

# Allojenik Kök Hücre Nakli Sonrası Nötropenik Dönem Takibinde Granülosit İnfüzyonunun Yeri

## The Role of Granulocyte Infusion on the Follow-up of Neutropenic Period After Allogeneic Stem Cell Transplantation

Nermin KENİ BEGENDİ<sup>1</sup>, Ali ÜNAL<sup>1</sup>, Leylağül KAYNAR<sup>1</sup>, Bülent ESER<sup>1</sup>, Ayşe BİREKUL<sup>1</sup>,  
Zeynep GÜVEN<sup>1</sup>, Yavuz KÖKER<sup>2</sup>, Mustafa ÇETİN<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Bilim Dalı, Kayseri, Türkiye

<sup>2</sup> Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Bilim Dalı, Kayseri, Türkiye

### ÖZET

**Amaç:** Hematopoetik kök hücre nakli sonrası nötropenik dönemde, koruyucu tedavi yaklaşımlarına rağmen infeksiyöz komplikasyonlar günümüzde oldukça sık görülmektedir. Çalışmamızda, nötropenik süreçte ateş ve infeksiyonların tedavisi için başlanan antibiyotiklere yeterli yanıt alınamayan, nötropenisi devam eden hastalarda granülosit infüzyonunun tedaviye ve nötrofil engraftmanına olan katkısı irdelenmiştir.

**Hastalar ve Yöntem:** Klinik pratiğimizde Ocak 2016-Şubat 2017 tarihleri arasında kemik iliği nakil merkezimizde allojenik kök hücre nakli yapılan 55 hastanın beşinde, nötropeni sürecinde gelişen nötropenik ateş tablosunda granülosit infüzyonu uygulanmıştır. Hastaların ikisi AML, üçü B-ALL tanılı idi. Granülosit ürünü; nötropeniye, beş günden fazla süren ateş varlığı ve ciddi sepsiseminin eşlik ettiği hastalarda, uygun donörlerden standart hazırlama protokolü ile toplanıp verilmiştir. Granülosit infüzyonu; klinik ve laboratuvar parametrelerde düzelmeye (nötrofil > 0.5 x 10<sup>3</sup>/µL) görülene kadar günde bir kez verilmiştir.

**Bulgular:** Granülosit infüzyonunun yaklaşık üçüncü gününde nötropenin düzeldiği ve ateş tablosunun gerilediği gözlenmiştir. Hastaların takibinde nötrofil engraftmanı sağlanan üç hasta da engraftmanın 14, 19 ve 22. günlerde elde edildiği gözlenmiştir.

**Sonuç:** Kök hücre nakli sonrası takiplerde nötropenik dönemde granülosit infüzyonu uygulamasının etkinliğinin belirlenmesi ve engraftmanın sağlanmasına yönelik katkısının irdelenmesi için geniş hasta popülasyonunun dahil edileceği çalışmaların yapılması gerekir.

**Anahtar Sözcükler:** Allojenik kök hücre nakli; Nötropenik ateş; Granülosit infüzyonu; Nötrofil engraftmanı

### ABSTRACT

**Objective:** Determination of the efficacy of granulocyte infusion in neutropenic period after stem cell transplantation and evaluation of contribution to provide neutrophil engraftment.

**Patients and Methods:** In our bone marrow transplantation center granulocyte infusion was administered for neutropenic fever treatment during neutropenic period in 5 of 55 patients who underwent Allogeneic Stem Cell Transplantation (ASCT) from January 2016 to February 2017. Granulocyte products were collected and donated with appropriate preparation protocols from appropriate donors. Granulocyte infusion was given to patients with septicemia accompanied by neutropenic fever and/or refractory fever exceeding five days. Granulocyte products were given once daily until clinical and laboratory parameters improved (neutrophil > 0.5 x 10<sup>3</sup>/µL).

### Yazışma Adresi

Uzm. Dr. Nermin KENİ BEGENDİ

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dedeman  
Hematoloji Onkoloji Binası, Melikgazi,  
Kayseri-Türkiye

Geliş: 12.02.2018 - Kabul: 12.06.2018

E-posta: nermin.keni@gmail.com

**Results:** On the third day of granulocyte infusion, neutropenia and fever clinic were resolved. Neutrophil engraftment in three of patients treated with granulocyte infusion was observed on days 14, 19 and 22. A neutrophil engraftment failure was observed in a patient with B-ALL who underwent haploidentical ASCT. Neutrophil engraftment was not achieved in the other patient with B-ALL, and died on the 47<sup>th</sup> day of transplantation due to bacterial septicemia.

**Conclusion:** In order to determine the effect of granulocyte infusion in the neutropenic period after stem cell transplantation and to assess the contribution to the engraftment, studies should be undertaken including large patient population.

**Key Words:** Allogeneic stem cell transplant; Neutropenic fever; Granulocyte infusion; Neutrophil engraftment

## GİRİŞ

Hematopoetik kök hücre naklinde son yıllarda destekleyici bakım önlemlerinde sağlanan gelişmeler, immünsüpresyon mekanizmalarının daha iyi anlaşılması, düşük yoğunluklu rejimlerin kullanıma girmesi, profilakside yeni ilaçların kullanılması ile nakile bağlı morbidite ve mortalitede azalma gözlenmiştir (1).

Kök hücre nakli sonrası nütropeni süresinin uzaması enfeksiyon ve nütropenik ateş ile komplikasyon risklerini artırır (2). Nütropenik ateş yönetimi; mortalitenin en sık nedeninin enfeksiyonlar ve septisemi olduğu bu hasta grubunda oldukça önemlidir (3). Klinik ve laboratuvar olarak hızla yanıt almamız gereken nütropenik ateş tedavisine antibiyotiklere ilave olarak granülosit infüzyon tedavisinin eklenmesi nütropeniden çıkışı hızlandırır (4).

Granülosit infüzyonunun nütropenik hastalarda enfeksiyonlara karşı koruyucu olarak verilmesinin enfeksiyon ilişkili mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir (5). Allojenik kök hücre nakli (AKHN) sonrası gelişen nütropenik ateş yönetiminde granülosit infüzyonunun septisemi kontrolü ve mortalite üzerindeki etkinliği net olmamakla birlikte, nütropenin ve ateşin düzeldiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Granülosit infüzyonunun engraftmana katkısının, nakil protokolündeki medikasyonlara additif etkisinin olup olmadığı ileri çalışmalarla teyit edilip netleştirilebilir.

## HASTALAR ve YÖNTEM

Kemik iliği nakil ünitemizde Ocak 2016-Şubat 2017 tarihleri arasında AKHN yapılan 55 hastadan beşinin takibinde, nütropenik dönemde gelişen nütropenik ateş tablosunun ciddi septisemiye ilerlemesi nedeniyle granülosit verilmesi planlandı ve granülosit ürünleri uygun donörlerden belirli hazırlama protokolleriyle toplanıp verildi.

Hastaların ikisi AML tanılı olup birisine tam uyumlu vericiden, diğerine 7/10 uyumlu anneden; üçü B-ALL tanılı olup ikisine haploidentik, diğerine tam uyumlu vericiden nakil yapıldı. Hastalarımızda tercih edilen nakil protokolleri miyeloablantif rejimlerden oluşmaktaydı.

Granülosit infüzyon desteği; nütropenik ateş kliniğine septiseminin eşlik ettiği ve/veya dirençli ateş yükseklik-

rinin beş günden fazla sürdüğü hastalarda uygun görülüp verildi. Granülosit ürünleri, klinik ve laboratuvar parametrelerde düzelme (nötrofil  $> 0.5 \times 10^3/\mu\text{L}$ ) görülene kadar günde bir kez verildi.

Granülosit ürünleri, aynı kan grubundan olan ve kan bağıışı için herhangi bir kontrendikasyonu olmayan sağlıklı donörlerden elde edildi. Donörlere, rutin hazırlama protokolümüzde olduğu gibi toplama işleminden 12 saat önce 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  G-CSF ve deksametazon 8 mg 1 x 1 dozlarında uygulandı. Toplama işlemi için sürekli akım yöntemi ile çalışan Spectra Optia cihazı kullanıldı. Toplanan 14 adet ürünün ortalama hacmi 459 mL olup, içerdikleri asit-sitrat (ACD) miktarı ortalama 50 mL olarak tespit edildi. Hastalara ortalama  $4.4 \times 10^{10}$  polimorfonükleer lökosit (PMNL) hücre verildi. Granülositler saatler içinde parçalanıp elimine oldukları için ürünlerin toplandıktan sonra uyumluluk testi (cross-match) ve ışınlama işlemleri hızlıca tamamlanıp 1-2 saat içinde hastalara ulaştırılması sağlandı.

Granülosit infüzyon tedavisi; iki hastada ikinci günde, iki hastada üçüncü günde, bir hastada dördüncü günde nötrofil sayısı  $> 0.5 \times 10^3/\mu\text{L}$  saptanıp, klinik olarak ateş yanıtı da elde edilince sonlandırıldı.

## İstatistiksel Analiz

Verilerin normal dağılıma uygunluğu histogram, q-q grafikleri ve Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Tekrarlı ölçümlerin karşılaştırmasında Friedman testi kullanıldı. Diğer nicel verilerin karşılaştırmasında Kruskal Wallis testi kullanıldı. Verilerin analizi R.3.4.1 ([www.r-project.org](http://www.r-project.org)) programı ile yapıldı. Anlamlılık düzeyi  $p < 0.05$  olarak kabul edildi.

## BULGULAR

Hastaların ikisi erkek, üçü kadın olup, medyan yaş 52 yıl idi. Granülosit infüzyonu uygulanan hastaların üçünde nötrofil engraftmanı 14, 19 ve 22. günlerde izlenmiştir. Diğer iki hastada haploidentik nakil sonrası nötrofil engraftmanı açısından başarısızlık gözlenmiştir. Engraftman başarısızlığı görülen iki hastadan 55 yaşındaki kadın bakteriyel sepsis tablosu düzeldikten sonra taburcu edilirken, 39 yaşındaki erkek hasta AKHN + 47. günde bakteriyel sep-

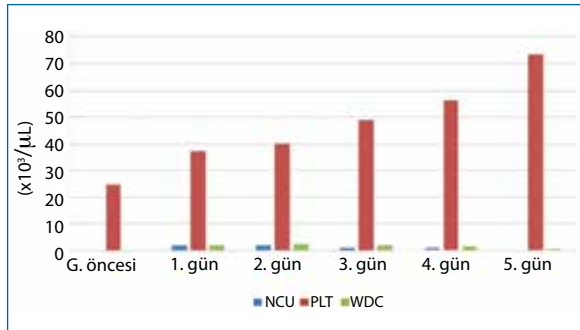
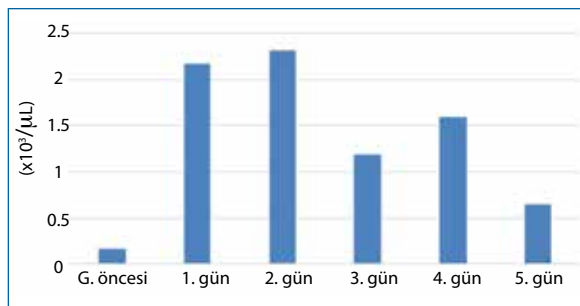
**Tablo 1. Hastaların temel karakteristik özellikleri**

Demografik özellikler						
Hastalar	Yaş	Cinsiyet	Tanı	Kök hücre kaynağı	HLA uyumu	Nakil rejimi
1	52	K	B-ALL	Periferik	Tam uyumlu	Siklofosamid + TBI
2	55	E	AML	Periferik	Tam uyumlu	Busulfan + siklofosamid
3	55	K	B-ALL	Periferik	Haploidentik	Fludara + ATG + Thiotepa + siklofosamid
4	39	E	B-ALL	Periferik	Haploidentik	Fludara + ATG + Thiotepa + Melfalan
5	30	E	AML	Periferik	Haploidentik	Fludara + ATG + Thiotepa + Melfalan

**Tablo 2. Granülosit infüzyonu ile hemogram parametrelerinde izlenen değişiklikler**

Değişkenler	Granülosit öncesi (n= 5)	Birinci gün (n= 5)	İkinci gün (n= 5)	Üçüncü gün (n= 5)	Dördüncü gün (n= 5)	p
NEU ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	0.02 (0.01-0.39) <sup>a</sup>	0.56 (0.10-5.05) <sup>ab</sup>	0.68 (0.06-5.41) <sup>ab</sup>	0.56 (0.25-2.44) <sup>ab</sup>	1.02 (0.52-18.62) <sup>b</sup>	<b>0.040</b>
PLT ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	21.0 (14.5-37.0) <sup>a</sup>	26.0 (21.5-58.0) <sup>ab</sup>	33.0 (27.5-57.0) <sup>ab</sup>	53.0 (27.5-68.0) <sup>ab</sup>	57.0 (49.0-69.5) <sup>b</sup>	<b>0.021</b>
WBC ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	0.11 (0.04-0.66)	0.71 (0.13-5.45)	0.77 (0.15-6.12)	0.74 (0.37-5.01)	2.70 (1.01-3.75)	0.111

Veriler ortanca (birinci çeyrek-üçüncü çeyrek) olarak ifade edilmiştir. Aynı satırda yer alan benzer harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler gruplar arası farklılığı ifade etmektedir.

**Şekil 1.** Granülosit infüzyonu uygulanan hastaların ortalama hemogram verileri.**Şekil 2.** Granülosit infüzyonu uygulanan hastaların ortalama nötrofil değerleri.

tisemi nedeniyle kaybedilmiştir. Granülosit ürünü verilen hastaların karakteristikleri Tablo 1'de belirtilmiştir.

İstatistiksel analizde nötrofil sayısının granülosit infüzyonu öncesi değer ile karşılaştırıldığında; birinci, ikinci ve üçüncü günlerde benzer şekilde arttığı ancak istatistiksel anlamlı düzeyde olmadığı, dördüncü gündeki artışın ise diğer günlerdekinden daha az olmakla birlikte istatistiksel anlamlı düzeyde olduğu gözlenmiştir ( $p < 0.05$ ) (Tablo 2).

Trombosit sayısı; granülosit desteğinin ilk gününden başlayarak giderek artış göstermiş olup dördüncü günde istatistiksel anlamlı farklılık oluşturacak düzeye ulaşmıştır. Hastaların lökosit, nötrofil ve trombosit sayılarında gözlenen değişim Şekil 1, 2 ve 3'te verilmiştir.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Nötropenik hasta yönetimi, özellikle kök hücre nakli sürecinde oldukça önemli olup, multidisipliner yaklaşım gerektirir. Enfeksiyonlar, günümüzde kemoterapi sonrası ve hematopoetik kök hücre nakli sonrası gelişen nötropenik dönemde morbidite ve mortalitenin en önemli nedeni olmaya devam etmektedir (3). Nötropenik dönemde enfeksiyon varlığında uygun ve etkili antibiyotik seçimi, nötropenin düzeltilmesi ve gerekli tıbbi desteğin hızla yapılması önemlidir. Antibiyotik tedavisine granülosit infüzyonunun eklenmesi nötropenin düzelmesini sağlayarak enfeksiyonun düzelmesine katkıda bulunabilir (4).

Donör granülosit infüzyonu ile hastaya yeterli sayı ve fonksiyonu olan PMNL verilir. Günümüzde toplama yöntemlerindeki gelişmeler neticesinde oldukça yüksek dozda granülosit konsantrasi toplanabilmekle birlikte, granülosit desteğinin terapötik etkinliği henüz netleştirilmemiştir. Bu alanda ilk klinik araştırma ve uygulamalar 1970'li yıllarda başlamış olup, granülosit infüzyonu ile enfeksiyonu olan nötropenik hastalarda klinik düzelme görüldüğü rapor edilmiştir (6). Yapılan randomize kontrollü çalışmalarda granülosit infüzyonunun enfeksiyon ilişkili mortalite ve hastalık prognozuna olumlu katkısı gösterilmiştir (6).

Rehberlerde granülosit infüzyonu amacıyla elde edilen granülosit konsantrasyonlarının minimum  $1 \times 10^{10}$  PMNL içermesi önerilmektedir (7). Hematopoetik büyüme faktörleri dolaşımdaki PMNL sayısını artırarak daha fazla miktarda ürün elde edilmesine katkı sağlar. Büyüme faktörlerinin etkinliği steroidlerden daha fazladır; fazla miktarda PMNL toplamak için işlemden 8-12 saat önce vericiye G-CSF veya steroid verilmesi önerilir (8,9). G-CSF; GM-CSF'den daha az toksik olduğu için tercih edilmektedir (10).

Büyüme faktörleri dolaşımdaki nötrofil sayısını artırmakla birlikte nötrofillerin mikrobisidal etkilerini de artırır, böylece enfeksiyöz ajanlara karşı daha etkili olmalarını sağlar (11,12).

AKHN yapılan hastalarda nakil sonrası nötropenik süreçte verilen granülosit infüzyon tedavisiyle diğer nötropenik hastalarda uygulanan granülosit infüzyonuna kıyasla, HLA-1 antijenlerine karşı oluşan antikörelere bağlı alloimmünizasyon oranı anlamlı düzeyde düşük bulunmuş; bu durum nakil sürecinde verilen immünsüpresiflere bağlanmıştır (13).

Hastalarımızın hepsinde septiseminin eşlik ettiği nötropenik ateş tablosu mevcuttu. Diğer tedavilere yeterli yanıt elde edilememesi nedeniyle başlanan granülosit infüzyonunun yaklaşık üçüncü gününde nötropeninin düzeldiği ve ateş tablosunun gerilediği gözlemlendi. Nötrofil sayısının granülosit desteği ile istatistiksel anlamlı olmakla birlikte giderek artış gösterdiği, infüzyonun dördüncü günündeki artışın ise diğer günlerdeki kadar fazla olmasa da istatistiksel anlamlı bulunması, hasta sayısının optimal analiz için yeterli olmamasına bağlandı. Hastalarda granülosit infüzyonu verilen günlerde izlenen trombosit sayılarındaki artış; AKHN tedavisine olumlu yanıt alındığı yönünde yorumlandı.

Klinik deneyimimizde; AKHN yapılan hastaların takibinde nötropenik ateş döneminde uyguladığımız granülosit infüzyon tedavisinin mevcut tabloyu düzeltmenin yanında nötrofil engraftmanına da katkı sağladığını gözlemledik (14). Hastaların takibinde nötropeni süresinin

kısa sürdüğü, ayrıca nötrofil engraftmanının ateş ve sepsis komplikasyonlarının yaşanmasına rağmen optimal sürelerde sağlandığı, bunlardan haploidentik AKHN yapılan bir hastamızda ise 14 gün gibi daha erken gözlemlendiği tespit edildi.

Kök hücre nakli yapılan hastalarda nötropenik dönemde granülosit infüzyonunun kullanım endikasyonlarını ve etkinliğini belirlemek için geniş hasta popülasyonu ile randomize kontrollü çalışmaların yapılması uygundur.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarların çıkar çatışması bulunmamaktadır.

## MALİ AÇIKLAMA

Çalışma için doğrudan veya dolaylı mali destek alınmadı. Çalışma ile ilgili herhangi bir firma veya kişi ile ilgili ticari bağlantı yoktur.

## YAZAR KATKISI

Verilerin toplanması: NKB, AB; Literatür desteği: AÜ, LK, MÇ; Aferez işlemi desteği: AB, YK, LK; Verilerin analizi ve yazımı: NKB.

## KAYNAKLAR

1. Gratwohl A, Brand R, Frassonni F, Rocha V, Niederwieser D, Reusser P, et al. Cause of death after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in early leukaemias: an EBMT analysis of lethal infections complications and changes over calendar time. *Bone Marrow Transplant* 2005;36:757-69.
2. Pizzo PA. Management of fever in patients with cancer and treatment-induced neutropenia. *N Engl J Med* 1993;328:1323.
3. Koh AY, Pizzo PA. Infectious complications in pediatric cancer patients. *Principles and Practice of Pediatric Oncology*. 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott, Williams&Wilkins, 2010:1190-242.
4. Goldfinger D. Granulocyte transfusions [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com) April 25, 2016.
5. Massey E, Paulus U, Doree C, Stanworth S. Granulocyte transfusions for preventing infections in patients with neutropenia or neutrophil dysfunction. *Cochrane Database Syst Rev* January 2009.
6. Straus RG. Granulocyte transfusion therapy. *Hematol Oncol Clin North Am* 1994;8:1159-66.
7. Engelfriet CO, Reesink HW. Granulocyte transfusions. *Vox Sang* 2000;79:59-96.
8. Bishton M, Chopra R. The role of granulocyte transfusions in neutropenic patients. *Br J Haematol* 2004;127:501-8.
9. Nervios AB, Greer M, Sharma S, Armand R, Beery D, Lichtiger B. Normal volunteer granulocyte donors: a long-term follow up study. *Current Issues in Transfusion Medicine* 2005;13:1-4.
10. Miller LL. Current status of G-CSF in support of chemotherapy and radiotherapy. *Oncology* 1993;7:67-78.
11. Roilides E, Walsh TJ, Pizzo PA, Rubin M. Granulocyte colony-stimulating factor enhances the phagocytic and bactericidal

- activity of normal and defective human neutrophils. *J Infect Dis* 1991;163:579-83.
12. Drewniak A, vanRaam BJ, Geissler J, Tool AT, Mook OR, van den Berg TK, et al. Changes in gene expression of granulocytes during in vivo granulocyte colony-stimulating factor/dexamethasone mobilization for transfusion purposes. *Blood* 2009;113:5979-98.
  13. Dale DC, Liles WC. Return of granulocyte transfusions. *Curr Opin Pediatr* 2000;12:18-22.
  14. Unal A. Successful treatment with granulocyte transfusion and early neutrophil engraftment in allogeneic transplant patients with febrile neutropenia does granulocyte transfusion effect on neutrophil engraftment? 22<sup>nd</sup> APBMT October 2017, Tehran.