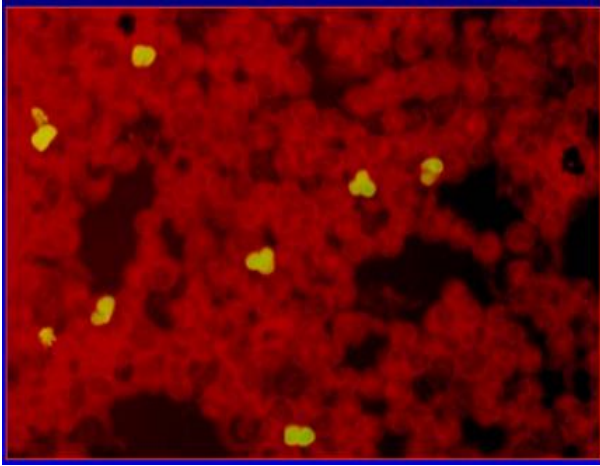
2.3.4.5. Diğer Bozukluklar

Hematopoetik kök hücre nakil olgularında CMV enfeksiyonu olan hastalarda sistit, nefrit, miyokardit ve pankreatit nadir olarak görülebilir (87).

2.3.5 Tanı

Sitomegalovirüs enfeksiyonu riskini taşıyan hastaların tanısal sürveyansı için çeşitli teşhis yöntemleri mevcuttur. CMV enfeksiyonunun saptanması için tarif edilen yöntemler arasında, kan, idrar veya bronkoalveoler lavaj gibi çeşitli vücut sıvılarından antijen veya antikörlerin saptanması gibi serolojik testler ile viral kültür ve kantitatif/kalitatif CMV genomik tespiti yer almaktadır (88). HKHN hastalarında kullanılan yaygın testler pp65 antijenemi ve CMV DNA PCR gibi viral kültür ve serolojik yöntemlerdir (7). Viral seviyelerin izlenmesi, preemtif tedaviyi yönlendirmek için önemlidir. Pp65 antijen testi, periferik kandaki mononükleer hücreler üzerindeki CMV antijenlerini tespit eder ancak testin sınırlamalarını, öznelliğinin ve standardizasyonun göreceli düşük olması, yoğun emek gerektirmesi ve PCR ile karşılaştırıldığında daha az duyarlılığı olması oluşturur (89,90). Standart kültür 2 -3 hafta sonra sonuç verdiği için hızlı kültür yöntemleri daha çok uygulanmaktadır. Bunlar genellikle latent ve aktif enfeksiyonu ayırdemez (7). Tanı testlerinden ilki CMV pp65 antijenemisini saptamaya çalışan immunfloresan yöntem olup, duyarlılığı daha düşüktür (6). Viral pp65 antijeni, CMV replikasyon döngüsünün erken safhasında kan lökositlerinde eksprese edilen yapısal bir geç proteindir. Antijenemi, 2×10^5 periferik kan lökositlerinden oluşan bir sitospin preparatında CMV matriks fosfoprotein pp65 için bir immünfloresan tahlilinde pozitif lökosit çekirdeğinin nicelleştirilmesi ile ölçülür (Resim-1). Özellikle nötropenik hastalarda, yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilir; antijenemi

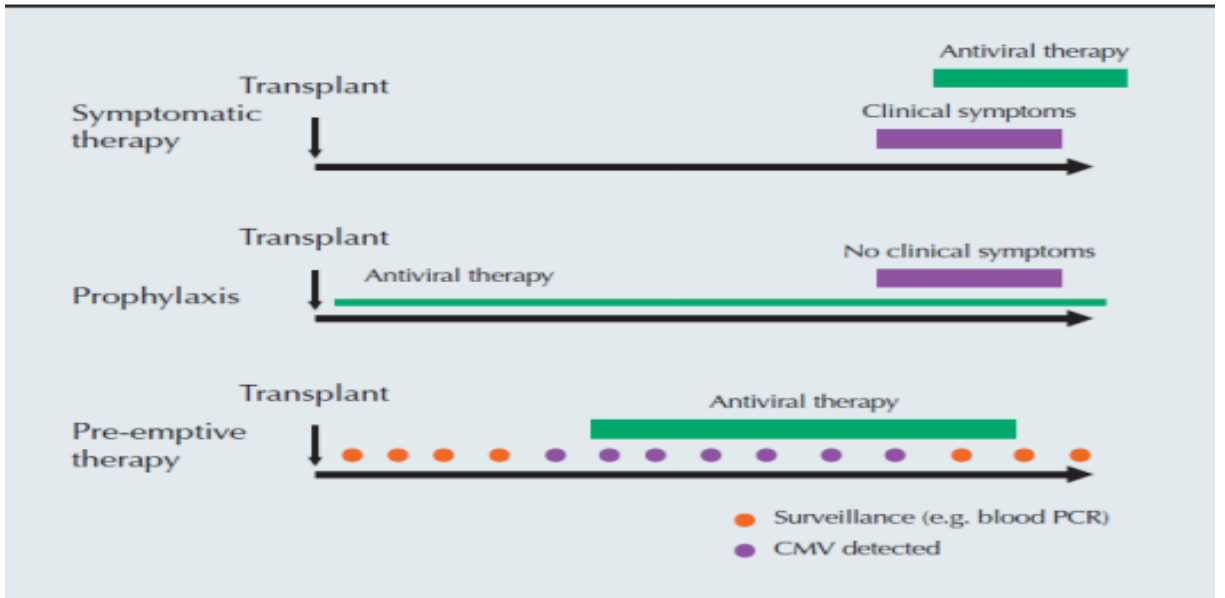
test sonucu yeterli sayıda polimorfonükleer lökosit varlığına bağlıdır (8). Optimal sonuç için örnekler 6 saat içinde çalışılmalıdır (7). Diğerisi ise CMV DNA'sının PCR yöntemi ile saptanması olup, kantitatif real-time PCR metodu ile CMV DNA'sı daha duyarlı bir şekilde ve kantitatif olarak hesaplanabilmektedir (6). PCR genelde büyük iyi korunmuş bölgelerdeki bir dizi erken ve geç antijen genlerini CMV DNA'nın saptanması için hedefler. DNA tam kan, lökositler, plazma veya herhangi bir başka dokudan (doku biyopsisi numuneleri) veya vucüt sıvılarından (idrara, BOS, BAL) çıkarılabilir (8). Ölçüm için canlı hücre varlığı gerekmez. Primerlerin bağladığı bölgelerde mutasyon varlığında yanlış negatif sonuçlar alınabilir. Virus genomunda başka bir bölgeye uygun primer kullanılması ile durum aydınlanabilir. Böyle durumlarda pp65 antijen pozitif iken PCR negatif çıkabilmektedir. Mutasyonu belirlemede en kesin yöntem dizi analizidir (7). Standart PCR testi antijenemi tespiti için kullanıldığında testin duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla % 55,4 ve % 95,5 olduğu görülmüştür (9). PCR ve pp65 taramaları CMV ilişkili GIS patolojilerinin % 25 kadarında negatif sonuç verebilmektedir (7). CMV viral yükünü tespit etmek için prognostik gösterge ve antiviral tedavinin izlenmesine izin verecek çeşitli teknikler kanıtlanmıştır. US 17, UL 50, US 54, LC 342, LC 383 ve immediate early (İE) gen gibi yüksek oranda korunmuş CMV bölgeleri, CMV PCR testi için primer hedefler olarak kullanılmıştır (91,92). CMV'nin gerçek zamanlı PCR da tam kan veya plazmada otomatik olarak tespit edilmesi, daha hassas olması gibi avantajları nedeni ile çoğu merkezde pp65 antijenemi testinin yerini almıştır (93).



Resim 1: CMV pp65 antijen immunfloresan testi

2.3.6. CMV Enfeksiyonunun Önlenmesi

Sitomegalovirüs enfeksiyonu ve hastalığının önlenmesi, nakil sonrası izlemenin ve yönetiminin önemli bir bileşenidir. Serum CMV IgG seviyeleri, transplanttan önce alıcının başlangıç durumunun bilinmesi için belirlenmelidir. CMV negatif allojenik alıcılar CMV negatif donörlerden veya lökosit arındırılmış kan ürünlerinden kan ürünleri almalıdır ve aynı şey otolog hastalar için de önerilmektedir (6). Allojenik hastalarda önerilen strateji, preemptif veya profilaktik tedavidir (8) (Şekil-6). Profilaktik tedavide, gansiklovir, asiklovir, valasiklovir ve forcanet etkili olduğu gösterilmiştir. CMV DNA PCR gibi hassas hızlı moleküler testlerin kullanılabilirliği şeklinde laboratuvar desteği alındığında, pre-emptif strateji tercih edilir ve çoğu merkez bu yaklaşımı tercih etmektedir (7,9). Hastalar transplantın 10. ve 100. günleri arasında haftada bir kez viremi veya antijenemi açısından taranmalıdır (8). Birçok merkez, 1000 / mL CMV DNA kopyasını ya da bazal seviyenin beş kat artışını (hangisi daha düşükse) preemptif tedaviyi başlatmak için eşik değer olarak kabul eder. Gansiklovir en yaygın olarak kullanılır, bunu sırasıyla foscarnet ve sidofovir izler (94,95). Oral valgansiklovir de diğer tedavi seçenekleri arasındadır. Gansiklovir (GCV), CMV DNA sentezini yarışmalı inhibisyon ile DNA polimerazı inhibe eden nükleotit analogudur. GCV tedavisi 2 hafta veya virüs tespit seviyelerinin altına düşene kadar veya 100. güne kadar verilebilir (85).



Şekil 6: CMV Tedavi Çeşitleri

Hematopoetik kök hücre naklinin erken evresinde, gansiklovir tedavisi nötropeni ve trombositopeniye yol açabilir. 2 hafta tedaviden sonra antijenemi veya CMV DNA seviyeleri artmaya devam ederse antiviral dirençten şüphelenilmelidir. Enfeksiyonlu hastada CMV genotipi test edilebilir ve eğer direnç varsa 2. sıra ilaçlara başvurulması düşünülmelidir (75). Miyelosupresyon veya bilinen GCV direnci olan olgularda foskarnet tercih edilir, ancak akut böbrek yetmezliğine veya elektrolit bozukluğuna yol açabilen nefrotoksisite önemli bir sınırlayıcı faktördür. Sidofovir CMV için üçüncü bir ajan olup miyelotoksisite ve nefrotoksisite önemli yan etkileridir.

2.3.7. CMV Hastalığının Tedavisi

Gastrointestinal CMV genellikle birkaç hafta boyunca intravenöz gansiklovir ile tedavi edilir; alternatif olarak foskarnet de kullanılabilir (75). CMV pnömonisi için mevcut bakım standardı, yukarıda belirtilen ilaçların intravenöz immünoglobulin (IVIG) ile birlikte kullanılmasını içerir. Bununla birlikte, CMV'ye özgü immünoglobulinin veya havuzlanmış IVIG'nin yararlı rolü hala mevcut çalışmalarda net değildir. HKHN hastasında CMV retinit ve CMV'nin diğer belirtileri genellikle iv gansiklovir ve foskarnet ile tedavi edilir (7).

2.3.8. Gelecek Perspektifleri

Preemptif tedavide kullanılan viral yük tahminlerinin sıklığı ve cut-off değerleri hakkında bir konsensusün standartlaştırılması ve geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Maribavir gibi daha yeni ilaçlar, deneme aşamasındadır ve toksisite ve/veya konvansiyonel antivirallere direnç durumunda endikedir (7). Yüksek dozda Maribavir dirençli vakaların tedavisinde kullanılabilir. Maribavir miyelosupresyona neden olmaz. Letermovir, CMV-terminaz kompleksini inhibe eden bir antiviral ilaçtır. Faz 3 olarak randomize çift kör olarak dizayn edilen bir çalışmada, CMV seropozitif alıcılarda oral veya intravenöz yoldan uygulanan letermovir ve plasebo transplanttan sonra 14 hafta boyunca izlenmiştir. Letermovir günde 480 mg'lık bir dozda (veya siklosporin kullanan hastalarda günde 240 mg) uygulamıştır. Klinik olarak anlamlı CMV enfeksiyonu (CMV hastalığı veya CMV viremi preemptif tedaviye yol açan) olan hastalar, deneme rejimini durdurmuş ve anti-CMV tedavisi almıştır. Haziran 2014'ten Mart 2016'ya kadar, toplam 565 hastaya randomizasyon yapılmış ve ortalama

transplantasyondan 9 gün sonra letermovir veya plasebo verilmiştir. Sonuç olarak letermovir profilaksisi, CMV enfeksiyonu açısından plasebodan klinik olarak anlamlı derecede daha düşük riskli ve letermovir ile olumsuz olaylar çoğunlukla düşük dereceli olarak saptanmıştır. Maribavir, brinkidofovir ve letermovir gibi daha yeni ajanlar olup, CMV enfeksiyonunun profilaksisinde etkinlik göstermişlerdir, ancak henüz rutinde kullanımları mevcut değildir (109). Donörden türetilmiş CMV'ye özgü T-hücrelerinin transferini kullanarak immün güçlendirilmesi, önemli toksisite olmaksızın olan refrakter vakalarda umut verici olduğu görülmüştür. Artisunat ve sirolimus gibi ilaçların anti CMV etkisi de araştırılmalıdır (75). Antiviral direnci tespit etmek için testler daha kolay sağlanmalıdır. CMV hastalık tedavisinde IVIG'nin rolünü açıkça tanımladığı daha büyük çalışmalar belirtilmiştir. HKHN hastalarında CMV yönetimi için yukarıda belirtilen alanlarda daha fazla araştırma ve geliştirmeye ihtiyaç vardır.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya DEÜTF Hastanesi Hematoloji Bilim Dalı Kök Hücre Nakil Servisinde Haziran 2009 – Ekim 2016 tarihleri arasında AHKHN yapılan ve PCR ile CMV DNA kopyası saptanan ve PP65 pozitifliği olan tüm hastalar dahil edildi. 18 yaş altında olan, medikal verilerine tam olarak ulaşılamayan ve otolog kök hücre nakli yapılan hastalar çalışmaya alınmadı. Aynı hastaya ait antijenemi testi ile PCR testi arasında en fazla 48 saat olmasına dikkat edildi. Hastaların herhangi bir testle CMV pozitifliği saptandığı durumdaki laboratuvar değerleri değerlendirmeye alındı. Bu değer; pp65 antijenemi testi için >1 pozitif hücre /200.000 hücre, PCR için >80 kopya/ml ve üzeri olarak kabul edildi.

Çalışma için Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi ‘İnvaziv Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’ndan 18.01.2018 tarihinde 3711-GOA protokol numaralı 2018 / 02-38 karar numarası ile onay alındı.

CMV pozitifliği olan 39 hastanın CMV çalışılan 138 örnek verileri geriye dönük gözden geçirildi. Tüm hastaların demografik özellikleri, klinik durumu, tanıları, transplant anındaki laboratuvar değerleri, engraftman zamanları, infüze edilen ürün CD34 miktarı, transplant hazırlık rejimleri, GVHH gelişme durumu, CMV enfeksiyon durumu, CMV enfeksiyonu geliştiği andaki pp65 ve eş zamanlı bakılmış CMV DNA PCR düzeyleri, CMV enfeksiyonu geliştiği andaki GVHH derecesi, vericinin CMV immunitesi, alıcının aldığı immunsupresif tedavi, alıcının CMV enfeksiyonu geliştiği andaki galaktomannan (GM) verisi, BK virüs durumu, beyaz küre, nötrofil, lenfosit ve CRP değerleri retrospektif olarak değerlendirilerek tüm veriler SPSS programına kaydedildi. Hastalarla ilgili veriler hematoloji bilim dalı elektronik medikal kayıt sisteminden (HEMCİS) hasta isimleri ve hasta numaraları aracılığı ile tarama yapılarak elde edildi.

CMV Antijenemisini saptama yöntemi olarak CINAKit Argene® (Fransa) Hızlı Anijenemi testi kullanılmış olup, periferik kan lökositlerinden sitomegaloviruse (CMV) ait internal matriks fosfoproteini (protein kinaz) 65-68 kD (pp65) indirekt immunofloresan yöntemi ile tespit edildi.

CMV DNA düzeyinin PCR yöntemi ile tespiti için Artus® CMV QS-RGQ KİT - QIAGEN (Almanya) Kiti kullanıldı.

Çalışmamızda mevcut verileri yorumlamak için tanımlayıcı istatistikler uygulandı. Veriler Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) (version 22.0 SPSS Inc, Chicago, IL, USA) istatistik paket programında değerlendirildi. Sayımla belirtilen değişkenler yüzde dağılım ile, ölçümle belirtilen değişkenler ortalama ve standart sapma ile özetlendi. Sayımla belirtilen değişkenlerin bağımlı grup analizinde Pearson ve Spearmen korelasyon testi kullanıldı. Ayrıca CMV antijenemi pozitifliğine denk gelen viral yükün belirlenmesi için ROC analizi uygulandı. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ kabul edildi.



4.BULGULAR

Allojenik hematopoetik kök hücre nakli yapılan ve CMV enfeksiyonu gelişen 39 hastanın CMV antijenemi ve eş zamanlı CMV DNA pozitifliği olan 138 örneği geriye dönük olarak incelendi. Olguların K/E; 1.05/1 olup, medyan yaş $38 \pm 11(18-64)$ dir. Hasta özellikleri Tablo 4’ de verildi.

Tablo 4: Hasta Özellikleri

	N	N(%)
Örnek Sayısı (n)	138	
CMV Enfeksiyonu	32	% 23,2
Toplam hasta sayısı (n)	39	
❖ Cinsiyet E/K	20/19	% 51 / % 49
❖ Yaş;		
➤ Median	38	
➤ Range	18-65	
❖ Sağkalım	11	% 28,2

İncelenen 39 hastanın 20’sinin (% 51) akut myeloid lösemi (AML), 12’sinin (% 30) akut lenfoid lösemi (ALL), 4’ünün (% 10) myelodisplastik sendrom (MDS), 1’inin (% 3) bifenotipik lösemi, 1’inin (% 3) lenfoblastik lenfoma, 1’sinin (% 3) ise non-hodgkin lenfoma (NHL) tanılı olduğu görüldü. Hastaların CMV epizodları tanılarına göre değerlendirildiğinde 50 epizodun AML (% 36.2), 45 epizodun ALL (% 32.6), 21 epizodun MDS (% 15.2) , 9 epizodun bifenotipik lösemi (% 6.5), 7 epizodun lenfoblastik lenfoma (% 5.1) ve 6 epizodun ise NHL (% 4.3) tanılı hastalarda olduğu görüldü (Tablo-5).

Tablo 5: Hasta Tanı Dağılımı

	HASTA SAYISI		ÖRNEK SAYISI	
TOPLAM	N: 39	N (%)	N: 138	N (%)
TANI				
AML	20	(% 51)	50	(% 36,2)
ALL	12	(% 30)	45	(% 32,6)
MDS	4	(%10)	21	(% 15,2)
Bifenotipik Lösemi	1	(% 3)	9	(% 6,5)
Lenfoblastik Lenfoma	1	(% 3)	7	(% 5,1)
Non-Hodgkin Lenfoma	1	(% 3)	6	(% 4,3)

Hastaların allogenik nakil öncesi hazırlık rejimleri ; 35 hastada (%90) Busulfan+Siklofosfomid, 1 hastada (% 2.5) Busulfan+Fludarabin, 1 hastada (% 2.5) RIC (Reduce intensive chemotherapy), 1 hastada (%2.5) TBI+ATG+Fludarabin, 1 hastada (%2.5) TBI+Etoposiddi. 138 CMV örneğine ait nakil öncesi hazırlık rejimleri incelendiğinde ise; 116 örnekte (% 84.1) Busulfan+Siklofosfomid, 12 örnekte (%8.8) Busulfan+ Fludarabin, 6 örnekte (%4.4) RIC, 3 örnekte (% 2.2) TBI+ ATG+Fludarabin ve 1 örnekte (% 0.8) TBI+Etoposid şeklinde olduğu görüldü (Tablo-6). Ayrıca CMV antijenemi ile yaş, hazırlama rejimi arasında ilişki saptanmadı.

Tablo 6 : Nakil Öncesi Hazırlık Rejimi

	HASTA SAYISI		ÖRNEK SAYISI	
TOPLAM	N: 39	N : (%)	N: 138	N : (%)
HAZIRLIK REJİMİ				
Busulfan/ Siklofosfomid	35	% 90	116	% 84,1
Busulfan/ Fludarabin	1	% 2,5	12	% 8,8
RIC (Reduce intensive chemotherapy)	1	% 2,5	6	% 4,4
TBI/ ATG/ Fludarabin	1	% 2,5	3	% 2,2
TBI/ Etoposid	1	% 2,5	1	% 0,8

Hastaların transplant anındaki labaratuvar degerleri incelendiğinde ortalama Hb değerinin 10 g/dL (5,5-15g/dL), WBC $5100 \times 10^3/\mu\text{L}$ ($200 \times 10^3/\mu\text{L}$ – $30900 \times 10^3/\mu\text{L}$), trombosit (plt) $69 \times 10^3/\mu\text{L}$ ($4 \times 10^3/\mu\text{L}$ - $373 \times 10^3/\mu\text{L}$), Nötrofil (neu) $3200 \times 10^3/\mu\text{L}$ ($100 \times 10^3/\mu\text{L}$ - $x10^3/\mu\text{L}$), lenfosit $1200 \times 10^3/\mu\text{L}$ ($100 \times 10^3/\mu\text{L}$ – $1360 \times 10^3/\mu\text{L}$) ve C-reaktif protein (CRP) 42 (1-298 mg/L) olduğu gözlemlendi (Tablo-7).

İnfüze edilen ortalama CD34 + hücre miktarı $5.9 \times 10^6/\text{kg}$ (2- $12 \times 10^6/\text{kg}$) olup olguların nötrofil engraftmanı ortalama 12 gün (10-22 gün), trombosit engraftmanı ortalama 15,7 gündü (10-30 gün). Nötrofil engraftmanı erken olan hastalarda CMV antijenemi pozitifliği daha çok izlendi (p=0,028) (Tablo-7)

Tablo 7: Tam Kan Sayımı Parametreleri, CD34, Engraftman Süresi Ortalama Değerleri

	Median	Range
Beyaz Küre	$5100 \times 10^3/\mu\text{L}$	$200 \times 10^3/\mu\text{L}$ - $30900 \times 10^3/\mu\text{L}$
Nötrofil	$3200 \times 10^3/\mu\text{L}$	$100 \times 10^3/\mu\text{L}$ – $4500 \times 10^3/\mu\text{L}$
Lenfosit	$1200 \times 10^3/\mu\text{L}$	$100 \times 10^3/\mu\text{L}$ – $1360 \times 10^3/\mu\text{L}$
Hemoglobin	10 g/dL	5,5-15g/dL
Trombosit	$69 \times 10^3/\mu\text{L}$	$4 \times 10^3/\mu\text{L}$ - $373 \times 10^3/\mu\text{L}$
CD 34 + Hücre Sayısı	$5.9 \times 10^6/\text{kg}$	2- $12 \times 10^6/\text{kg}$
Nötrofil Engraftman Günü	12 gün	10-22 gün
Platelet Engraftman Günü	15,7 gün	10-30 gün

Hastaların transplant anındaki CMV Ig M ve Ig G durumlarına bakıldığında CMV Ig G % 68’ inde pozitif, % 23’ ünde negatif saptanmış olup ve % 9 olguda CMV durumuna ulaşılamamıştır. Donör CMV durumu ise % 17’ sinde Ig G negatif, % 83’ ünde Ig G pozitifdir. Transplant sırasındaki hasta ve donör CMV durumları Tablo 8’ de sunulmuştur.

Tablo 8: Transplante Hasta / Donör CMV durumları

Transplante Hasta / Donör CMV durumları	Örnek Sayısı	
	N: 138	N (%)
Pozitif/Pozitif	98	% 71
Pozitif/Negatif	3	% 2,2
Negatif/ Pozitif	16	% 11,6
Negatif/ Negatif	16	% 11,6
Ulaşılamamış	5	% 3,6

Tüm hastalar GVHH profilaksisi olarak metotrexat- siklosporin (metotrexat 10 mg/m² siklosporin 300 mg/gün), bakteriyel, fungal ve pneumocytis carini enfeksiyonlarına yönelik flukanozol, siprofloksasin ve trimetropim- sulfametoksazol tedavilerini içeren profilaksi ile viral enfeksiyonlara yönelik valasiklovir 500 mg/gün oral tedavi almıştır.

Tüm CMV pozitif olan örneklerin % 23,2’ sinde (n:32) CMV enfeksiyonu tespit edildi. Klinik olarak CMV enfeksiyonu olan 7 hastanın 6 sında GİS tutulumu, 1 inde ise CMV pnömonisi saptandı. Olguların tümüne antiviral tedavi olarak IV gansiklovir tedavisi uygulanmış olup üç hastanın tedavisine oral valgansiklovir ile devam edilmiştir. 7 hastada CMV enfeksiyonu nedeniyle ve diğer hastalara da preemptif antiviral tedavi uygulanmıştır. 1 hastada gansiklovire dirençli olması nedeni ile sifedovir tedavisine geçilmiştir.

CMV enfeksiyonu tespit edilmiş hastaların tespit anındaki GVHH durumları incelendiğinde % 42.8’ inde cilt GVHH, %19.5’ inde cilt ve gis GVHH, % 10.2’ sinde cilt ve akciğer GVHH, % 7.2’ sinde cilt ve hepatik GVHH olduğu, % 20.3’ ünde ise GVHH olmadığı görülmüştür. İmmüsupresif tedavi olarak hastaların % 54.4’ü steroid-siklosporin kombine, % 19,2’ si siklosporin, % 10,3’ü steroid, % 9,5’si steroid-siklosporin-MMF, %

6,6'sı prednol-takrolimus almaktaydı. 1 hastaya fotoforez tedavisi, 2 hastaya da mezenkimal kök hücre tedavisi verilmişti. GVHH olan hastaların; % 46.2' sinde GVHH derece 2 (n; 48), %31,8' inde derece 3 (n;33), % 20' sinde derece 4 (n;21), % 2' sinde derece 1 (n;2) olduğu görüldü. Ayrıca GVHH derecesi ile CMV enfeksiyonu arasında da korelasyon tespit edilmedi (p=0,12).

Olguların CMV pozitifliği transplant sonrası ortalama 112. Günde pozitif bulundu (10-720 gün). Bu dönemdeki beyaz küre, nötrofil ve lenfosit değerlerine bakıldı. Engrafman sonrası lenfosit değeri ile CMV DNA titresi arasında istatistiksel anlamlılık yoktu (p=0,07), ancak lenfosit sayısı <500 ve >500 üstü iki alt grup şeklinde bakıldığında lenfosit değeri <500 olan hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde CMV DNA pozitiflik oranının daha yüksek olduğu görüldü (p=0,017). Bu durumun lenfopenisi olan hastalarda engrafmanın gerçekleşmemesine ve pp65 bakılabilmesi için yeterli hücre sayısının olmamasına bağlı olduğu görüldü. Lenfosit sayısı arttıkça antijenemi pozitifliğinin daha yüksek olduğu görüldü ve lenfosit sayısı ile CMV antijenemi arasında istatistiksel anlamlılık saptandı. (p=0,038).

Beyaz küre değeri ve nötrofil değeri ile CMV DNA arasında korelasyon tespit edildi (p=0,003, p=0,002). Nötrofil değeri <1000, 1000-2000, >2000 ile CMV DNA arasında da korelasyon izlendi, nötrofil değeri arttıkça CMV DNA titresinin de arttığı görüldü (p=0,027). Ayrıca nötrofil değeri ve CMV antijeni ile arasında da istatistiksel ilişki vardı (p=0,034). Yine, CMV antijenemi ile nötrofil değerleri <1000 ve >1000 olarak incelendiğinde istatistiksel ilişkinin belirginleştiği izlendi (p=0,005). Nötrofil değeri >1000 olan hasta grubunda CMV antijenemi pozitifliği yüksekti.

Nötrofil engrafmanı ile CMV antijenemisi arasında anlamlılık saptanmış ve nötrofil engrafmanı geç olanlarda daha çok pozitiflik saptanmış ve CMV klinik enfeksiyonu olanların nötrofil engrafmanının geç olduğu grupta olduğu gözlenmiştir (p=0,028 ve 0,0001).

Platelet engrafmanı ile CMV antijenemisi ve CMV DNA pozitifliği arasında anlamlılık saptanmış ve platelet engrafmanı geç olanlarda daha çok pozitiflik saptanmış ve CMV klinik enfeksiyonu olanların geç platelet engrafmanı olduğu gözlenmiştir (p=0,025 ve 0,001).

Hastalarımızın tamamında CD34 pozitif kök hücreleri periferel kandan elde edilmiş olup, infüze edilen CD34 miktarı ile CMV antijenemisi ve CMV DNA pozitifliği arasında anlamlılık saptanmamıştır (p=0,07 ve 0,2).

CMV antijenemi değerlerine bakıldığında 37 örnekte (% 26,8) 0-20 arasında, 8 örnekte (% 5,8) 20-100 arasında, 4 örnekte (% 2,9) CMV antijenemi sonucunun >100 olduğu, 65

örnekte (% 47,1) CMV DNA sonucu pozitif olmasına rağmen CMV antijeneminin negatif olduğu, 31 örnekte (% 22,5) ise hücre yetersizliği olduğu görüldü .

CMV antijenemisi pozitif gelen 49 örneğin 38'i transplant sonrası ilk 100 gün içinde tespit edilmiş olduğu gözlemlendi.

Örneklerin 8' inde (%5,8) CMV pp65 antijenemi ve CMV DNA PCR negatif; 49' unda (%35,5) ise her iki test de pozitif sonuçlanmıştır. CMV antijenemi negatif/ CMV pozitif örnek sayısı 81 (%58,7) iken, antijenemi pozitif/ CMV PCR negatif örnek yoktu. İki testte pozitif gelen 49 örneğin CMV PCR ortalama değeri 57.887 kopya/ml'di. (70 - 1.213.633 kopya/ml). Her iki test ile pozitif saptanan örnekler arasında anlamlı korelasyon saptandı (p=0,018). ROC analizi ile bakıldığında plazmada 322 kopya/ml CMV viral yükün ≥ 1 antijen pozitif hücre/200 bin lökosit karşılık geldiği görüldü (Duyarlılık % 68,5; Özgüllük % 31,5) (Tablo 9). CMV DNA PCR pozitif, pp65 antijenemi negatif olan örneklerin hastaların lökopenik olması nedeni ile CMV antijenemi testinin yanlış negatif sonuçlanmasına bağlanmış olup yine CMV DNA negatif ve antijenemi pozitif örnek olmaması CMV DNA PCR testinin daha duyarlı olması ile açıklanabilir.

Tablo 9: pp65 ve CMV DNA PCR sonuçların dağılımı

	Pp65 pozitif N (%)	Pp65 negatif ya da yetersiz N (%)	Toplam N(%)
CMV DNA pozitif ≥ 80 kopya/ml	42 (% 30,4)	62 (% 45)	104 (% 75,4)
<80 kopya/ml	7 (% 5,1)	19 (% 13,9)	26 (% 19)
CMV DNA negatif	0	8 (% 5,6)	8 (% 5,6)
Toplam N (%)	49 (% 35,5)	89 (% 64,5)	138 (% 100)

En yüksek CMV DNA değeri ise 1.213.633 kopya/ml olarak bulunmuştur. Bu örnek GİS CMV enfeksiyonu geçiren bir olgumuza aittir. 104 örnekte CMV DNA seviyesi > 80 kopya/ ml olarak gelmiştir, 138 örneğin CMV DNA seviyeleri CMV enfeksiyon gelişme durumuna göre ROC curve analizi yapılmış ve sonuca göre CMV DNA $< 2 \times 10^2$ cut-of alındığında sensivite % 97,7, spesifite % 94 bulunmuş ve örneklerin 75 'inde CMV DNA kopyası $< 2 \times 10^2$ kopya/ml, 63' ünde $> 2 \times 10^2$ kopya/ml olarak sonuçlanmıştır. 32 örnekte CMV enfeksiyonu geliştiği görülmüştür, referanslardaki CMV DNA cut-off değerlerine göre

CMV enfeksiyonu gelişimi açısından CMV DNA PCR sonuç ve antijenemi sonuçlarının karşılaştırıldığında da anlamlı korelasyon gösterilmiştir (p=0,004) (Tablo 10).

Tablo 10: Referanslardaki CMV DNA cut-off değerlerine göre CMV enfeksiyonu gelişimi açısından CMV DNA PCR sonuç ve Antijenemi sonuçlarının karşılaştırılması (p=0,004)		
	CMV DNA kopya / ml	
	<2x 10² (n;75)	≥2x 10²(n;63)
CMV Antijenemi		
*Pozitif	15 (% 20)	34 (% 54)
*Negatif	44 (% 58,6)	9 (% 14,3)
*Yetersiz hücre	6 (% 8)	2 (% 3,2)
*Bakılmamış	10 (% 13,4)	18 (% 28,5)
Sensivite % 97,7		
Spesifite % 94		

Ayrıca 4 hastada BK virüs pozitifliği idrar ve serum örneklerinde saptanmıştır. Hastaların tedavilerine levofloksasin eklenmiştir. Ayrıca 1 hastada Sidefovir tedavisi verilmiştir. 4 hasta da kaybedilmiştir. Allogenik nakil yapılan olgularımızın % 76,8’u ölmüş, % 23,2 yaşamaktadır.

5.TARTIŞMA

Kemik iliği transplant alıcılarında transplantasyon sonrası dönemde alıcı ve vericinin durumu ile ilişkili olarak yaklaşık % 50–90 arasında CMV enfeksiyonu ile karşılaşmakta ve bunların % 30-50 'sinde semptomatik seyir izlenmektedir (87,96,97). CMV enfeksiyonu hematoloji kök hücre nakil kliniklerinde AKHN hastalarında önemli mortalite ve morbidite nedenidir. CMV pozitifliği olan hastalarımızın bir kısmında pnömoni, gastroenterit, retinit ve santral sinir sistemi tutulumu gibi organ tutulumları ile CMV hastalığı gelişebilmektedir. Post-transplant ilk 100 günde CMV seropozitifliği ve CMV enfeksiyonu daha sık görülmektedir. Bu hastalarda CMV enfeksiyonu tanısında pp65 ve CMV DNA PCR testleri kullanılabilir. Günümüzde pre-emptif tedavi için daha çok CMV DNA PCR tercih edilmektedir. Yine Landolfo ve arkadaşlarının çalışmasında AKHN sonrası CMV enfeksiyonu % 32-70 civarında tespit edilmiştir (98). Kliniğimizde AHKN yapılan ve CMV pozitifliği gelişen 39 hastaya ait 138 örneğin % 23,2' sinde (n:32) CMV enfeksiyonu tespit edilmiş olup çalışmamızda literatüre göre daha düşük bulunmuştur (99).

Literatürde transplant sonrası ilk 3-4 ayda CMV açısından yüksek risk olduğu gösterilmiş olup, hastalarımızda da literatür ile uyumlu olarak olguların CMV pozitifliği transplant sonrası ortalama 112. Günde pozitif bulunmuştur. CMV antijenemisi pozitif gelen 49 örneğin 38'i transplant sonrası ilk 100 gün içinde tespit edilmiş olduğu gözlenmiştir.

100. günden sonra CMV enfeksiyon sıklığı ve risk faktörlerinin belirlenmesi amacı ile yapılmış bir çalışmada hastaların % 17,8' inde ve median 169 (96-784) günde olmak üzere CMV hastalığı tespit edilmiş ve bu grupta mortalite %46 imiş, çalışmada 100. günden sonra antijen pozitifliği, GVHH varlığı, düşük CD4 sayısı, lenfosit sayısının <100/mm³ ve 100. günden önce CMV varlığı durumlarında riskin arttığı saptanmış (100). Bizim sonuçlarımızda da CMV pozitifliği ortalama transplant sonrası 112. günde tespit edilmiş olup, hastalarımızın % 80' inde GVHH mevcuttu, % 51,3 ünde derece 3-4 GVHH vardı ancak GVHH derecesi ile CMV tespiti arasında korelasyonun olmadığı, bununla beraber lenfosit değeri <500 olan hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde CMV DNA pozitiflik oranının daha yüksek olduğu görülmüştü.

Allojenik kök hücre nakil hastalarının CMV enfeksiyonu patogenezinde immünrekonstruksiyon önemli olup bunu etkileyen faktörlerde yaş, HLA uyumu, kök hücre kaynağı, verilen hazırlama rejimi (ATG, RT öyküsü) ve steroid tedavisi önemlidir (98).

Ayrıca alıcının serolojik durumu önemli bir risk faktörüdür (99). Bizim çalışmamızda hazırlama rejimi ile CMV durumu arasında ilişki saptanmadı ancak yaş ile CMV PCR pozitifliği arasında istatistiksel ilişki vardı ($p=0,029$) fakat CMV antijenemi ile yaş arasında ilişki yoktu. CMV kopya pozitifliği 40 yaş altı hastalarımızda daha çok görüldü ($p=0,014$).

Donör ile alıcı serolojisi CMV riskini ortaya koyan en önemli kriterlerdendir. Risk sırasına göre Donör (D) pozitifliği (+) yanında Alıcı (A) negatifliği (-) en yüksek riski, buna karşı D+ A+, D-, A+ liği giderek azalan riski ortaya koymaktadır. Viremini varlığının CMV hastalığı açısından risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Donör ve alıcı serolojik statüsü, yüksek viral yük, viremi varlığı dikkate alındığı zaman yüksek viral yükün CMV açısından en büyük riski oluşturduğu gösterilmiştir (101). Hastalarımızın transplant anında CMV durumları incelendiğinde % 71' inde D+A+, % 11,6'sında D-A-, % 11,6' sında D-A+ ve % 2,2' sinde D+A- saptandı. Schulenburg ve arkadaşlarının çalışmasında ise alıcı ve verici CMV durumlarına bakıldığında % 42' sinde D+A+, % 24,3' ünde D-A- ve % 19' unda D-A+ saptanmıştır (102).

Biliyoruzki; CMV tespitinde plasmada CMV-PCR pozitifliği nötropenik hastada CMV antijeninden daha hassas bir test olarak kabul edilmektedir. Çalışmamızda ise nötrofil değeri <1000, 1000-2000, >2000 ile CMV DNA arasında da korelasyon izlendi, nötrofil değeri arttıkça CMV DNA titresi artıyordu. Ayrıca nötrofil değeri ve CMV antijeni ile arasında da istatistiksel ilişki vardı. Yine, nötrofil değeri >1000 olan hasta grubunda CMV antijenemi pozitifliği yüksekti.

Literatürde Einsele ve arkadaşlarının (103) çalışmasında kemik iliği nakil sonrası CMV enfeksiyonu için lenfopeni olumsuz prognostik faktör olarak bulunmuş ve bizim çalışmamızda ise; engrafman sonrası lenfosit değeri ile CMV DNA titresi arasında istatistiksel anlamlılık yoktu, ancak lenfosit değeri <500 olan hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde CMV DNA pozitiflik oranının daha yüksek olduğu saptandı.

Bizim hasta popülasyonumuzda geç nötrofil ve platelet engrafmanı olan olgularımızda CMV enfeksiyonları daha sık gözlemlendi. Bunun nedeni de olgularımızda CMV enfeksiyonu nedeni ile engrafmanın geçikmesiydi.

Gökahmetoğlu ve arkadaşları 54 kemik iliği alıcısından elde ettikleri 450 örnekte CMV antijenemi testi ve gerçek zamanlı PCR yöntemleri ile CMV varlığını araştırmışlardır. Araştırmacılar örneklerin % 5,2' sinde her iki testi birlikte pozitif, % 6 'sında yalnızca antijenemi testini, % 9,3' ünde ise sadece CMV DNA testini pozitif olarak bulmuşlardır

(104). Bizim çalışmamızda örneklerin % 35,5' nde her iki testi birlikte pozitif, % 5,7 'sinde yalnızca antijenemi testini, %38.4' ünde ise sadece CMV DNA testini pozitif olarak bulunmuştur.

Kırk üç AKHN yapılan hastadan transplantasyon sonrası 100. güne kadar haftalık elde edilen 415 periferel kan örneğinde gerçek zamanlı PCR yöntemi ile CMV DNA varlığının araştırıldığı başka bir çalışmada, hastaların % 51' inde viral reaktivasyon meydana geldiği belirtilmiştir. Ayrıca kantitatif CMV PCR testinin HKHN alıcılarında CMV reaktivasyonunun ve antiviral tedaviye cevabın izlenmesinde faydalı olabileceği bildirilmiştir (105). Bizim çalışmamızda da CMV antijenemisi pozitif gelen 49 örneğin 38'i transplant sonrası ilk 100 gün içinde tespit edilmiş olduğu gözlenmiştir.

Schulenburg ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (102) CMV enfeksiyonu tespitinde CMV PCR yöntemi ile CMV antijenemiden daha erken pozitifliği saptamışlardır. Bizim olgularımızda ise referanslardaki CMV DNA cut-off değerlerine göre CMV enfeksiyonu gelişimi açısından CMV DNA PCR sonuç ve antijenemi sonuçlarının karşılaştırılması halinde CMV DNA $\geq 2 \times 10^2$ olan grupta antijenemi % 54 pozitif saptanmıştır. Çalışmamızda CMV tespitinde CMV PCR ve CMV antijenemi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde korelasyon tespit edilmiştir.

Türkiye'de kök hücre transplantasyonu alıcılarında yapılmış olan CMV pp65 antijenemi testi ile iki farklı PCR testi sonuçlarının karşılaştırıldığı çalışmada, antijenemi pozitifliğine (≥ 1 pozitif hücre/ 200.000 hücre) karşılık gelen viremi değeri testlerden birinde 1543.5 kopya/ml, diğerinde 423 kopya/ml olarak belirlenmiştir (104). Cut off değeri 423 kopya/ ml olarak tespit edilen Çolak ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada duyarlılığın % 70,7, özgüllüğün % 79,5 olduğu görülmüştür (107). Yine üniversitemizde solid organ nakilli hastalarda yapılan bir çalışmada pp65 antijenemi pozitifliği (≥ 1 pozitif hücre/200.000 hücre) esas alınarak uygulanan ROC analizinde; solid organ nakil alıcılarında antijenemi pozitifliğine denk gelen CMV DNA eşik değeri, 205 kopya/ml (duyarlılık: % 91,7, özgüllük: % 90,3) olarak bulunmuştur (106). Breda ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada CMV antijenemi pozitif ve negatif olarak ayrılabilceği cut off değerinin 1067.5 kopya/ml olduğu % 100 sensivite ve % 71 spesifite ile gösterilmiştir (108). Bizim çalışmamızda her iki test de pozitif gelen 49 örneğin CMV PCR ortalama değeri 57.887 kopya/ml (70 - 1.213.633 kopya/ml) olup, her iki test ile pozitif saptanan örnekler arasında anlamlı korelasyon saptandı ($p=0,018$). ROC analizi

ile bakıldığında plazmada 322 kopya/ml CMV viral yükün ≥ 1 antijen pozitif hücre/200 bin lökosit karşılık gelmiştir (Duyarlılık % 68,5; Özgüllük % 31,5).



6.SONUÇLAR

Çalışmamızda 39 AKHN yapılan hastanın 138 CMV epizodu retrospektif incelenmiştir (Erkek n: 20, Kadın n:19). Hastalarımızda sağkalım oranı % 28,2 (n:11) olup, % 23,2' sinde klinik CMV enfeksiyonu saptandı. Klinik olarak CMV enfeksiyonu olan 7 hastanın 6' sında GİS tutulumu, 1' inde ise CMV pnömonisi mevcuttu.

Otuz dokuz hastanın 20' sinin (% 51) akut myeloid lösemi (AML), 12' sinin (% 30) akut lenfoid lösemi (ALL), 4' ünün (% 10) myelodisplastik sendrom (MDS), 1' inin (% 3) bifenotipik lösemi, 1' inin (% 3) lenfoblastik lenfoma, 1' inin (% 3) ise non-hodgkin lenfoma (NHL) tanılı olduğu görüldü. Allojenik nakil öncesi hazırlık rejimleri ; 35 hastada (% 90) Busulfan+Siklofosfomid, 1 hastada (% 2.5) Busulfan+Fludarabin, 1 hastada (% 2.5) RIC (Reduce intensive chemotherapy), 1 hastada (%2.5) TBI+ATG+Fludarabin, 1 hastada (% 2.5) TBI+Etoposiddi.

Nötrofil engraftmanı ortalama 12 gün (10-22 gün), trombosit engraftmanı ortalama 15,7 gündü (10-30 gün). Nötrofil engraftmanı erken olan hastalarda CMV antijenemi pozitifliği daha çok izlendi.

Olguların CMV pozitifliği transplant sonrası ortalama 112. Günde pozitif bulundu (10-720 gün). Bu dönemdeki beyaz küre, nötrofil ve lenfosit değerlerine bakıldı. Engraftman sonrası lenfosit değeri ile CMV DNA titresi arasında istatistiksel anlamlılık yoktu. Ancak lenfosit sayısı arttıkça antijenemi pozitifliğinin daha yüksek olduğu görüldü ve lenfosit sayısı ile CMV antijenemi arasında istatistiksel anlamlılık saptandı.

Sitomegalovirüs enfeksiyonu tespit edilmiş hastaların tespit anındaki GVHH durumları incelendiğinde % 79.7'sinde GVHH olduğu, % 20.3' ünde ise GVHH olmadığı görülmüştür.GVHH durumları ile CMV antijenemi arasında korelasyon saptanmadı.

Hastaların transplant anındaki CMV Ig M ve Ig G durumlarına bakıldığında CMV Ig G % 68' inde pozitif, % 23' ünde negatif saptanmış olup ve %9 olguda CMV durumuna ulaşılamadı. Donör CMV durumu ise %17' sinde Ig G negatif, %83' ünde Ig G pozitifdir.

Nötrofil değeri ve CMV antijeni ile arasında da istatistiksel ilişki vardı. Yine, CMV antijenemi ile nötrofil değerleri <1000 ve >1000 olarak incelendiğinde istatistiksel ilişkinin belirginleştiği izlendi. Nötrofil değeri >1000 olan hasta grubunda CMV antijenemi pozitifliği yüksekti.

Nötrofil engrafmanı ile CMV antijenemisi arasında anlamlılık ve nötrofil engrafmanı geç olanlarda daha çok pozitiflik saptandı. CMV klinik enfeksiyonu olanların nötrofil engrafmanının geç olduğu grupta olduğu gözlemlendi.

Platelet engrafman geç olanlarda daha çok CMV pozitifliği saptandı ve CMV klinik enfeksiyonu olanların geç platelet engrafmanı olduğu gözlemlendi.

Örneklerin 8' inde (% 5,8) CMV pp65 antijenemi ve CMV DNA PCR negatif; 49' unda (% 35,5) ise her iki test de pozitif sonuçlandı. CMV antijenemi negatif/ CMV pozitif örnek sayısı 81 (%58,7) iken, antijenemi pozitif/ CMV PCR negatif örnek yoktu. ROC analizi ile bakıldığında plazmada 322 kopya/ml CMV viral yükün ≥ 1 antijen pozitif hücre/200 bin lökosit karşılık geldiği görüldü (Duyarlılık % 68,5; Özgüllük % 31,5).

Yüz otuz sekiz örneğin CMV DNA seviyeleri CMV enfeksiyon gelişme durumuna göre ROC curve analizi yapılmış olup CMV DNA $<2 \times 10^2$ cut-of alındığında (sensivite % 97,7, spesifite % 94) bulundu ve örneklerin 63 'ünde CMV DNA kopyası $< 2 \times 10^2$ kopya/ml, 75' inde $>2 \times 10^2$ kopya/ml saptandı. 32 örnekte CMV enfeksiyonu geliştiği görüldü ve referanslardaki CMV DNA cut-off değerlerine göre CMV enfeksiyonu gelişimi açısından CMV DNA PCR sonuç ve antijenemi sonuçlarının karşılaştırıldığında da anlamlı korelasyon gösterildi.

Sonuç olarak, CMV tespitinde kullanılan pp65 ve PCR tetkikleri arasında anlamlı ilişki bulunmaktadır. CMV DNA PCR yöntemi, pp65 antijenemi testine göre daha duyarlı bir tanı testi olduğu görülmektedir. Beyaz küre ve nötrofil değerleri CMV antijenemi ve DNA sonuçlarını etkilemektedir. Nötrofil ve platelet engrafmanı ile CMV antijenemisi arasında da anlamlı ilişki bulunmakta olup geç engrafmanı olanlarda CMV pozitiflik oranı yüksektir ve CMV klinik enfeksiyonu sıklıkla bu olgularda görülmektedir.

7. KAYNAKLAR

- 1) Leung, A.Y. and Y.-L. Kwong, Haematopoietic stem cell transplantation: current concepts and novel therapeutic strategies. British medical bulletin, 2009: p. ldp04
- 2) Siminovitch L, McCulloch EA, Till JE. The Distribution of Colony-Forming Cells among Spleen Colonies. Journal of cellular physiology. 1963;62:327-36.
- 3) Akpek G, Allojenik Kök Hücre Nakli Kararı Öncesinde Değerlendirilmesi Gereken Hususlar THD, Hematolog 2011:1-1.
- 4) Ljungman, P., et al., Management of CMV infections: recommendations from the infectious diseases working party of the EBMT. Bone marrow transplantation, 2004. 33(11): p. 1075-81.
- 5) Zaia, J.A., Prevention and management of CMV-related problems after hematopoietic stem cell transplantation. Bone marrow transplantation, 2002. 29(8): p. 633-8.
- 6) Özdemir E, Allojeneik Kök Hücre Nakli Sırasında Sitomegalovirüs Enfeksiyonlarının Tanı Ve Tedavisindeki Gelişmeler THD, Hematolog 2011:1-1.
- 7) Tombuloğlu M, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Bilim Dalı, İzmir, Sitomegalovirus Tanı Ve Tedavisi 2011.
- 8) S.A. Ross*, Z. Novak, S. Pati, and S.B. Boppana Departments of Pediatrics and Microbiology, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, AL, USA Diagnosis of Cytomegalovirus Infections.
- 9) K Yakushiji, H Gondo, K Kamezaki, K Shigematsu, S Hayashi, M Kuroiwa, S Taniguchi, Y Ohno, K Takase, A Numata, K Aoki, K Kato, K Nagafuj, K Shimoda, T Okamura, N Kinukawa, N Kasuga, M Sata and M Harada. Monitoring of cytomegalovirus reactivation

after allogeneic stem cell transplantation: comparison of an antigenemia assay and quantitative real-time polymerase chain reaction.

10) Goodrich, J.M., et al., Ganciclovir prophylaxis to prevent cytomegalovirus disease after allogeneic marrow transplant. *Annals of internal medicine*, 1993. 118(3): p. 173-8.

11) Winston, D.J., et al., Randomized comparison of oral valacyclovir and intravenous ganciclovir for prevention of cytomegalovirus disease after allogeneic bone marrow transplantation. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 2003. 36(6): p. 749-58.

12) Wade, J.C., Viral infections in patients with hematological malignancies. *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology. American Society of Hematology. Education Program*, 2006: p. 368-74.

13) Weissman IL. Translating stem and progenitor cell biology to the clinic: barriers and opportunities. *Science*. 2000;287(5457):1442-6.

14) Scadden D.T Raaijmakers M. HGP Overview of stem cells (online). cited January 2015. 2014; Available from: URL: <http://www.uptodate.com/contents/overview-of-stem-cells>.

15) Morrison SJ, Kimble J. Asymmetric and symmetric stem-cell divisions in development and cancer. *Nature*. 2006;441(7097):1068-74.

16) S T. Rocheteau P, Le Roux I. Asymmetric cell divisions and asymmetric cell fates. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2009. 2009;25:671.

17) Vescovi A, Gritti A, Cossu G, Galli R. Neural stem cells: plasticity and their transdifferentiation potential. *Cells, tissues, organs*. 2002;171(1):64-76.

18) Dr. Leyla Batmaz, Doç. Dr. Zübeyde Nur Özkurt Allojenik Kök Hücre Nakli Vericilerinde Mobilizasyon Başarısına Etkili Olan Faktörlerin Araştırılması.

- 19) Ulloa-Montoya F, Verfaillie CM, Hu WS. Culture systems for pluripotent stem cells. *Journal of bioscience and bioengineering*. 2005;100(1):12-27.
- 20) ED T. A history of allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Thomas's Hematopoietic Cell Transplantation*. 4 ed 2008.
- 21) Kessinger A, Smith DM, Strandjord SE, Landmark JD, Dooley DC, Law P, et al. Allogeneic transplantation of blood-derived, T cell-depleted hemopoietic stem cells after myeloablative treatment in a patient with acute lymphoblastic leukemia. *Bone marrow transplantation*. 1989;4(6):643-6.
- 22) Ozsan G. Otolog Kök Hücre Transplantasyonun Hematolojik Malignansilerin Tedavisindeki Yeri 2011.
- 23) Julie M. Vose SZP. hematopoetik kök hücre transplantasyonu. *Cecil Medicine*. 2011.
- 24) Haining W. N DC LLE. Principles of bone marrow and stem cell transplantation. *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood* 7 th ed. 2009.
- 25) M. B. Donor Selection and Sources of Hematopoietic Cell Transplantation. *Haematologica*. 1996.
- 26) Esranur Akkaya, Kök Hücre Nakil Çeşitleri, *Bilim ve Tekno Dergisi*.
- 27) Goldman, L. and D. Ausiello, *Cecil medicine*. Vol. 702. 2008: Saunders Elsevier Philadelphia PA.
- 28) Aerts, E., et al., *Haematopoietic stem cell mobilisation and apheresis: a practical guide for nurses and other allied health care professionals*. Barcelona: European Group Blood and Marrow Transplantation–Nurses Group, 2012.
- 29) Hows J, Bradley BA, Gore S, et al. Prospective Evaluation of Unrelated Donor Bone Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1993;12:371-80.

- 30) Richard KB, Joachim D, Scott TL, George WS: Bone Marrow Transplantation; A Vademecum Series Book. Landes Bioscience (Chapter5) MHC and Bone Marrow Transplantation. 1998;131-48.
- 31) Kollman, C., et al., Donor characteristics as risk factors in recipients after transplantation of bone marrow from unrelated donors: the effect of donor age. *Blood*, 2001. 98(7): p. 2043-2051.
- 32) Confer, D.L. and J.P. Miller, Optimal donor selection: beyond HLA. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2007. 13: p. 83-86.
- 33) Rizzo JD, Wingard JR, Tichelli A, Lee SJ, Van Lint MT, Burns LJ, et al. Recommended screening and preventive practices for long-term survivors after hematopoietic cell transplantation: joint recommendations of the European Group for Blood and Marrow Transplantation, the Center for International Blood and Marrow Transplant Research, and the American Society of Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006;12:138-51.
- 34) Majhail NS, Rizzo JD, Lee SJ, Aljurf M, Atsuta Y, Bonfim C, et al. Recommended screening and preventive practices for long-term survivors after hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012;18:348-71.
- 35) Bhatia S, Francisco L, Carter A, Sun CL, Baker KS, Gurney JG, et al. Late mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation and functional status of long-term survivors: report from the Bone Marrow Transplant Survivor Study. *Blood* 2007;110:3784-92.
- 36) Olsson R, Remberger M, Schaffer M, Berggren DM, Svahn BM, Mattsson J, et al. Graft failure in the modern era of allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2013;48:537-43.

- 37) Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, Gress R, Sepkowitz K, Storek J, et al. Guidelines for preventing infectious complications among hematopoietic cell transplantation recipients: a global perspective. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15:1143-238.
- 38) Junghanss C, Marr KA, Carter RA, Sandmaier BM, Maris MB, Maloney DG, et al. Incidence and outcome of bacterial and fungal infections following nonmyeloablative compared with myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a matched control study. *Biol Blood Marrow Transplant* 2002;8:512-20.
- 39) Afessa B, Peters SG. Major complications following hematopoietic stem cell transplantation. *Semin Respir Crit Care Med* 2006;27:297-309.
- 40) Carreras E, Diaz-Ricart M. The role of the endothelium in the short-term complications of hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2011;46:1495-502.
- 41) Coppel JA, Richardson PG, Soiffer R, Martin PL, Kernan NA, Chen A, et al. Hepatic veno-occlusive disease following stem cell transplantation: incidence clinical course, and outcome. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010;16:157-68.
- 42) Mohty M, Malard F, Abecassis M, Aerts E, Alaskar AS, Aljurf M, et al. Revised diagnosis and severity criteria for sinusoidal obstruction syndrome/venoocclusive disease in adult patients: a new classification from the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2016;51:906-12.
- 43) Ho VT, Revta C, Richardson PG. Hepatic venoocclusive disease after hematopoietic stem cell transplantation: update on defibrotide and other current investigational therapies. *Bone Marrow Transplant* 2008;41:229-37.
- 44) Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ, et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005;11:945-56.

- 45) Martin PJ, Rizzo JD, Wingard JR, Ballen K, Curtin PT, Cutler C, et al. First- and second-line systemic treatment of acute graft-versus-host disease: recommendations of the American Society of Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012;18:1150.
- 46) Arora M, Nagaraj S, Witte J, DeFor TE, MacMillan M, Burns LJ, et al. New classification of chronic GVHD: added clarity from the consensus diagnoses. *Bone Marrow Transplant* 2009;43:149-53.
- 47) Socié G. Chronic GVHD: a new risk score *Blood* 2011;117:6408-9.
- 48) *Bone Marrow Transplant*. 2013 Apr;48(4):587-92. doi: 10.1038/bmt.2012.187. Epub 2012 Sep 24.
- 49) *Br J Haematol*. 1987 Dec;67(4):397-406. Risk factors for acute graft-versus-host disease. Gale RP(1), Bortin MM, van Bekkum DW, Biggs JC, Dicke KA, Gluckman E, Good RA, Hoffmann RG, Kay HE, Kersey JH, et al.
- 50) Flowers ME(1), Inamoto Y, Carpenter PA, Lee SJ, Kiem HP, Petersdorf EW, Pereira SE, Nash RA, Mielcarek M, Fero ML, Warren EH, Sanders JE, Storb RF, Appelbaum FR, Storer BE, Martin PJ.: Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria. *Blood*. 2011 Mar 17;117(11):3214-9. doi: 10.1182/blood-2010-08-302109. Epub 2011 Jan 24.
- 51) Kansu E: Stem Hücre Naklinden Sonra Görülen Graft-versus-Host Hastalığı :Türk Hematoloji Derneği Kan ve Kemik İliği Transplantasyonu Kursu.
- 52) Rowlings PA, Przepiorka D, Klein JP, Gale RP, Passweg JR, Henslee-Downey PJ, Cahn JY, Calderwood S, Gratwohl A, Socié G, Abecasis MM, Sobocinski KA, Zhang MJ, Horowitz MM : IBMTR Severity Index for grading acute graft-versus-host disease: retrospective comparison with Glucksberg grade. *Br J Haematol*. 1997;97(4):855.

- 53) Sun CL, Francisco L, Kawashima T, Leisenring W, Robison LL, Baker KS, et al. Prevalence and predictor of chronic health conditions after hematopoietic cell transplantation: a report from the Bone Marrow Transplant Survivor Study. *Blood* 2010;116:3129-39.
- 54) Majhail NS, Challa TR, Mulrooney DA, Baker KS, Burns LJ. Hypertension and diabetes mellitus in adult and pediatric survivors of allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15:1100-7.
- 55) Griffith ML, Savani BN, Boord JB. Dyslipidemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: evaluation and management. *Blood* 2010;116:1197-204.
- 56) Al-Hazzouri A, Cao Q, Burns LJ, Weisdorf DJ, Majhail NS. Similar risks for chronic kidney disease in long-term survivors of myeloablative and reduced-intensity allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008;14:658-63.
- 57) Baker KS, Gurney JG, Ness KK, Bhatia R, Forman SJ, Francisco L, et al. Late effects in survivors of chronic myeloid leukemia treated with hematopoietic cell transplantation: results from the Bone Marrow Transplant Survivor Study. *Blood* 2004;104:1898-906.
- 58) Gossman WG(1), Bhimji SS(2):Cytomegalovirus. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2018-.2017 Oct 22.
- 59) Landolfo S, Gariglio M, Griboudo G, Lembo D. The human cytomegalovirus. *Pharmacol Ther* 2003; 98: 269-297 [PMID: 12782241 DOI: 10.1016/S0163-7258(03)00034-2].
- 60) Minton K. Viral immunity: How CMV bypasses immune memory. *Nat Rev Immunol* 2010; 10: 288 [PMID: 20425915 DOI: 10.1038/nri2768].
- 61) Sissons JG, Carmichael AJ. Clinical aspects and management of cytomegalovirus infection. *J Infect* 2002; 44: 78-83 [PMID: 12076065 DOI: 10.1053/jinf.2001.0949].

- 62) Luo XH, Chang YJ, Huang XJ. Improving cytomegalovirus-specific T cell reconstitution after haploidentical stem cell transplantation. *J Immunol Res* 2014; 2014: 631951 [PMID: 24864269 DOI: 10.1155/2014/631951].
- 63) Zaia JA. Cytomegalovirus infections. In: Thomas ED, Blume KG, Forman SJ. Hematopoietic Cell Transplantation. Malden: Blackwell Science, 1998: 560-583.
- 64) Borchers AT, Perez R, Kaysen G, Ansari AA, Gershwin ME. Role of cytomegalovirus infection in allograft rejection: a review of possible mechanisms. *Transpl Immunol* 1999; 7: 75-82 [PMID: 10544437 DOI: 10.1016/S0966-3274(99)80023-9].
- 65) Pillay D, Webster A, Prentice HG, Griffiths PD. Risk factors for viral reactivation following bone marrow transplantation. *Ann Hematol* 1992; 64 Suppl: A148-A151 [PMID: 1322187].
- 66) Lin TS, Zahrieh D, Weller E, Alyea EP, Antin JH, Soiffer RJ. Risk factors for cytomegalovirus reactivation after CD6+ T-cell-depleted allogeneic bone marrow transplantation. *Transplantation* 2002; 74: 49-54 [PMID: 12134098].
- 67) Saavedra S, Jarque I, Sanz GF, Moscardó F, Jiménez C, Martín G, Plumé G, Regadera A, Martínez J, De La Rubia J, Acosta B, Pemán J, Pérez-Bellés C, Gobernado M, Sanz MA. Infectious complications in patients undergoing unrelated donor bone marrow transplantation: experience from a single institution. *Clin Microbiol Infect* 2002; 8: 725-733 [PMID: 12445010 DOI: 10.1046/j.1469-0691.2002.00458.x].
- 68) George B, Mathews V, Srivastava A, Chandy M. Infections among allogeneic bone marrow transplant recipients in India. *Bone Marrow Transplant* 2004; 33: 311-315 [PMID: 14647246 DOI:10.1038/sj.bmt.1704347].
- 69) La Rosa C, Diamond DJ. The immune response to human CMV. *Future Virol* 2012; 7: 279-293 [PMID: 23308079 DOI: 10.2217/fvl.12.8].

- 70) Aubert G, Hassan-Walker AF, Madrigal JA, Emery VC, Morte C, Grace S, Koh MB, Potter M, Prentice HG, Dodi IA, Travers PJ. Cytomegalovirus-specific cellular immune responses and viremia in recipients of allogeneic stem cell transplants. *J Infect Dis* 2001; 184: 955-963 [PMID: 11574909 DOI: 10.1086/323354].
- 71) Lu DP, Dong L, Wu T, Huang XJ, Zhang MJ, Han W, Chen H, Liu DH, Gao ZY, Chen YH, Xu LP, Zhang YC, Ren HY, Li D, Liu KY. Conditioning including antithymocyte globulin followed by unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and marrow transplantation can achieve comparable outcomes with HLA identical sibling transplantation. *Blood* 2006; 107: 3065-3073 [PMID: 16380454].
- 72) Cummins NW, Deziel PJ, Abraham RS, Razonable RR. Deficiency of cytomegalovirus (CMV)-specific CD8⁺ T cells in patients presenting with late-onset CMV disease several years after transplantation. *Transpl Infect Dis* 2009; 11: 20-27 [PMID: 18811629 DOI: 10.1111/j.1399-3062.2008.00344.x].
- 73) Ozdemir E, Saliba RM, Champlin RE, Couriel DR, Giralt SA, de Lima M, Khouri IF, Hosing C, Kornblau SM, Anderlini P, Shpall EJ, Qazilbash MH, Molldrem JJ, Chemaly RF, Komanduri KV. Risk factors associated with late cytomegalovirus reactivation after allogeneic stem cell transplantation for hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant* 2007; 40: 125-136 [PMID: 17530009 DOI: 10.1038/sj.bmt.1705699].
- 74) Vigil KJ, Adachi JA, Chemaly RF. Viral pneumonias in immunocompromised adult hosts *J Intensive Care Med* 2010; 25: 307-326 [PMID: 20837633 DOI: 10.1177/0885066610377969].
- 75) Boeckh M, Ljungman P. How we treat cytomegalovirus in hematopoietic cell transplant recipients. *Blood* 2009; 113: 5711-5719 [PMID: 19299333 DOI: 10.1182/blood-2008-10-143560].
- 76) Kotloff RM, Ahya VN, Crawford SW. Pulmonary complications of solid organ and hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 22-48 [PMID: 15070821 DOI: 10.1164/rccm.200309-1322SO].

- 77) Zhao XS, Liu DH, Xu LP, Chen H, Chen YH, Zhang XH, Han W, Wang Y, Liu KY, Huang XJ. [Clinical features of cytomegalovirus pneumonia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation]. *Beijing Da Xue Xue Bao* 2009; 41: 548-553[PMID: 19829672].
- 78) Van Burik JA, Lawatsch EJ, DeFor TE, Weisdorf DJ. Cytomegalovirus enteritis among hematopoietic stem cell transplant recipients. *Biol Blood Marrow Transplant* 2001; 7: 674-679 [PMID: 11787530 DOI: 10.1053/bbmt.2001.v7.pm11787530].
- 79) Torres HA, Kontoyiannis DP, Bodey GP, Adachi JA, Luna MA Tarrand JJ, Nogueras GM, Raad II, Chemaly RF. Gastrointestinal cytomegalovirus disease in patients with cancer: a two decade Bhat V et al . CMV in stem cell transplant WJT|www.wjgnet.com 291 December 24, 2015|Volume 5|Issue 4| experience in a tertiary care cancer center. *Eur J Cancer* 2005; 41: 2268-2279 [PMID: 16143517 DOI: 10.1016/j.ejca.2005.07.011].
- 80) Cello JP. AIDS-associated gastrointestinal disease. In: Sande M, Volberding P. The medical management of AIDS. Philadelphia: W. B. Saunders Co., 1990: 145-160.
- 81) Drew WL. Nonpulmonary manifestations of cytomegalovirus infection in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev* 1992; 5: 204-210 [PMID: 1315617 DOI: 10.1128/CMR.5.2.204].
- 82) Hawley DA, Schaefer JF, Schulz DM, Muller J. Cytomegalovirus encephalitis in acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Clin Pathol* 1983; 80: 874-877 [PMID: 6314804].
- 83) Wolf DG, Lurain NS, Zuckerman T, Hoffman R, Satinger J, Honigman A, Saleh N, Robert ES, Rowe JM, Kra-Oz Z. Emergence of late cytomegalovirus central nervous system disease in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Blood* 2003; 101: 463-465 [PMID: 12393485 DOI: 10.1182/blood-2002-07-1982].
- 84) Reddy SM, Winston DJ, Territo MC, Schiller GJ. CMV central nervous system disease in stem-cell transplant recipients: an increasing complication of drug-resistant CMV infection

and protracted immunodeficiency. *Bone Marrow Transplant* 2010; 45: 979-984 [PMID: 20190836 DOI: 10.1038/bmt.2010.35].

85) Boeckh M, Gooley TA, Myerson D, Cunningham T, Schoch G, Bowden RA. Cytomegalovirus pp65 antigenemia-guided early treatment with ganciclovir versus ganciclovir at engraftment after allogeneic marrow transplantation: a randomized double-blind study. *Blood* 1996; 88: 4063-4071 [PMID: 8916975].

86) Crippa F, Corey L, Chuang EL, Sale G, Boeckh M. Virological, clinical, and ophthalmologic features of cytomegalovirus retinitis after hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 214-219 [PMID: 11170910 DOI: 10.1086/318447]

87) Ljungman P, Griffiths P, Paya C. Definitions of cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 1094-1097 [PMID: 11914998 DOI: 10.1086/339329].

88) Preiser W, Bräuninger S, Schwerdtfeger R, Ayliffe U, Garson JA, Brink NS, Franck S, Doerr HW, Rabenau HF. Evaluation of diagnostic methods for the detection of cytomegalovirus in recipients of allogeneic stem cell transplants. *J Clin Virol* 2001; 20: 59-70 [PMID: 11163584 DOI: 10.1016/S1386-6532(00)00156-6].

89) Sanghavi SK, Abu-Elmagd K, Keightley MC, St George K, Lewandowski K, Boes SS, Bullotta A, Dare R, Lassak M, Husain S, Kwak EJ, Paterson DL, Rinaldo CR. Relationship of cytomegalovirus load assessed by real-time PCR to pp65 antigenemia in organ transplant recipients. *J Clin Virol* 2008; 42:335-342 [PMID: 18495527 DOI: 10.1016/j.jcv.2008.03.031].

90) Degré M, Kristiansen KI, Rollag H, Holter E, Nordal KP. Detection of human cytomegalovirus (HCMV) pp67-mRNA and pp65 antigenemia in relation to development of clinical HCMV disease in renal transplant recipients. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7: 254-260 [PMID: 11422252 DOI: 10.1046/j.1198-743x.2001.00251.x].

- 91) Preiser W, Elzinger B, Brink NS. Quantitative molecular virology in patient management. *J Clin Pathol* 2000; 53: 76-83 [PMID: 10767862 DOI: 10.1136/jcp.53.1.76].
- 92) Tanaka Y, Kanda Y, Kami M, Mori S, Hamaki T, Kusumi E, Miyakoshi S, Nannya Y, Chiba S, Arai Y, Mitani K, Hirai H, Mutou Y. Monitoring cytomegalovirus infection by antigenemia assay and two distinct plasma real-time PCR methods after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2002; 30: 315-319 [PMID: 12209354 DOI: 10.1038/sj.bmt.1703661].
- 93) JA, Brink NS, Franck S, Doerr HW, Rabenau HF. Evaluation of diagnostic methods for the detection of cytomegalovirus in recipients of allogeneic stem cell transplants. *J Clin Virol* 2001; 20: 59-70 [PMID: 11163584 DOI: 10.1016/S1386-6532(00)00156-6].
- 94) Sissons JGP, Bain M, Wills MR, Sinclair JH. Latency and reactivation of human cytomegalovirus. *J Infection* 2002; 44: 73–77.
- 95) Hodinka, R.L., (2007). Human Cytomegalovirus. In: Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgense, J.H., Landy, M.L., Pfaller, M.A., (eds). *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. ASM Press: Washington DC, pp: 1549-1563.
- 96) Sissons JGP, Bain M, Wills MR, Sinclair JH. Latency and reactivation of human cytomegalovirus. *J Infection* 2002; 44: 73–77.
- 97) Hodinka, R.L., (2007). Human Cytomegalovirus. In: Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgense, J.H., Landy, M.L., Pfaller, M.A., (eds). *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. ASM Press: Washington DC, pp: 1549-1563.
- 98) Quamruddin AO, Oppenheim BA, Guiver M et al. Screening for cytomegalovirus (CMV) infection in allogeneic bone marrow transplantation using a quantitative whole blood polymerase chain reaction (PCR) method: analysis of potential risk factors for CMV infection. *Bone Marrow Transplant* 2001; 27: 301–306.

- 99) Einsele H, Hebart H, Kauffmann-Schneider C et al. Risk factors for treatment failures in patients receiving PCR-based preemptive therapy for CMV infection. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25: 757–763.
- 100) M.Boeckh,W.Leisenring,S.R Riddell et all .Late cytomegalovirus disease and mortality in recipients of allogeneic transplants:Importance of viral load and T cell immunity. *Blood* 2003; 101,407-414.
- 101) G. P. Schechter, V. C. Broudy, M. E. Williams (editors). *American Society of Hematology Education Program Book*. Orlando, Florida, ABD, 2001.
- 102) A Schulenburg ¹, T Watkins-Riedel ², HT Greinix ¹, W Rabitsch ¹, H Loidolt ¹, F Keil ¹ M Mitterbauer ¹ and P Kalhs, CMV monitoring after peripheral blood stem cell and bone marrow transplantation by pp65 antigen and quantitative PCR.
- 103) Einsele H, Ehninger G, Steidle M et al. Lymphocytopenia as an unfavourable prognostic factor in patients with cytomegalovirus infection after bone marrow transplantation. *Blood* 1993; 82: 1672–1678.
- 104) Gokahmetoglu, S., Kaynar, L., Altuntas, F., Yildiz, O., Cetin, M., and Kocyigit, I., (2008). Detection and quantification of cytomegalovirus in bone marrow transplant recipients by real time PCR and pp65 antigenemia. *Saudi Med J*, 29(11), pp: 1673– 1675.
- 105) Ghaffari, S.H., Obeidi, N., Dehghan, M., Alimoghaddam, K., Gharehbaghian, A., and Ghavamzadeh, A., (2008). Monitoring of cytomegalovirus reactivation in bone marrow transplant recipients by real-time PCR. *Pathol Oncol Res*, 14(4), pp: 399– 409.
- 106) E Özkarataş, Öa Özbek, Va Oğuz, Aa Sayiner, Solid Organ Nakli Alıcılarında CMV Antijenemi Testi ve CMV-DNA PCR Sonuçlarının Karşılaştırılması, *Mikrobiyol Bul* 50 (1), 44-52.

- 107) Çolak D, Kazık M, Mutlu D, Uygun V, Karagül A, Hazar V. Assessment Of Cytomegalovirus Load In Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients By Cmv Antigenemia And Two Different Real-Time Pcr Assays Akdeniz University, School Of Medicine, Antalya.
- 108) Breda G, Almeida B, Carstensen S, Bonfim CM, Nogueira M, Vidal LR, Almeida SM, Raboni SM. Human cytomegalovirus detection by real-time PCR and pp65-antigen test in hematopoietic stem cell transplant recipients: a challenge in low and middle-income countries.
- 109) Marty FM, Ljungman P, Chemaly RF, Maertens J, Dadwal SS, Duarte RF, Haider S, Ullmann AJ, Katayama Y, Brown J, Mullane KM, Boeckh M, Blumberg EA, Einsele H, Snyderman DR, Kanda Y, DiNubile MJ, Teal VL, Wan H, Murata Y, Kartsonis NA, Leavitt RY, Badshah C. Letermovir Prophylaxis for Cytomegalovirus in Hematopoietic-Cell Transplantation. *NEJM* 2017 Dec 21;377(25):2433-2444. doi: 10.1056/NEJMoa1706640. Epub 2017 Dec 6. PubMed PMID: 29211658.