گزارش اثربخشی پیوند سلول‌های بنیادی غیر ریشه کن کننده همراه با انفوزیون لنفوسیت دهنده به‌عنوان یک درمان انتخابی در بیماران مبتلا به بتا تالاسمی ماژور نوع ۳

محمد مهدی ادیب سرشکی [۱*]، بابک بهار [۳]، اردشیر قوام زاده [۲]، کامران علی‌مقدم [۳]، مسعود ایروانی [۳]

خلاصه

سابقه و هدف: تنها درمان شفابخش جهت مبتلایان به بیماری بتاتالاسمی ماژور پیوند مغز استخوان آلوژنیک می‌باشد که در بیماران نوع ۳ با عوارض و مرگ و میر قابل توجهی همراه است. باتوجه به گزارشات موردی از موفقیت پیوند غیرریشه‌کن کننده در مبتلایان به بتاتالاسمی ماژور، اثربخشی این روش همراه با رژیم آماده‌سازی پیوند با سمیت کمتر در درمان مبتلایان به بتاتالاسمی نوع ۳ بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آینده‌نگر که طی سال‌های ۱۳۸۰ تا ۱۳۸۲ در مرکز پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی تهران صورت گرفت تعداد ۱۳ نفر از بیماران مبتلا به بتاتالاسمی نوع ۳ تحت پیوند سلول‌های بنیادی خون محیطی و مغز استخوان از دهنده خواهر یا برادر قرار گرفتند. رژیم آماده سازی غیر ریشه‌کن کننده شامل فلودارابین به مدت پنج روز، بوسولفان به مدت دو روز و گلوبولین آنتی‌تیموسیت برای چهار روز بود. رژیم پروفیلاکسی جهت واکنش پیوند علیه میزبان بعد از پیوند شامل سیکلوسپورین و متوتروکسات بود و بیماران در صورت افت کیمریسم دهنده تحت درمان با انفوزیون لنفوسیت دهنده (DLI) قرار می‌گرفتند.

نتایج: رژیم آماده سازی پیوند به‌خوبی و بدون سمیت قابل توجه بر روی سیستم‌های هماتولوژیک و گوارشی و ریوی تحمل شد. پنج نفر از بیماران (۳۸/٤٦ درصد) واکنش پیوند علیه میزبان حاد و ۲ نفر (۱۵/۳۸ درصد) واکنش پیوند علیه میزبان مزمن داشتند. دو نفر نیز پس از پیوند فوت نمودند. پس از ۵ سال پیگیری، دو نفر سوروایوال عاری از بیماری تالاسمی داشتند.

نتیجه‌گیری: روش پیوند سلول‌های بنیادی آلوژنیک غیرریشه‌کن کننده می‌تواند به‌عنوان یک روش درمانی با عوارض کم برای مبتلایان به بتاتالاسمی نوع ۳ به کار گرفته شود.

واژگان کلیدی: بتاتالاسمی ماژور، پیوند سلول‌های بنیادی، انفوزیون لنفوسیت دهنده

فصلنامه علمی ـ پژوهشی فیض، دوره چهاردهم، شماره ٤، زمستان ۱۳۸۹، صفحات ٤٦۱-٤٥۳

مقدمه

تالاسمی شایع‌ترین اختلال ژنتیکی در سطح دنیا است و وقوع آن به‌خصوص در نواحی موسوم به کمربند تالاسمی (Thalassemia belt) که ایران جزیی از آن می‌باشد، بسیار شایع است. وقوع بالای آن در این مناطق موجب بروز خسارات جبران ناپذیر مادی و معنوی و صرف قسمت عمده‌ای از هزینه‌های بهداشتی و درمانی در این نواحی جهت درمان این بیماری و عوارض کوتاه مدت و طولانی مدت آن گردیده است [۱]. در حال حاضر تنها راه درمان اساسی این بیماری پیوند مغز استخوان آلوژنیک می‌باشد و هرچند بیش از ۲۰ سال از پیگیری اولین بیمارانی که تحت این نوع درمان قرار گرفته‌اند می‌گذرد نتایج این نوع درمان بسیار چشمگیر بوده است؛ به‌طوری که در کودکانی که به‌صورت زودرس تحت این درمان قرار گرفته‌اند سوروایوال عاری از بیماری به‌حدود ۹۰ تا ۹۳ درصد می‌رسد [۲]. از طرفی در موارد پیشرفته یا تیپ ۳ بیماری یعنی مواردی که بیمار شلاتور کافی جهت برداشت آهن اضافی متعاقب ترانسفوزیون‌های مکرر خون دریافت نکرده و به مرور زمان بزرگی و فیبروز کبدی رخ داده است، انجام روش‌های معمول پیوند مغز استخوان متکی بر رژیم‌های آماده سازی با سمیت بالا (Toxic high dose conditioning therapy) با مخاطرات و مرگ و میر بالایی برای بیمار همراه است [٤،۳]. مطالعات بالینی متعددی نشان داده‌اند که در این بیماران برای حصول موفقیت در امر پیوند مغز استخوان می‌توان از شدت سیتوتوکسیسیتی رژیم‌های آماده‌سازی به‌منظور ریشه‌کن کردن کامل سلول‌های غیرطبیعی میزبان کاست و با استفاده از داروهایی با خاصیت تضعیف ایمنی بیشتر و سیتوتوکسیسیتی کمتر ایجاد حالت کیمریسم مختلط (Mixed chimerism) یا کامل، و بهبودی بیماری تالاسمی نمود [٦،٥]. بنابراین، به‌نظر می‌رسد در حال حاضر پیوند مغز استخوان به روش فوق، یعنی پیوند سلول‌های بنیادی غیر ریشه‌کن‌کننده (Non myeloablative stem cell transplantation) تنها راه نجات

[۱] استادیار، گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

[۲] استاد، مرکز تحقیقات خون و پیوند مغز استخوان بیمارستان دکتر شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

[۳] استادیار، مرکز تحقیقات خون و پیوند مغز استخوان بیمارستان دکتر شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

* **نشانی نویسنده مسوول:** کاشان، بلوار قطب راوندی، بیمارستان شهید بهشتی

تلفن: ۰۹۱۲ ۱۱۱٦۹۷۰ **دورنویس:** ۰۳٦۱ ٥٥٥٨۹۰۰

پست الکترونیک: dr_adibs@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۹/۱/۲٦ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۸۹/٦/۲۷

Archive

www.SID.ir

کم عارضه بیماران دچار بتاتالاسمی مراحل پیشرفته بیماری باشد و گزارشاتی در مورد موفقیت این نوع پیوند در درمان بیماران مبتلا به تالاسمی نیز وجود دارد [۷]. یکی از مسائلی که موفقیت این نوع پیوند را تهدید می‌کند بازگشت کلون سلول‌های تالاسمیک میزبان در مغز استخوان است؛ بدین معنی که فرآیند کیمریسم مختلط به نفع سلول‌های تالاسمیک میزبان به‌پیش برود. یکی از تمهیداتی که می‌تواند بالقوه باعث پسرفت رشد این سلول‌ها شود و اثربخشی آن در بسیاری از موارد کیمریسم مختلط بعد از بیماری‌های بدخیم هماتولوژیک به اثبات رسیده است، تزریق لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک از همان فرد دهنده Donor lymphocyte infusion (DLI) است [۸]. از تمهیدات مهم دیگر کاهش میزان مصرف و قطع سریع‌تر داروهایی است که به منظور کاهش بروز واکنش پیوند علیه میزبان (graft versus host disease; GVHD) بعد از پیوند سلول‌های بنیادی هماتوپوئتیک به‌کار می‌روند [۹،۷]. در این مطالعه میزان اثربخشی و عوارض بالقوه روش درمانی Nonmyeloablative stem cell transplantation و در صورت نیاز انجام DLI بعدی در مورد بیماران مبتلا به بتا تالاسمی تیپ ۳ که نسبت قابل توجهی از بیماران مبتلا به بتاتالاسمی در کشورهای در حال توسعه نظیر کشور ما را تشکیل می‌دهند مورد بررسی قرار می‌گیرد؛ به امید اینکه کاربرد موفقیت‌آمیز این روش درمانی و اصلاحات بعدی آن بتواند این بیماران را به زندگی عادی شخصی، اجتماعی و شغلی خود به دور از آثار بیماری و عوارض شدید ناشی از درمان باز گرداند.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه که یک کار آزمایی بالینی آینده‌نگر و از نوع نیمه تجربی است تعداد ۱۳ بیمار مبتلا به بتاتالاسمی تیپ ۳ که در طی سال‌های ۱۳۸۰ تا ۱۳۸۲ به بخش پیوند مغز استخوان بیمارستان دکتر شریعتی مراجعه نموده بودند، جهت انجام پیوند سلول‌های بنیادی آلوژنیک غیر ریشه‌کن کننده انتخاب شدند. بیمارانی مبتلا به بتاتالاسمی تیپ ۳ اطلاق می شدند که حداقل دو معیار از سه معیار ذیل را داشته باشند: ۱) در طول مدت ترانسفوزیون‌های مکرر خون، درمان برداشت آهن کافی دریافت نکرده باشند؛ ۲) در معاینه، لبه کبد ۲ سانتی‌متر یا بیشتر از لبه دنده‌های قفسه سینه لمس شود و ۳) در بیوپسی کبد فیبروز کبدی داشته باشند [۱۰]. این بیماران در صورتی وارد مطالعه می‌شدند که بر اساس شرح حال و معاینه فیزیکی و بررسی‌های آزمایشگاهی دارای معیارهای ورودی زیر نیز باشند: ۱) اختلال عمل اندام‌های حیاتی نظیر کبد و قلب و مغز نداشته باشند؛ ۲) باتوجه به وضعیت بدنی میزان کارایی (Karnofsky scale) بالایی بیشتر از ۷۰ داشته باشند؛ ۳) هپاتیت مزمن فعال ویروسی یا عفونت فعال در اندام‌های مختلف نداشته باشند؛ ٤) از نظر بالینی، پاتولوژی و آزمایشگاهی دچار نارسایی کبدی پیشرفته یا سیروز نباشند؛ ٥) در بررسی عفونت ویروسی، بیمار CMV (Cytomegalo Virus) منفی و دهنده CMV مثبت نباشد و ٦) رضایت کتبی از اولیاء بیمار اخذ شده باشد. بعد از انجام بررسی‌های مختلف که در جهت تعیین سلامت عمومی بیمار صورت می‌گرفت و نیز اقداماتی نظیر ارسال نمونه‌های هپارینیزه شدن خون محیطی دهنده و گیرنده به آزمایشگاه جهت بررسی‌های مولکولار VNTR (Variable number of tandem repeat) یا STR (Short tandem repeat) و تعیین کیمریسم بعدی، بیماران در صورت دارا بودن شرایط ورودی در بخش پیوند مغز استخوان بستری می‌شدند. رژیم آماده‌سازی (Conditioning) برای پیوند شامل فلودارابین ۳۰mg/m2 روزانه از روزهای ۹- تا ٥- و بوسولفان ٤ mg/kg روزانه در روزهای ٦- و ٥- و گلوبولین آنتی تیموسیت (ATG) به میزان ۱۰ mg/kg روزانه از روزهای ٤- تا ۱- قبل از پیوند بود که جهت بیماران بستری تجویز می‌گردید. برای جمع‌آوری سلول‌های بنیادی از فرد دهنده اقداماتی به شرح ذیل صورت می‌گرفت: در مواردی که امکان جمع‌آوری سلول‌های بنیادی خون محیطی از طریق ورید محیطی یا مرکزی فرد دهنده وجود داشت ابتدا عمل به حرکت درآوری (Mobilization) سلول‌های بنیادی با تجویز Granulocyte Colony-Stimulating Factor; GCSF با دوز ٥mg/kg روزانه در طی روزهای ٤- و ۳- و ۲- و دو دوز مجزا طی روز ۱- به فرد دهنده صورت می‌پذیرفت و سپس در مورد فرد دهنده لوکوفرزیس به‌منظور برداشت سلول‌های بنیادی در روز صفر صورت می‌پذیرفت و سلول‌های گرفته شده برای شاخص‌های CD_3 و CD_{34} به روش فلوسیتومتری شمارش می‌شدند. سعی می‌شد که گیرنده در روز صفر حداقل تعداد ٤×10^{٨} سلول به‌ازای کیلوگرم وزن بدن گیرنده از سلول‌های مونونوکلئر به‌دست آمده از دهنده را از طریق ورید مرکزی دریافت نماید. در مواردی نظیر نامناسب بودن سن و وزن دهنده عمل گرفتن سلول‌های بنیادی از مغز استخوان فرد دهنده در اتاق عمل تحت شرایط کاملا استریل صورت می‌پذیرفت و سعی می‌شد حداقل تعداد ٢×10^{٨} سلول به‌ازای کیلوگرم وزن بدن گیرنده سلول مونونوکلئر از فرد دهنده گرفته و در روز صفر پیوند مونونوکلئر انفوزیون شود. درمان کاهش دهنده ایمنی که با هدف پیشگیری از بروز بیماری پیوند علیه میزبان (GVHD) صورت

Archive of SID

www.SID.ir

می‌گرفت شامل تجویز داروی سیکلوسپورین از روز ۲- پیوند بود که ابتدا به صورت وریدی با دوز ۱/۵ mg/kg دو بار در روز و سپس از روز ۱+ بعد از پیوند به‌صورت خوراکی ٦/۲۵ mg/kg دوبار در روز داده می‌شد. این دارو تا روز ۳۳+ پیوند ادامه می‌یافت و آن‌گاه در صورت عدم بروز GVHD دارو به‌تدریج کم می‌شد؛ به‌طوری که هر ۵ روز ۲۰ درصد دوز دارو کم می‌شد تا روز ٥٦+ که دارو قطع می‌گردید. همچنین در صورتی که در بررسی کیمریسم با روش‌های VNTR یا STR در روز ۲۸+ میزان سلول دهنده کمتر از ۵۰ درصد بود دارو به‌طریق فوق هر ۵ روز ۲۰ درصد کم می‌شد و چنانچه کمتر از ۲۵ درصد بود داروی سیکلوسپورین در صورت عدم وجود GVHD کاملا قطع می‌شد. داروی متوتروکسات نیز به‌منظور پیشگیری از GVHD با دوز ۱۰ mg/m^2 در روز ۱+ و با دوز ٦ mg/m^2 در روزهای ۳+ و ٦+ تجویز می‌شد که ۱۸ ساعت پس از تجویز آن داروی لکوورین داده می‌شد. به‌منظور پیشگیری از عفونت‌های ویروس CMV، پنوموسیستیس کارینی و عفونت‌های قارچی در بخش پیوند مغز استخوان به‌ترتیب از داروهای آسیکلووير، کوتریموکسازول و فلوکونازول استفاده می‌شد. علاوه بر آزمایش‌هایی نظیر CBC و گروه خونی، بیوشیمی خون، سطح فریتین و بررسی سلولاریتی مغز استخوان که به‌طور منظم پس از پیوند صورت می‌پذیرفت، برای تعیین کیمریسم یا به عبارتی میزان سلول‌های دهنده در خون گیرنده از آنالیزهای ملکولی VNTR یا STR یا سیتوژنتیک استفاده می‌شد که در روزهای ۲۸+ و ٥٦+ و ۸٤+ و ۱۱۲+ بعد از پیوند مغز استخوان و در صورت انجام انفوزیون لنفوسیتی دهنده (DLI) در فواصل منظم پس از آن صورت می‌پذیرفت. در صورت بروز آنمی و ترومبوسیتوپنی، ترانسفوزیون خون و پلاکت و در صورت بروز تب، درمان آنتی‌بیوتیکی وسیع الطیف صورت می‌پذیرفت. چنانچه بر اساس بررسی‌های کیمریسم خون محیطی بیمار شواهدی از افت کیمریسم یا به عبارتی عود بیماری ملاحظه می‌شد سعی می‌گردید با روش انفوزیون لنفوسیتی دهنده (DLI) در جهت بهبود گرفتن پیوند (Engraftment) علاوه بر کاهش دوز داروی سیکلوسپورین اقدام شود؛ بدین منظور چنانچه بر اساس بررسی‌های کیمریسم، میزان کیمریسم در روز ۲۸+ کمتر از ۲۵ درصد بود و شواهدی از GVHD وجود نداشت اولین DLI می‌بایست از روز۳۰+ آغاز می‌شد و در مواردی که کیمریسم بالاتر از ۲۵ درصد اما کمتر از حد مطلوب بود، اولین DLI در روز ٦٥+ صورت می‌پذیرفت. چنانچه در مدت ۲۸ روز از DLI قبلی شواهد پیشرفت بیماری ملاحظه می‌شد و یا در عرض ٦۰ روز نسبت به DLI قبلی تداوم بیماری (Persistent Disease) مشاهده می‌شد DLI بعدی صورت می‌گرفت. بیماری متداوم (Persistent) در کل به‌عنوان ناتوانی در حصول یک پاسخ کامل درمانی تعریف می‌شد که در بیماری بتا تالاسمی به‌صورت تداوم شواهد بیماری به‌صورت بالینی، در بررسی هماتولوژیک به‌صورت آنمی و نیاز به ترانسفوزیون خون و نیز در بررسی مولکولار به‌صورت افزایش کمتر از ۲۵ درصد در کیمریسم سلول دهنده تعریف می‌شد. جهت انجام اولین DLI تعداد ۱×۱۰^{۷} سلول T به ازای کیلوگرم وزن بدن و جهت انجام DLI دوم و سوم و چهارم در یک بیمار دوزهای $۳/۲\times۱۰^{۷}$ و ۱×۱۰^{۸} و $۳/۲\times۱۰^{۸}$ سلول T به ازای کیلوگرم وزن بدن (به‌ترتیب) انتخاب می‌شد.

نتایج

در این مطالعه ۷ بیمار مرد و ٦ بیمار زن که بر اساس شرح حال و معاینه فیزیکی و بیوپسی کبدی مبتلا به بتاتالاسمی تیپ ۳ تشخیص داده شده بودند، تحت پیوند سلول‌های بنیادی غیرریشه‌کن کننده قرار گرفتند. حداقل سن افراد مورد مطالعه ٦ سال و حداکثر ۲٤ سال با میانگین سنی ۱۳/۸ سال بود. از این بیماران، ۱۲ نفر پیوند سلول‌های بنیادی خون محیطی و یک نفر پیوند مغز استخوان دریافت نمودند. بعد از دریافت رژیم آماده سازی، بیماران در روز صفر انفوزیون سلول‌های بنیادی خون محیطی یا مغز استخوان با خصوصیات ذیل را دریافت نمودند (جدول شماره۱): متوسط گلبول‌های سفید (WBC) دریافتی حدود $۱۰/۳\times۱۰^{۸}$ سلول به ازای کیلوگرم وزن گیرنده بود که حداقل WBC دریافتی $۲/۷۸\times۱۰^{۸}$ و حداکثر cells/kg $۱۸/٤۹\times۱۰^{۸}$بود. متوسط سلول‌های مونونوکلئر دریافتی cells/kg $۷/۸۳\times۱۰^{۸}$ بود که بیماران حداقل $۰/۷۵\times۱۰^{۸}$ و حداکثر cells/kg $۱۷/۹۳\times۱۰^{۸}$ دریافت نموده بودند. متوسط سلول‌های دارای CD_3 (لنفوسیت) دریافتی cells/kg ۳×۱۰^{۸} بود که بیماران حداقل $۰/۷۸\times۱۰^{۸}$ و حداکثر cells/kg $٤/۷۹\times۱۰^{۸}$ دریافت نموده بودند. متوسط سلول‌های دارای CD_{34} دریافتی که معیاری از سلول‌های بنیادی دریافتی است cells/kg ۳٥×۱۰^{٦} بود که حداقل سلول دارای CD_{34} دریافتی $۸/۹٦\times۱۰^{٦}$ و حداکثر cells/kg $٦٦/٦\times۱۰^{٦}$ بود. یافته‌های مربوط به فرآیند گرفتن پیوند (Engraftment) بدین گونه بود (جدول شماره ۱) که در مورد زمان افزایش گلبول‌های سفید خون (WBC) به بیش‌تر از ۵۰۰ در میکرولیتر برای سه روز متوالی، نتایج این مطالعه نشان داد که در مورد پنج بیمار شمارش WBC زیر ۵۰۰ در طی مدت بستری بیمار بعد از پیوند وجود نداشت و از میان بیمارانی که WBC زیر ۵۰۰ داشتند زمان متوسط تا بروز WBC بالاتر از ۵۰۰ برای سه

Archive of SID

www.SID.ir

روز متوالی ۱٤/۱ بود. در مورد گرفتن پلاکت بعد از پیوند، پنج بیمار پلاکت زیر ۲۰۰۰۰ بعد از پیوند نداشتند و زمان متوسط برای بروز شمارش پلاکت بالاتر از ۲۰۰۰۰ برای سه روز متوالی در بقیه بیماران ۱٦/۷ روز بود. باتوجه به شمارش نوتروفیلی نسبتا مناسب مجموعه بیماران بعد از پیوند در پنج مورد تب بروز نکرد و از میان ۸ مورد بروز تب در مورد ٤ بیمار کشت خون مثبت وجود داشت (جدول شماره۲). بعد از پیوند بیماران از ۱ تا حداکثر ۱۲ بار و به‌طور متوسط ٤/٥ بار ترانسفوزیون خون دریافت نمودند و از نظر نیاز به دریافت پلاکت در مورد ۱۰ بیمار هیچ نیازی به ترانسفوزیون پلاکت وجود نداشت. در مورد نحوه گرفتن پیوند و بروز کیمریسم بعد از پیوند که بر اساس یافته‌های آنالیزهای STR و VNTR و همچنین سیتوژنتیک صورت گرفته در بیماران در روزهای ۲۸+ و ٥٦+ و ۸٤+ و ۱۱۲+ بعد از پیوند به‌دست آمد در اولین بررسی میزان کیمریسم در روز ۲۸+ به‌جز یک مورد در بقیه بیماران کیمریسم ٥۰ درصد و بیشتر سلول‌های دهنده در خون فرد گیرنده ملاحظه شد و در ۷ مورد کیمریسم حدود ۸۰ درصد و بیشتر وجود داشت. از ۱۳ بیمار مورد مطالعه در ٤ مورد بهبودی میزان کیمریسم از روز ۲۸+ تا روز ٥٦+ و در مورد ۸ بیمار پسرفت کیمریسم وجود داشت و در یک مورد تغییری ملاحظه نشد. در دو بیمار علی‌رغم بهبودی اولیه کیمریسم، مجدا افت کیمریسم سلول دهنده در روزهای ۸٤+ و ۱۱۲+ حاصل شد و در دو مورد بهبودی حاصل شده در میزان کیمریسم در روزهای ۸٤+ و ۱۱۲+ نیز تداوم یافت. در مورد ۹ بیمار انفوزیون لنفوسیت دهنده (DLI) جهت افت کیمریسم دهنده انجام شد، در یک مورد ٤ بار، در ٥ مورد ۳ بار، در دو مورد دو بار و در یک مورد یک بار DLI انجام شد. در ٦ نفر از بیماران علی‌رغم افزایش‌های خفیف کیمریسم دهنده بعد از انجام DLI، افت پیش‌رونده کیمریسم دهنده علی‌رغم DLI بعدی وجود داشت و در سه مورد هیچ بهبودی کیمریسم با انجام DLI حاصل نگردید. در کلیه موارد انجام DLI هیچ عارضه جدی نظیر عوارض GVHD و آپلازی مغز استخوان رخ نداد. از مجموع ۱۳ بیمار مورد مطالعه در ٥ مورد عارضه GVHD در حد خفیف و یک مورد در حد شدید بود. در دو بیمار بیماری انسدادی وریدی کبدی HVOD Hepatic Veno-Occlusive Disease; ملاحظه شد. در یک مورد بیمار به علت بروز عارضه GVHD حاد شدید و در یک مورد بیمار به علت بروز سپتی سمی و نارسایی قلبی هم‌زمان با بروز آپلازی مغز استخوان (وازنش پیوند) فوت نمود.

بحث

چنانچه زمان افزایش شمارش لکوسیتی به بیشتر از ٥۰۰ در میکرولیتر برای مدت سه روز متوالی به‌عنوان زمان گرفتن پیوند (engraftment) لکوسیتی و زمان برای افزایش شمارش پلاکتی به بیشتر از ۲۰۰۰۰ در میکرولیتر برای سه روز متوالی به‌عنوان زمان گرفتن پیوند پلاکتی در نظر گرفته شود، متوسط زمان گرفتن پیوند لکوسیتی ۱٥ روز و متوسط زمان گرفتن پلاکتی ۱۹ روز بود (جدول شماره ۱). نتایج این مطالعه تا حدودی شبیه به نتایج مطالعه دیگری بود که روی ۲٦ بیمار با انجام پیوند غیر ریشه‌کن کننده با اساس فلودارابین انجام شده بود؛ در این مطالعه زمان متوسط بهبودی تا شمارش گرانولوسیتی بیشتر از ٥۰۰ در میکرولیتر ۱۱ روز و زمان بهبودی شمارش پلاکتی تا ۲۰۰۰۰ در میکرولیتر حدود ۱۲ روز بود [۱۱]. هم‌چنین، براساس نتایج این مطالعه گرفتن پیوند لکوسیتی سریع‌تر از گرفتن پیوند پلاکتی رخ می‌داد که منطبق بر روند گرفتن پیوند در پیوندهای ریشه کن کننده و مغایر نتایج گزارش شده در برخی پیوندهای مغز استخوان غیر ریشه‌کن کننده است [۱۲]. شمارش لکوسیتی بعد از پیوند کمتر از ٥۰۰ در میکرولیتر در مورد ٥ بیمار وجود نداشت و همین تعداد بیماران که تقریبا نیمی از افراد مورد مطالعه را شامل می‌شدند شمارش پلاکتی کمتر از ۲۰۰۰۰ نداشتند و مابقی بیماران نیز مدت کوتاهی لکوپنی و ترمبوسیتوپنی بعد از پیوند را تجربه می‌کردند (جدول شماره ۱). وجود این امر سبب می‌شد که نیاز به ترانسفوزیون پلاکت بعد از این روش پیوندی به میزان قابل توجهی کم باشد؛ به طوری که در ۱۰ مورد بیماران هیچ‌گونه محتوی پلاکتی بعد از پیوند دریافت نکردند. هم‌چنین، با توجه به فقدان قابل توجه ریشه‌کنی مغز استخوان در این روش پیوندی در مقایسه با روش‌های پیوند ریشه‌کن کننده، نیاز به ترانسفوزیون خون نیز به‌طور قابل توجهی کم بود و بیماران به‌طور متوسط ٤ بار ترانسفوزیون خون داشتند. نتایج این مطالعه تاییدی بر نتایج مطالعات دیگر بود که حاکی از کاهش نیاز به ترانسفوزیون خون و پلاکت در پیوندهای غیرریشه- کن کننده نسبت به روش‌های پیوند مغز استخوان ریشه‌کن کننده مرسوم می‌باشد [۱۱،۱۳]. پیگیری روند کاهش و افزایش گلبول‌های سفید بعد از پیوند در این مطالعه و مطالعات دیگر نیز نشان می‌دهد که دوره سیتوپنی در مقایسه با پیوندهای ریشه‌کن کننده کمتر می‌باشد [۱۳] که خود علتی برای بروز کمتر عفونت‌های خطیر در بیماران مورد مطالعه می‌باشد؛ همان‌طور که در جدول شماره ۲ نشان داده شده است در ٥ بیمار بعد از پیوند تب بروز نکرد و در چهار مورد بروز تب کشت خون منفی بود. از جمله عوارض مهم پیوند مغزاستخوان که مرگ و میر

Archive of SID

www.SID.ir

متعاقب پیوند را تحت تاثیر قرار می‌دهد بروز واکنش پیوند علیه میزبان (GVHD) است [۱۴].

جدول شماره ۱- تعداد سلول دریافتی در زمان پیوند و نحوه گرفتن پیوند

زمان پلاکت	زمان WBC	کیمریسم	تعداد سلول دریافتی		نوع پیوند	جنس و سن	شماره
بیشتر از ۲۰۰۰۰	بیشتر از ۵۰۰	حوالی روز ۲۸+	CD_{34}/kg	CD_3/kg			
+۱۳	زیر ۵۰۰ نداشت	۵۰ درصد	$۸/۹۶\times۱۰^{۶}$	$۱/۹۸\times۱۰^{۸}$	AlloPBSCT	زن و ۱۳	۱
زیر ۲۰۰۰۰ نداشت	زیر ۵۰۰ نداشت	۹۰ درصد	$۳۳/۵\times۱۰^{۶}$	$۴/۰۹\times۱۰^{۸}$	AlloPBSCT	مرد و ۱۲	۲
+۹۱	+۲۲	۵۲ درصد	۳۲×۱۰^{۶}	$۲/۸\times۱۰^{۸}$	AlloPBSCT	زن و ۱۷	۳
+۲۴	+۲۲	۹۴ درصد	$۵۱/۴\times۱۰^{۶}$	$۴/۷۹\times۱۰^{۸}$	AlloPBSCT	زن و ۲۴	۴
+۱۳	+۱۶	۸۰ درصد	۲۷×۱۰^{۶}	$۲/۲۶\times۱۰^{۸}$	AlloPBSCT	زن و ۱۴	۵
+۱۲	+۱۱	۶۰ درصد	$۲۰/۴\times۱۰^{۶}$	$۲/۴\times۱۰^{۸}$	AlloPBSCT	مرد و ۱۲	۶
+۱۵	+۸	۹۵ درصد	۳۹×۱۰^{۶}	$۳/۰۴\times۱۰^{۸}$	AlloPBSCT	مرد و ۱۴	۷
+۲۰	+۱۶	۹۳ درصد	۴۶×۱۰^{۶}	$۳/۸۵\times۱۰^{۸}$	AlloPBSCT	زن و ۱۳	۸
زیر ۲۰۰۰۰ نداشت	+۱۰	۸۵ درصد	$۲۶/۲\times۱۰^{۶}$	$۳/۲\times۱۰^{۸}$	AlloPBSCT	زن و ۱۶	۹
+۳۸	+۷۴ زیر ۵۰۰	۴۵ درصد	۱۰×۱۰^{۶}	$٪۷۵\times۱۰^{۸}$	Allo.BM	مرد و ۱۳	۱۰
زیر ۲۰۰۰۰ نداشت	زیر ۵۰۰ نداشت	۹۰ درصد	$۵۶/۶\times۱۰^{۶}$	$۲/۳۹\times۱۰^{۸}$	AlloPBSCT	مرد و ۱۵	۱۱
زیر ۲۰۰۰۰ نداشت	زیر ۵۰۰ نداشت	۵۰ درصد	$۶۶/۶\times۱۰^{۶}$	$۳/۷\times۱۰^{۸}$	AlloPBSCT	مرد و ۱۱	۱۲
زیر ۲۰۰۰۰ نداشت	زیر ۵۰۰ نداشت	۵۰ درصد	$۳۸/۸\times۱۰^{۶}$	$۴۸/۰۳\times۱۰^{۸}$	AlloPBSCT	مرد و ۶	۱۳

جدول شماره ۲- بروز عوارض مختلف بعد از پیوند و میزان نیاز به خون و پلاکت در بیماران

میزان پلاکت دریافتی	میزان خون دریافتی	عوارض دیگر	بروز تب و عفونت	نوع GVHD و زمان بروز	شماره
نداشت	۴ بار	VOD روز ۱۱+	تب+ (کشت خون منفی)	نداشت	۱
نداشت	۳ بار	نداشت	نداشت	نداشت	۲
۴بار	۱۲ بار	نداشت	نداشت	GVHD حاد گوارشی (Stage II)	۳
نداشت	۱ بار	سمیت کلیوی سیکلوسپورین روز ۱۳+ (قطع دارو)	نداشت	GVHD مزمن پوستی و چشمی (۲۳۱+) و دهانی(۲۷۲+) GVHD کبدی و ریوی (۲۹۸+)	۴
نداشت	۲ بار	نداشت	تب- (کشت اداری مثبت) تب- (کشت اداری مثبت)	GVHDمزمن ریوی (Boop) (۳۱۴+) GVHD کبدی(۳۱۴+) GVHD پوستی(۳۵۲+)	۵
نداشت	۲ بار	نداشت	تب+ (کشت خون مثبت)	GVHD گوارشی Stage I (۹+)	۶
۸ بار	۶ بار	VOD خفیف	تب+ (کشت خون منفی)	نداشت	۷
نداشت	۶ بار	نداشت	تب+ (کشت خون منفی)	نداشت	۸
نداشت	۳ بار	نداشت(فوت شد)	تب+ (کشت خون مثبت) (کشت اداری مثبت)	GVHD پوستی حاد Stage 0 (۱۰+) GVHD گوارشی Stage III (۵۸+)	۹
۱۶ بار	۱۱ بار	هیوسلولاریتی مغز استخوان (فوت شد)	تب+ (کشت خون مثبت)	GVHD گوارشی Stage I (۳۹+) GVHD کبدی Stage I (۴۱+)	۱۰
نداشت	۳ بار	نداشت	تب+ (کشت خون منفی)	GVHD پوستی Stage II (۱۹+)	۱۱
نداشت	۴ بار	نداشت	تب+ (کشت خون مثبت)	نداشت	۱۲
نداشت	۱ بار	نداشت	نداشت	نداشت	۱۳

هرچند برخی مطالعات نشان نداده‌اند که بروز GVHD حاد بعد از پیوند غیرریشه‌کن کننده کاهش یافته باشد [۱۲]، اما آنچه نتایج مطالعه ما نشان می‌دهد عارضه GVHD حاد در تعداد قابل توجهی از بیماران (۸ نفر از بیماران مورد مطالعه) رخ نداد و از ۵ بیمار دچارGVHD حاد در مورد ۴ نفر GVHD در حد خفیف و به خوبی قابل کنترل بود و تنها در یک مورد GVHD شدید منجر به فوت گردید. برخی مطالعات دیگر بیان کرده‌اند که بروز GVHD مزمن در روش پیوند غیر ریشه‌کن کننده نسبت به

Archive of SID

www.SID.ir

روش‌های معمول پیوند مغز استخوان ریشه‌کن کننده کمتر می‌باشد [۱۵]. در مطالعه ما نیز GVHD مزمن در تنها دو بیمار ملاحظه شد که در این دو بیمار با سوروایوال طولانی مدت عاری از تالاسمی همراه بود. این مطلب برخلاف برخی نتیجه‌گیری‌ها می‌باشد که در آنها عنوان شده است برخلاف بیماران دچار لوسمی، بیماران دچار تالاسمی از اثر پیوند علیه لوسمی مرتبط با ایجاد GVHD مزمن نفعی نمی‌برند [۱۶]. نتیجه‌گیری دیگر اینکه چنانچه تا یک‌سال بعد از پیوند مغز استخوان بیماران تالاسمی، بیماری عود نکند عود بیماری تالاسمی غیرمحتمل می‌باشد و این امر در مطالعات دیگر نیز تاکید شده است [۱۶]. نکته قابل توجه دیگر اینکه وقوع عوارض گزارش شده بعد از پیوند مغز استخوان معمول ریشه کن کننده نظیر موکوزیت، سیستیت هموراژیک، بیماری انسدادی وریدی کبدی و تهوع یا اسهال شدید که بیشتر مربوط به سمیت داروهای به‌کار رفته در رژیم‌های آماده سازی این نوع پیوندها می‌باشد، در پیوندهای غیر ریشه‌کن کننده با اساس فلودارابین کمتر دیده می‌شود [۱۷،۱۱] و در بیماران مورد مطالعه ما نیز عوارض مذکور دیده نشد؛ تنها در دو مورد بیماری انسدادی وریدی کبدی (VOD) با درجات خفیفی ملاحظه شد. براساس نتایج بررسی ما در مورد میزان گرفتن پیوند یا به عبارتی میزان کیمریسم بعد از پیوند، تقریبا ارتباط مستقیمی بین میزان سلول‌های CD_3و CD_{34} دریافتی در زمان پیوند و میزان کیمریسم در روز ۲۸+ بعد از پیوند وجود داشت و در مواردی که تعداد سلول‌های CD_3دریافتی بیشتر از ۳×۱۰^{۸} سلول به‌ازای کیلوگرم یا سلول‌های CD_{34} دریافتی بیشتر از ۳۰×۱۰^{۶} سلول بود، در اغلب موارد میزان کیمریسم اولیه ۸۰ درصد یا بیشتر ملاحظه می‌شد و در مواردی که سلول‌های CD_3 و CD_{34} دریافتی کمتر از مقادیر مذکور بودند میزان کیمریسم اولیه ۵۰ درصد یا کمتر در روز ۲۸+ ملاحظه می‌شد. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری نمود که افزایش دریافت سلول‌های CD_{34} و CD_3 در زمان پیوند، حداقل در اوایل دوره پس از پیوند با بهبود گرفتن پیوند و میزان کیمریسم اولیه همراه است. در موارد پیوند غیر ریشه‌کن کننده با کاربرد سلول‌های بنیادی خون محیطی تاثیر برجسته سلول‌های CD^{+}_{34} روی کیمریسم زودرس بعد از پیوند مغز استخوان در مطالعات دیگر نیز نشان داده شده است [۱۸]. برخی افراد تونسته‌اند با کاربرد DLI در مورد بیماران مبتلا به بتاتالاسمی با از میان برداشتن کلون سلول‌های تالاسمیک، کیمریسم مختلط را به کیمریسم کامل تبدیل کنند و این امر منجر به بازسازی مشتق از دهنده کامل در دستگاه هماتوپوئتیک شود [۱۹]. در این مطالعه ما سعی کردیم با انجام DLI به‌روش تدریجا افزاینده (Escalated) در جهت بهبودی میزان کیمریسم دهنده و جلوگیری از شکست پیوند اقدام نماییم. بدین منظور از آنجا که جهت حصول رمیسیون بیماری زمینه‌ای در بسیاری از مطالعات تجویز لکوسیت‌های دهنده با یک محتوی سلول T تنها ۱×۱۰^{۷} سلول به‌ازای کیلوگرم وزن گیرنده کافی است [۵] ما جهت انجام اولین DLI دوز سلولی مذکور را انتخاب نمودیم و سپس جهت دومین DLI دوز سلولی$۳/۲\times۱۰^{۷}$ و سومین DLI دوز سلولی ۱×۱۰^{۸} و جهت چهارمین DLI دوز سلولی $۳/۲\times۱۰^{۸}$ سلول CD_3 به ازای کیلوگرم وزن گیرنده به بیماران مورد مطالعه داده می‌شد. ملاک انجام DLI پیشرفت بیماری یا به عبارتی بدتر شدن کیمریسم دهنده تا ۲۸ روز بعد از DLI قبلی و یا تداوم بیماری یا به عبارت دیگر افزایش کمتر از ۲۵ درصد در مقادیر کیمریسم دهنده تا حدود ٦۵ روز بعد از DLI قبلی بود. بیماران بر اساس نتایج بررسی کیمریسم با روش‌های VNTR، STR یا سیتوژنتیک تحت درمان با دوزهای مختلف سلول‌های لنفوسیتی دارای CD_3، همچنین سلول‌های بنیادی دارای CD_{34} قرار گرفتند. در مورد بیمار شماره ۱ به علت افت کیمریسم در روز ٥٦+ تحت DLI قرار گرفت. و افزایش میزان کیمریسم تا ۵۰ درصد ملاحظه شد اما انجام DLI در زمان‌های بعدی در افزایش میزان کیمریسم ناموفق بود. در مورد بیمار شماره ۲ نیز اگرچه میزان کیمریسم ۹۰ درصد در روز ۲۸+ ملاحظه شد، اما انجام تأخیری آنالیز VNTR، افت قابل توجه کیمریسم سلولی دهنده را نشان داد که اگرچه دومین DLI با افزایش خفیف میزان کیمریسم دهنده همراه بود، اما انجام DLI در زمان‌های بعدی در افزایش میزان کیمریسم ناموفق بود. در مورد بیماران شماره ۳ و ٦ نیز انجام دیررس DLI در افزایش کیمریسم دهنده ناتوان بود. در مورد بیمار شماره ۷ همانند بیمار شماره ۱ دوز سلولی ناکافی انفوزیون شده در زمان اولین DLI و انجام DLI به‌طور تاخیری منجر به ناتوانی انجام DLI مکرر در افزایش کیمریسم دهنده گردید. در مورد بیمار شماره ۸ علی‌رغم حصول کیمریسم ۱۰۰ درصد در روز ۱٤۱+، افت مجدد کیمریسم به صفر درصد در روز ۱۹۸+ می‌توانست به‌علت نادرست بودن پاسخ VNTR در روز ۱٤۱+ باشد؛ به هرحال بعد از گزارش VNTR صفر درصد، انجامDLI به‌طور مکرر نتوانست در نتایج کیمریسم دهنده بعدی تغییری حاصل نماید. در مورد بیمار شماره ۱۱ نیز مقادیر لنفوسیت دریافتی پایین خصوصا در زمان اولین DLI و فواصل طولانی مدت ارزیابی کیمریسم مجدد تا حدودی در شکست DLI مکرر جهت حصول کیمریسم مطلوب دهنده دخیل بود. در مورد بیماران شماره ۱۲ و ۱۳، همچنین بیمار شماره ۱۰ نتیجه اولین بررسی کیمریسم در روز ۲۸+ میزان کیمریسم

Archive of SID

www.SID.ir

پایینی حدود ۵۰ درصد و کمتر را نشان می‌داد. در هر دو مورد بیماران شماره ۱۲ و ۱۳ علی‌رغم افزایش خفیف کیمریسم دهنده، در بررسی‌های کیمریسم بعدی افت مجدد کیمریسم ملاحظه شد که انجام DLI به‌طور تاخیری نتوانست در افزایش میزان کیمریسم دهنده و موفقیت پیوند موثر باشد. در مجموع در دو مورد شماره ۹ و ۱۰ مرگ متعاقب پیوند به‌ترتیب به‌علت وقوع عارضه GVHD شدید و نارسایی (آپلازی) مغز استخوان رخ داد و در دو مورد بیماران شماره ٤ و ٥ متعاقب قطع سریع سیکلوسپورین به‌عنوان داروی پیشگیری کننده از واکنش پیوند علیه انسان (GVHD) کیمریسم دهنده کامل و سوروایوال عاری از تالاسمی ٥ ساله ملاحظه گردید و در مورد ۹ بیمار دیگر عود مجدد تالاسمی و نیاز به ترانسفوزیون خون بعد از پیوند حاصل شد. در این موارد مهمترین عوامل دخیل در شکست پیوند و DLI عبارت بودند از: ۱) عدم دریافت سلول CD_{34} و CD_3 به‌میزان کافی در زمان پیوند؛ ۲) شدت ناکافی رژیم آماده سازی جهت حصول کیمریسم دهنده بالا در زمان اولین بررسی میزان کیمریسم دهنده؛ ۳) انجام بررسی کیمریسم به طور نامنظم و تاخیری؛ ٤) انجام DLI با دوز سلول‌های دریافتی CD_3 ناکافی و یا انجام دادن آن به‌طور تاخیری نسبت به نتایج بررسی کیمریسم با VNTR، سیتوژنتیک یا STR؛ ٥) تداوم مصرف داروی سیکلوسپورین جهت پروفیلاکسی GVHD تا مدت زمان طولانی بعد از انجام پیوند و عدم قطع به موقع آن براساس نتایج کیمریسم دهنده که در بسیاری از موارد ملاحظه گردید؛ ٦) فقدان عوارض شایع بعد از DLI هم‌چون GVHD و آپلازی مغز استخوان در مطالعه ما که لزوم بررسی بیشتر در مورد کمیت و کیفیت سلول‌های دریافتی در زمان DLI را طلب می‌کند و ۷) عدم تناسب یافته‌های کیمریسم با یافته‌های بالینی و آزمایشگاهی نظیر میزان هموگلوبین خون بیمار در برخی موارد که لزوم کنترل روش‌های بررسی کیمریسم یا انجام مکرر آن‌ها را طلب می‌نماید. براساس نتایج مطالعه ما و نتایج مطالعات دیگر شکست قابل ملاحظه پیوند غیر ریشه کن کننده جهت درمان بیماری بتاتالاسمی ملاحظه شده است که عمدتا به این علت است که به واسطه حساس شدن بیماران دچار تالاسمی به آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی دهنده که به‌واسطه ترانسفوزیون خون مکرر قبلی حاصل شده است گرفتن پیوند کامل یا نسبی پایدار بعد از انجام پیوند غیر ریشه‌کن کننده جهت بیماری بتاتالاسمی مشکل می‌باشد [۲۱،۲۰]. رفع عوامل منجر به شکست مذکور و انجام اصلاحات مهمی همچون: ۱) افزایش شدت رژیم آماده‌سازی خصوصا با افزایش دوز داروی مهار کننده ایمنی نظیر فلودارابین؛ ۲) افزایش دوز سلول‌های CD_{34} دریافتی در زمان پیوند؛ ۳) توجه به زمان مناسب انفوزیون لنفوسیتی دهنده (DLI) بر اساس نتایج کیمریسم و انجام DLI در زمانی که کیمریسم سلولی دهنده در مقادیر بالاتر از ۳۰ درصد می‌باشد و ٤) قطع سریع‌تر داروی سیکلوسپورین جهت پروفیلاکسی GVHD، بالاخص باتوجه به افت کیمریسم سلولی دهنده در بررسی کیمریسم می‌توانند بالقوه در کاهش میزان شکست و بهبود نتایج پیوند غیرریشه‌کن کننده جهت درمان بتا تالاسمی مفید واقع شوند.

نتیجه گیری

اگرچه براساس مطالعه‌ی ما و برخی مطالعات دیگر انجام پیوند غیر ریشه کن کننده سلول‌های بنیادی آلوژنیک جهت درمان بیماران مبتلا به بتاتالاسمی نوع ۳ با میزان شکست پیوند بالایی همراه بوده است، با توجه به موارد بالای مرگ و میر و عوارض فوری و دراز مدتی که بعد از پیوند مغز استخوان معمول ریشه‌کن کننده جهت بیماران مبتلا به بتاتالاسمی نوع ۳ مشاهده می‌شود [۲۲،۱۰]، هم‌چنین با توجه به صدمات ارگان‌های مختلف موجود از قبل در این بیماران، انجام پیوند سلول‌های بنیادی هماتوپوئتیک غیر ریشه‌کن کننده با داشتن عوارض جانبی و میزان مرگ و میر متعاقب پیوند کمتر نسبت به روش‌های مرسوم می‌تواند به‌عنوان یک درمان شفابخش جهت این بیماران پیشنهاد شود؛ به‌شرط آنکه با انجام اقدامات مهمی هم‌چون افزایش دوز داروهای مهار کننده ایمنی در رژیم‌های آماده سازی و افزایش میزان سلول‌های بنیادی انفوزیون شده در زمان پیوند، هم‌چنین کاهش میزان و طول مدت دریافت داروهای به‌کار رفته به‌منظور پیشگیری از عارضه‌ی GVHD نظیر سیکلوسپورین و انجام DLI با دوز کافی و در زمان مناسب از میزان شکست این روش درمانی کاسته شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از ریاست محترم و پرسنل زحمت‌کش بخش پیوند مغز استخوان بیمارستان دکتر شریعتی تهران به دلیل همکاری وافر و بی‌شائبه در زمینه‌ی اجرای این تحقیق کمال تشکر و سپاس را دارند.

References:

[1] Pianatti CB, Galavello R. Thalassemia and related disorders: Quanititative disorders of hemoglohin synthesis. In: Creer Jp, Foerster, Rodgres GM, ParasReras F. Glander B, Daniel A.

Archive of SID

www.SID.ir

Wintrob's Clinical hematology. 12th ed. Philadelphia: Wolter kluwer- hppincott Williams & wilkins; 2009. p. 1083-132.
[2] weatherall D. Disorders of globin synthesis: the thalassemias. In: Kaushansky K, Lichtman M, Beutler E, kipps T, prchal J, seligsohn U. Williams hematology. 8th ed. New York: McGraw-hill; 2010. p. 633-66.
[3] lucarelli G, Clift R. Marrow transplantation in thalassemia. In: Thomas ED, Blume KG, forman SJ. Hematopoietic cell transplantation. 2nd ed. USA: Blackwell Science; 1999. p. 1137-44.
[4] Lucarelli G, Galimberti M, Polchi P, Angelucci E, Baronciani D, Durazzi SM, et al. Bone marrow transplantation in adult thalassemia. ***Blood*** 1992; 80(6): 1603-7.
[5] Andreani M, Manna M, Lucarelli G, Tonucci P, Agostinelli F, Ripalti M, et al. Persistence of mixed chimerism in patients transplanted for the treatment of thalassemia. ***Blood*** 1996; 87(8): 3494-9.
[6] Kapelushnik J, Or R, Filon D, Nagler A, Cividalli G, Aker M, Naparstek E, et al. Analysis of beta-globin mutations shows stable mixed chimerism in patients with thalassemia after bone marrow transplantation. ***Blood*** 1995; 86(8): 3241-6.
[7] Slavin S, Nagler A, Naparstek E, Kapelushnik Y, Aker M, Cividalli G, et al. Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases. ***Blood*** 1998; 91(3): 756-63.
[8] Kolb HJ, Schattenberg A, Goldman JM, Hertenstein B, Jacobsen N, Arcese W, et al. Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. ***Blood*** 1995; 86(5): 2041-50.
[9] Woodard P, Tong X, Richardson S, Srivastava DK, Horwitz EM, Benaim E, et al. Etiology and outcome of graft failure in pediatric hematopoietic stem cell transplant recipients. ***J Pediatr Hematol Oncol*** 2003; 25(12): 955-9.
[10] Lucarelli G, Galimberti M, Polchi P, Angelucci E, Baronciani D, Giardini C, et al. Bone marrow transplantation in patients with thalassemia. ***N Engl J Med*** 1990; 322(7): 417-21.
[11] Ruiz-Argüelles GJ, Gómez-Almaguer D, Ruiz-Argüelles A, González-Llano O, Cantú OG, Jaime-Pérez JC. Results of an outpatient-based stem cell allotransplant program using nonmyeloablative conditioning regimens. ***Am J Hematol*** 2001; 66(4): 241-4.
[12] Lucarelli G, Clift RA, Galimberti M, Angelucci E, Giardini C, Baronciani D, et al. Bone marrow transplantation in adult thalassemic patients. ***Blood*** 1999; 93(4): 1164-7.
[13] Weissinger F, Sandmaier BM, Maloney DG, Bensinger WI, Gooley T, Storb R. Decreased transfusion requirements for patients receiving nonmyeloablative compared with conventional peripheral blood stem cell transplants from HLA-identical siblings. ***Blood*** 2001; 98(13): 3584-8.
[14] Panse JP, Heimfeld S, Guthrie KA, Maris MB, Maloney DG, Baril BB, et al. Allogeneic peripheral blood stem cell graft composition affects early T-cell chimaerism and later clinical outcomes after non-myeloablative conditioning. ***Br J Haematol*** 2005; 128(5): 659-67.
[15] Djulbegovic B, Seidenfeld J, Bonnell C, Kumar A. Nonmyeloablative allogeneic stem-cell transplantation for hematologic malignancies: a systematic review. ***Cancer Control*** 2003; 10(1): 17-41.
[16] Locatelli F, Rocha V, Reed W, Bernaudin F, Ertem M, Grafakos S, et al. Related umbilical cord blood transplantation in patients with thalassemia and sickle cell disease. ***Blood*** 2003; 101(6): 2137-43.
[17] Lucarelli G, Clift RA, Galimberti M, Polchi P, Angelucci E, Baronciani D, et al. Marrow transplantation for patients with thalassemia: results in class 3 patients. ***Blood*** 1996; 87(5): 2082-8.
[18] Michallet M, Bilger K, Garban F, Attal M, Huyn A, Blaise D, et al. Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation after nonmyeloablative preparative regimens: impact of pretransplantation and posttransplantation factors on outcome. ***J Clin Oncol*** 2001; 19(14): 3340-9.
[19] Mapara MY, Kim YM, Wang SP, Bronson R, Sachs DH, Sykes M. Donor lymphocyte infusions mediate superior graft-versus-leukemia effects in mixed compared to fully allogeneic chimeras: a critical role for host antigen-presenting cells. ***Blood*** 2002; 100(5): 1903-9.
[20] Weiss L, Lubin I, Factorowich I, Lapidot Z, Reich S, Reisner Y, et al. Effective graft-versus-leukemia effects independent of graft-versus-host disease after T cell-depleted allogeneic bone marrow transplantation in a murine model of B cell leukemia/lymphoma. Role of cell therapy and recombinant IL-2. ***J Immunol*** 1994; 153(6): 2562-7.
[21] Horan JT, Liesveld JL, Fenton P, Blumberg N, Walters MC. Hematopoietic stem cell transplant-ation for multiply transfused patients with sickle cell disease and thalassemia after low-dose total body irradiation, fludarabine, and rabbit anti-thymocyte globulin. ***Bone Marrow Transplant*** 2005; 35(2): 171-7.
[22] Locatelli F. Reduced-intensity regimens in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hemoglobinopathies. ***Hematology Am Soc Hematol Educ Program*** 2006: 398-401.

Archive of SID

www.SID.ir