

## **The effectiveness of non-myeloablative stem cell transplantation and DLI as a selective treatment in class III β-thalassemic patients**

**Adib Sereshki M<sup>1\*</sup>, Bahar B<sup>2</sup>, Ghavamzadeh A<sup>2</sup>, Ali -Moghadam K<sup>2</sup>, Iravani M<sup>2</sup>**

1- Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

2- Department of Hematology, Oncology and Bone Marrow Transplantation, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I. R. Iran.

Received April 15, 2010; Accepted September 18, 2010

### **Abstract**

**Background:** At present, the only curative treatment for β-thalassemia major is allogenic bone marrow transplantation accompanied with considerable mortality and morbidity in class III β-thalassemia. Regarding few case reports on successful non-myeloablative stem cell transplantation in class III β-thalassemic cases, we evaluated the effectiveness of this type of allogenic stem cell transplantation, considering less toxic non-myeloablative conditioning regimen.

**Materials and Methods:** In this prospective study in Shariati Hospital bone marrow transplantation center during 2001-3, 13 class III β-thalassemia patients (on the basis of history and physical examination and liver biopsy) were transplanted with peripheral blood and bone marrow stem cells from their HLA-identical siblings. Non-myeloablative conditioning regimen included fludarabine; busulan; antithymocyte globulin. Graft versus host disease (GVHD) prophylactic regimen was cyclosporin and methotrexate. In the case of the declining chimerism, the patients were treated with donor lymphocyte infusions (DLI).

**Results:** The conditioning regimen was tolerated well without any considerable toxicity in hematologic, gastrointestinal and pulmonary systems. Five (38.5%) patients had acute and 2(15.4%) had chronic GVHD. Two patients died after transplantation. While two cases had a thalassemia-free survival.

**Conclusion:** Although associated with high graft failure and the recurrence of disease, non-myeloablative stem cell transplantation may be used as a curative, less toxic post-transplantation treatment for class III β-thalassemia.

**Keywords:** β-thalassemia, Stem cell transplantation, Donor lymphocyte infusion (DLI)

**\* Corresponding Author.**

**Email:** Dr\_adibs@yahoo.com

**Tel:** 0098 912 111 6970

**Fax:** 0098 361 555 8900

**Conflict of Interests: No**

*Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, Winter, 2011; Vol. 14, No 4, Pages 453-461*

# گزارش اثربخشی پیوند سلول‌های بنیادی غیر ریشه‌کن کننده همراه با انفوژیون لذفوسيت دهنده به عنوان یک درمان انتخابی در بیماران مبتلا به بتا تالاسمی مازور نوع ۳

محمد مهدی ادیب سرشکی<sup>\*</sup>، بابک بهار<sup>۱</sup>، اردشیر قوام زاده<sup>۲</sup>، کامران علی‌مقدم<sup>۳</sup>، مسعود ایروانی<sup>۳</sup>

## خلاصه

سابقه و هدف: تنها درمان شفابخش جهت مبتلایان به بیماری بتاتالاسمی مازور پیوند مغز استخوان آلورژنیک می‌باشد که در بیماران نوع ۳ با عوارض و مرگ و میر قابل توجهی همراه است. با توجه به گزارشات موردي از موفقیت پیوند غیرریشه‌کن کننده در مبتلایان به بتاتالاسمی مازور، اثربخشی این روش همراه با رژیم آماده‌سازی پیوند با سمت 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 خواه را 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 میزان بعد از پیوند شامل سیکلوسپورین و متوروسکات بود و بیماران در صورت افت کیمریسم دهنده تحت درمان با انفوژیون لذفوسيت دهنده (DLI) قرار می‌گرفتند.

نتایج: رژیم آماده سازی پیوند به خوبی و بدون سمت قابل توجه بر روی سیستم‌های هماتولوژیک و گوارشی و ریوی تحمل شد. پنج نفر از بیماران ۴۶/۳۸ (درصد) واکنش پیوند علیه میزان حاد و ۲ نفر (۱۵/۳۸ درصد) واکنش پیوند علیه میزان مزمن داشتند. دو نفر نیز پس از پیوند فوت نمودند. پس از ۵ سال پیگیری، دو نفر سوراپیوال عاری از بیماری تالاسمی داشتند.

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

وازگان کلیدی: بتاتالاسمی مازور، پیوند سلول‌های بنیادی، انفوژیون لذفوسيت دهنده

فصلنامه علمی – پژوهشی فیض، دوره چهاردهم، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۹، صفحات ۴۶۱–۴۵۳

## مقدمه

نوع درمان بسیار چشمگیر بوده است؛ به طوری که در کودکانی که به صورت زودرس تحت این درمان قرار گرفته‌اند سوراپیوال عاری از بیماری به حدود ۹۰ تا ۹۳ درصد می‌رسد [۲]. از طرفی در موارد پیشرفتی 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 سمت بالا (Toxic high dose conditioning therapy) با مخاطرات و مرگ و میر بالایی برای بیمار همراه است [۳،۴]. مطالعات بالینی متعددی نشان داده‌اند که در این بیماران برای حصول موفقیت در امر پیوند مغز استخوان می‌توان از شدت سیتوتوکسیستی رژیم‌های آماده‌سازی بهمنظور ریشه‌کن کردن کامل سلول‌های غیرطبیعی میزان کاست و با استفاده از داروهایی با خاصیت تضعیف اینمی پیشتر و سیتوکسیستی کمتر ایجاد حالت کیمریسم مختلط (Mixed chimerism) یا کامل، و بهبودی بیماری تالاسمی نمود [۶،۵]. بنابراین، به نظر می‌رسد در حال حاضر پیوند مغز استخوان به روش فوق، یعنی پیوند سلول‌های بنیادی غیر ریشه‌کن کننده (Non myeloablative stem cell transplantation) تنها راه نجات

تالاسمی شایع‌ترین اختلال ژنتیکی در سطح دنیا است و وقوع آن به خصوص 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 عملهای 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 آلورژنیک می‌باشد و هر چند بیش از ۲۰ سال از پیگیری اولین بیمارانی که تحت این نوع درمان قرار گرفته‌اند می‌گذرد نتایج این

<sup>۱</sup> استادیار، گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

<sup>۲</sup> استاد، مرکز تحقیقات خون و پیوند مغز استخوان بیمارستان دکتر شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

<sup>۳</sup> استادیار، مرکز تحقیقات خون و پیوند مغز استخوان بیمارستان دکتر شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

\*<sup>۴</sup> نشان نویسنده مسؤول؛ کاشان، بلوار قطب راوندی، بیمارستان شهید بهشتی

تلفن: ۰۹۱۲ ۱۱۱۶۹۷۰، دوچرخه: ۰۳۶۱ ۵۵۵۸۹۰۰.

پست الکترونیک: dr\_adibs@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۹/۶/۲۷ تاریخ پذیرش نهایی: ۸۹/۱/۳۶

حياتی نظری کبد و قلب و مغز نداشته باشند؛ ۲) با توجه 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؛ ۴) از نظر بالینی، پاتولوژی و آزمایشگاهی دچار نارسایی کبدی پیشرفتنه یا سیروز نباشند؛ ۵) در بررسی عفونت ویروسی، بیمار CMV (Cytomegalovirus) CMV مثبت نباشد و ۶) رضایت کتبی از اولیاء منفی و دهنده CMV است. بعد از انجام بررسی‌های مختلف که در جهت بیمار اخذ شده باشد. تعیین سلامت عمومی بیمار صورت می‌گرفت و نیز اقداماتی نظری ارسال نمونه‌های هپارینیزه شدن خون محیطی دهنده و گیرنده به آزمایشگاه جهت بررسی‌های مولکولار VNTR (Short tandem repeat (number of tandem repeat (repeat) و تعیین کیمیریسم بعدی، بیماران در صورت دارا بودن شرایط ورودی در بخش پیوند مغز استخوان بستری می‌شوند. رژیم آماده‌سازی (Conditioning) برای پیوند شامل فلودارابین ۴ mg/kg روزانه از روزهای ۹-۱۰ و بوسلوفان ۴ mg/m<sup>2</sup> روزانه در روزهای ۶-۵ و گلوبولین آنتی تیموسویت (ATG) به میزان ۱۰ mg/kg روزانه از روزهای ۴-۱ 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 ۵ mg/kg روزانه در طی روزهای ۴-۳-۲ و دو دوز مجزا طی روز ۱- به فرد دهنده صورت می‌پذیرفت و سپس در مورد فرد دهنده لوکوفرژیس به منظور برداشت سلول‌های بنیادی در روز صفر صورت می‌پذیرفت و سلول‌های گرفته شده برای شاخص‌های CD<sub>3</sub> و CD<sub>34</sub> به روش فلوسیتوتمتری شمارش می‌شوند. سعی می‌شود که گیرنده در روز صفر حداقل تعداد  $10^8 \times 4$  سلول بازی کیلوگرم وزن بدن گیرنده از سلول‌های مونونوکلتر به دست آمده از دهنده را از طریق ورید مرکزی دریافت نماید. در مواردی نظری نامناسب بودن سن و وزن دهنده عمل گرفتن سلول‌های بنیادی از مغز استخوان فرد دهنده در اتفاق عمل تحت شرایط کاملاً استریل صورت می‌پذیرفت و سعی می‌شود حداقل تعداد  $10^8 \times 2$  سلول بازی کیلوگرم وزن بدن گیرنده سلول مونونوکلتر از فرد دهنده گرفته و در روز صفر پیوند مونونوکلتر انفوژیون شود. درمان کاهش دهنده اینمی که با هدف پیشگیری از بروز بیماری پیوند علیه میزان (GVHD) صورت

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 میزان در مغز استخوان است؛ بدین معنی که فرآیند کیمیریسم مختلط به نفع سلول‌های تالاسمیک میزان به پیش برود. یکی از تمهداتی که می‌تواند بالقوه باعث پسرفت رشد این سلول‌ها شود و اثربخشی آن در بسیاری از موارد کیمیریسم مختلط بعد از بیماری‌های بدخیم هماتولوژیک به اثبات رسیده است، تزریق لغفوسیت‌های T سیتوتوکسیک از همان فرد دهنده Donor lymphocyte infusion (DLI) است [۸]. از تمهدات مهم دیگر کاهش میزان مصرف و قطع سریع‌تر داروهایی است که به منظور کاهش بروز واکنش پیوند علیه میزان (graft versus host disease; GVHD) بعد از پیوند سلول‌های بنیادی هماتوپوئیتیک به کار می‌رond [۹,۷]. در این مطالعه میزان اثربخشی و عوارض Nonmyeloablative stem cell transplantation و در صورت نیاز انجام DLI بعدی در مورد بیماران مبتلا به بتاتالاسمی تیپ ۳ که نسبت قابل توجهی از بیماران مبتلا به بتاتالاسمی در کشورهای در حال توسعه نظری 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 می‌شوند 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 دندنه‌های قفسه سینه لمس شود و ۳) در بیوپسی کبد فیروز کبدی داشته باشند [۱۰]. این بیماران در صورتی وارد مطالعه می‌شوند که بر اساس شرح حال و معاینه فیزیکی و بررسی‌های آزمایشگاهی دارای معیارهای ورودی زیر نیز باشند: ۱) اختلال عمل اندام‌های

مشاهده می شد DLI بعدی صورت می گرفت. بیماری متداوم (Persistent) در کل به عنوان ناتوانی در حصول یک پاسخ کامل درمانی تعریف می شد که در بیماری بتا تالاسمی به صورت متداوم شواهد بیماری به صورت بالینی، در بررسی هماتولوژیک به صورت آنمی و نیاز به ترانسفوزیون خون و نیز در بررسی مولکولار به صورت افزایش کمتر از ۲۵ درصد در کیمریسم سلول دهنده تعریف می شد. جهت انجام اولین DLI تعداد  $1 \times 10^7$  سلول T به ازای کیلوگرم وزن بدن و جهت انجام DLI دوم و سوم و چهارم در یک بیمار دوزهای  $10^7$  و  $10^8$  و  $10^8$  سلول T به ازای کیلوگرم وزن بدن (به ترتیب) انتخاب می شد.

### نتایج

در این مطالعه ۷ بیمار مرد و ۶ بیمار زن که بر اساس شرح حال و معاینه فیزیکی و بیوپسی کبدی مبتلا به بتانالاسمی تیپ ۳ تشخیص داده شده بودند، تحت پیوند سلول های بنیادی غیرریشه کن کنته قرار گرفتند. حداقل سن افراد مورد مطالعه ۶ سال و حداکثر ۲۴ سال با میانگین سنی  $13/8$  سال بود. از این بیماران، ۱۲ نفر پیوند سلول های بنیادی خون محیطی و یک نفر پیوند مغز استخوان دریافت نمودند. بعد از دریافت رژیم آماده سازی، بیماران در روز صفر انفوژیون سلول های بنیادی خون محیطی یا مغز استخوان با خصوصیات ذیل را دریافت نمودند (جدول شماره ۱): متوسط گلوبول های سفید (WBC) دریافتی حدود  $10^3 \times 10^8$  سلول به ازای کیلوگرم وزن گیرنده بود که حداقل WBC دریافتی  $10^8 \times 10^8$  و حداکثر  $10^8 \times 10^8$  بود. متوسط سلول های مونونوکلر دریافتی  $10^8 \times 10^8$  بود که بیماران حداقل  $10^8 \times 10^8$  و حداکثر  $10^8 \times 10^8$  بود. متوسط سلول های  $CD_3$  دریافتی  $10^8 \times 10^8$  بود که بیماران حداقل  $10^8 \times 10^8$  و حداکثر  $10^8 \times 10^8$  بود که دریافت نموده بودند. متوسط سلول های  $CD_{34}$  دریافتی که معیاری از سلول های بنیادی دریافتی است  $10^8 \times 10^8$  بود که حداقل سلول دارای  $CD_{34}$  دریافتی  $10^8 \times 10^8$  و حداکثر  $10^8 \times 10^8$  بود. یافته های مربوط به فرآیند گرفتن پیوند (Engraftment) بدین گونه بود (جدول شماره ۱) که در مورد زمان افزایش گلوبول های سفید خون (WBC) به بیشتر از ۵۰۰ در میکرو لیتر برای سه روز متوالی، نتایج این مطالعه نشان داد که در مورد پنج بیمار شمارش WBC زیر ۵۰۰ در طی مدت بستره 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

می گرفت شامل تجویز داروی سیکلوسپورین از روز ۲- پیوند بود که ابتدا به صورت وریدی با دوز  $1/5 \text{ mg/kg}$  ۱/۵ دو بار در روز و سپس از روز ۱+ بعد از پیوند به صورت خوارکی  $6/25 \text{ mg/kg}$  دوبار در روز داده می شد. این دارو تا روز  $33+3$  پیوند ادامه می یافتد و آن گاه در صورت عدم بروز GVHD دارو به تدریج کم می شد؛ به طوری که هر ۵ روز  $20$  درصد دوز دارو کم می شد تا روز  $56+6$  که دارو قطع می گردید. همچنین در صورتی که در بررسی کیمریسم با روش های VNTR یا STR در روز  $28$  میزان سلول دهنده کمتر از  $50$  درصد بود دارو به طریق فوق هر ۵ روز  $20$  درصد کم می شد و چنانچه کمتر از  $25$  درصد بود داروی سیکلوسپورین در صورت عدم وجود GVHD کاملاً قطع می شد. داروی متواتر و کسات نیز به منظور پیشگیری از GVHD با دوز  $10 \text{ mg/m}^2$  در روز  $1+6$  و با دوز  $6 \text{ mg/m}^2$  در روزهای  $3+6$  تجویز می شد که  $18$  ساعت پس از تجویز آن داروی لکوورین داده می شد. به منظور پیشگیری از عفونت های ویروس CMV، پنوموسیستیس کاربینی و عفونت های قارچی در بخش پیوند مغز استخوان به ترتیب از داروهای آسیکلورویر، کوتريموکسازول و فلوكونازول استفاده می شد. علاوه بر آزمایش هایی نظری CBC و گروه خونی، بیوشیمی خون، سطح فریتین و بررسی سلولاریتی مغز استخوان که به طور منظم پس از پیوند صورت می پذیرفت، برای تعیین کیمریسم یا به عبارتی میزان سلول های دهنده در خون گیرنده از آنالیز های ملکولی VNTR یا سیتوژنتیک استفاده می شد که در روزهای  $28+4$  و  $56+6$  و  $84+6$  بعد از پیوند مغز استخوان و در صورت انجام انفوژیون لنفوسيتی دهنده (DLI) در فواصل منظم پس از آن صورت می پذیرفت. در صورت بروز آنمی و ترومبوسیتوپنی، ترانسفوزیون خون و پلاکت و در صورت بروز تب، درمان آنتی بیوتیکی وسیع الطیف صورت می پذیرفت. چنانچه بر اساس بررسی های کیمریسم خون محیطی بیمار شواهدی از افت کیمریسم یا به عبارتی عود بیماری ملاحظه می شد سعی می گردد با روش انفوژیون لنفوسيتی دهنده (DLI) در جهت بهبود گرفتن پیوند (Engraftment) علاوه بر کاهش دوز داروی سیکلوسپورین اقدام شود؛ بدین منظور چنانچه بر اساس بررسی های کیمریسم، میزان کیمریسم در روز  $28+6$  کمتر از  $25$  درصد بود و شواهدی از GVHD وجود نداشت اولین DLI می بایست از روز  $30+6$  آغاز می شد و در مواردی که کیمریسم بالاتر از  $25$  درصد اما کمتر از حد مطلوب بود، اولین DLI در روز  $56+6$  صورت می پذیرفت. چنانچه در مدت  $28$  روز از قبلی شواهد پیشرفت بیماری ملاحظه می شد و یا در عرض  $60$  روز نسبت به DLI قلی تداوم بیماری (Persistent Disease)

## بحث

چنانچه زمان افزایش شمارش لکوسیتی به بیشتر از ۵۰۰ در میکرولیتر برای مدت سه روز متواالی به عنوان زمان گرفتن پیوند (engraftment) لکوسیتی و زمان برای افزایش شمارش پلاکتی به بیشتر از ۲۰۰۰۰ در میکرولیتر برای سه روز متواالی به عنوان زمان گرفتن پیوند پیوند پلاکتی در نظر گرفته شود، متوسط زمان گرفتن پلاکتی ۱۹ روز بود (جدول شماره ۱). نتایج این مطالعه تا حدودی شبیه به نتایج مطالعه دیگری بود که روی ۲۶ بیمار با انجام پیوند غیر ریشه‌کن کننده با اساس فلودارابین انجام شده بود؛ در این مطالعه زمان متوسط بهبودی تا شمارش گرانولوسیتی بیشتر از ۵۰۰ 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 ریشه‌کن کننده و مغایر نتایج گزارش شده در برخی پیوند‌های مغز استخوان غیر ریشه‌کن کننده است [۱۲]. شمارش لکوسیتی بعد از پیوند کمتر از ۵۰۰ در میکرولیتر در مورد ۵ بیمار وجود نداشت و همین تعداد بیماران که تقریباً نیمی از افراد مورد مطالعه را شامل می‌شدند شمارش پلاکتی کمتر از ۲۰۰۰۰ نداشتند و مابقی بیماران نیز مدت کوتاهی لکوبنی و ترمیوسیتوپنی 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 ۴ 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 غیر ریشه‌کن کننده مدررسوم می‌باشد [۱۱، ۱۳]. پیگری 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 علی برای بروز کمتر عفونت‌های خطیر در بیماران مورد مطالعه می‌باشد؛ همان‌طور که در جدول شماره ۲ نشان داده شده است در ۵ بیمار بعد از پیوند تب بروز نکرد و در چهار مورد بروز تب کشت خون منفی بود. از جمله عوارض مهم پیوند مغز استخوان که مرگ و میر

روز متوالی ۱۴/۱ 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 متواالی در بقیه بیماران ۱۶/۷ روز بود. با توجه به شمارش نوتروفیلی نسبتاً مناسب مجموعه بیماران بعد از پیوند در پنج مورد تب بروز نکرد و وجود میان ۸ مورد بروز تب در مورد ۴ بیمار کشت خون مثبت وجود داشت (جدول شماره ۲). بعد از پیوند بیماران از ۱ تا حداقل ۱۲ بار و به‌طور متوسط ۴/۵ 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 STR و VNTR و همچنین سیتوژنتیک صورت گرفته در بیماران در روزهای +۲۸ و +۵۶ و +۸۴ و +۱۱۲ بعد از پیوند به‌دست آمد در اولین بررسی میزان کیمریسم در روز ۲۸ به‌جز یک مورد در بقیه بیماران کیمریسم ۵۰ 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 ۴ مورد بهبودی میزان کیمریسم از روز +۲۸ تا روز +۵۶ و در مورد ۸ بیمار پسرفت کیمریسم وجود داشت و در یک مورد تغییری ملاحظه نشد. در دو بیمار علی‌رغم بهبودی اولیه کیمریسم، مجدد افت کیمریسم سلول دهنده در روزهای +۸۴ و +۱۱۲ حاصل شد و در دو مورد بهبودی حاصل شده در میزان کیمریسم در روزهای +۸۴ و +۱۱۲ نیز تداوم یافت. در مورد ۹ بیمار انفوژیون لنفوسیت دهنده (DLI) جهت افت کیمریسم دهنده انجام شد، در یک مورد ۴ بار، در ۵ مورد ۳ بار، در دو مورد دو بار و در یک مورد یک بار DLI انجام شد. در ۶ نفر از بیماران علی‌رغم افزایش‌های خفیف کیمریسم دهنده بعد از انجام DLI، افت پیش‌رونده کیمریسم دهنده علی‌رغم 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 ۵ مورد عارضه GVHD در حد خفیف و یک مورد در حد شدید بود. در دو بیمار بیماری انسدادی Hepatic Veno-Occlusive Disease؛ دریای کبدی HVOD 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.

متاعب پیوند را تحت تاثیر قرار می‌دهد بروز واکنش پیوند علیه [۱۴].

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

شماره	جنس و سن	نوع پیوند	تعداد سلول دریافتی			کیمیسم	زمان WBC	زمان پلاکت
			CD <sub>3</sub> /kg	CD <sub>34</sub> /kg	حوالی روز			
۱	زن و ۱۳	AlloPBSCT	۱/۹۸×۱۰ <sup>8</sup>	۸/۹۶×۱۰ <sup>7</sup>	۵۰ درصد	زیر ۵۰۰ نداشت	بیشتر از ۲۰۰۰۰	+۱۳
۲	مرد و ۱۲	AlloPBSCT	۴/۰۹×۱۰ <sup>8</sup>	۳۳/۵×۱۰ <sup>7</sup>	۹۰ درصد	زیر ۵۰۰ نداشت	زیر ۲۰۰۰۰	
۳	زن و ۱۷	AlloPBSCT	۲/۸×۱۰ <sup>8</sup>	۳۲×۱۰ <sup>7</sup>	۵۲ درصد		+۲۲	+۹۱
۴	زن و ۲۴	AlloPBSCT	۴/۷۹×۱۰ <sup>8</sup>	۵۱/۴×۱۰ <sup>7</sup>	۹۴ درصد		+۲۲	+۲۴
۵	زن و ۱۴	AlloPBSCT	۲/۲۶×۱۰ <sup>8</sup>	۲۷×۱۰ <sup>7</sup>	۸۰ درصد		+۱۶	+۱۳
۶	مرد و ۱۲	AlloPBSCT	۲/۴×۱۰ <sup>8</sup>	۲۰/۴×۱۰ <sup>7</sup>	۶۰ درصد		+۱۱	+۱۲
۷	مرد و ۱۴	AlloPBSCT	۳/۰۴×۱۰ <sup>8</sup>	۳۹×۱۰ <sup>7</sup>	۹۵ درصد		+۸	+۱۰
۸	زن و ۱۳	AlloPBSCT	۳/۸۵×۱۰ <sup>8</sup>	۴۶×۱۰ <sup>7</sup>	۹۳ درصد		+۱۶	+۲۰
۹	زن و ۱۶	AlloPBSCT	۳/۲۲×۱۰ <sup>8</sup>	۲۶/۲×۱۰ <sup>7</sup>	۸۵ درصد		+۱۰	
۱۰	مرد و ۱۳	Allo.BM	٪/۷۵×۱۰ <sup>8</sup>	۱۰×۱۰ <sup>7</sup>	۴۵ درصد	۵۰۰ زیر +۷۴		+۳۸
۱۱	مرد و ۱۵	AlloPBSCT	۲/۳۹×۱۰ <sup>8</sup>	۵۶/۶×۱۰ <sup>7</sup>	۹۰ درصد	زیر ۵۰۰ نداشت	زیر ۲۰۰۰۰	
۱۲	مرد و ۱۱	AlloPBSCT	۳/۷×۱۰ <sup>8</sup>	۶۶/۶×۱۰ <sup>7</sup>	۵۰ درصد	زیر ۵۰۰ نداشت	زیر ۲۰۰۰۰	
۱۳	مرد و ۶	AlloPBSCT	۴۸/۰۳×۱۰ <sup>8</sup>	۳۸/۸×۱۰ <sup>7</sup>	۵۰ درصد	زیر ۵۰۰ نداشت	زیر ۲۰۰۰۰	

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

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

بیمار دچار GVHD 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

هرچند برخی مطالعات نشان نداده‌اند که بروز GVHD حاد بعد از پیوند غیر ریشه‌کن کننده کاهش یافته باشد [۱۲]، اما آنچه تایید مطالعه ما نشان می‌دهد عارضه GVHD حاد در تعداد قابل توجهی از بیماران (۸ نفر از بیماران مورد مطالعه) رخ نداد و از ۵

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  $1 \times 10^7$  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  $1 \times 10^7$  سلولی دوز سلولی  $1 \times 10^8$  و جهت چهارمین DLI دوز سلولی  $3/2 \times 10^8$  سلول به‌ازای CD<sub>3</sub> 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 ۱۵ روز بعد از DLI قبلی بود. بیماران بر اساس نتایج بررسی کیمریسم با روش‌های VNTR، STR یا سیتوژنتیک تحت درمان با دوزهای مختلف سلول‌های لنفوцитی دارای CD<sub>3</sub> همچنین سلول‌های بنیادی دارای CD<sub>34</sub> قرار گرفتند. در مورد بیمار شماره ۱ به علت افت کیمریسم در روز +۵۶ 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 ۶ نیز انجام دیررس DLI در افزایش کیمریسم دهنده ناتوان بود. در مورد بیمار شماره ۷ همانند بیمار شماره ۱ دوز سلولی تاکافی انفوژیون 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 +۱۴۱، افت مجدد کیمریسم به صفر درصد در روز +۱۹۸ می‌توانست به‌علت نادرست بودن پاسخ VNTR در روز +۱۴۱ باشد؛ به هر حال بعد از گزارش VNTR صفر درصد، انجام DLI به‌طور مکرر نتوانست در نتایج کیمریسم دهنده بعدی تغییری حاصل نماید. در مورد بیمار شماره ۱۱ نیز مقادیر لنفوцитی دریافتی پایین خصوصاً 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

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 لوسی، بیماران دچار تالاسمی از اثر پیوند علیه لوسی مرتب با ایجاد GVHD مزمن نفعی نمی‌برند [۱۶]. نتیجه‌گیری دیگر اینکه چنانچه تا یک‌سال بعد از پیوند مغز استخوان بیماران تالاسمی، بیماری عود نکند عواد بیماری تالاسمی غیرمحتمل می‌باشد و این امر در مطالعات دیگر نیز تأکید شده است [۱۶]. نکته قابل توجه دیگر اینکه وقوع عوارض گزارش شده بعد از پیوند مغز استخوان معمول ریشه کن کننده نظری موکوزیت، سیستیت هموراژیک، بیماری انسدادی وریدی کبدی و تهوع یا اسهال شدید که بیشتر مربوط به سمیت داروهای به کار رفته در رژیم‌های آماده سازی این نوع پیوندها می‌باشد، در پیوندهای غیر ریشه‌کن کننده با اساس فلودارایین 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 خفیف ملاحظه شد. براساس نتایج بررسی ما در مورد میزان گرفتن پیوند یا به عبارتی میزان کیمریسم بعد از پیوند، تقریباً ارتباط مستقیمی بین میزان سلول‌های CD<sub>3</sub> و CD<sub>34</sub> دریافتی در زمان پیوند و میزان کیمریسم در روز +۲۸ بعد از پیوند وجود داشت و در مواردی که تعداد سلول‌های CD<sub>3</sub> دریافتی بیشتر از  $3 \times 10^8$  سلول به‌ازای کیلوگرم یا سلول‌های CD<sub>34</sub> دریافتی بیشتر از  $3 \times 10^7$  سلول بود، در اغلب موارد میزان کیمریسم اولیه ۸۰ درصد یا بیشتر ملاحظه می‌شد و در مواردی که سلول‌های CD<sub>3</sub> و CD<sub>34</sub> 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<sub>34</sub> و CD<sub>3</sub> 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 بر جسته سلول‌های CD<sub>34</sub> 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 هماتopoیتیک شود [۱۹]. در این مطالعه ما سعی کردیم با انجام DLI به‌روش تدریجاً افزاینده (Escalated)

مذکور و انجام اصلاحات مهمی همچون: ۱) افزایش شدت رژیم آماده‌سازی خصوصاً با افزایش دوز داروی مهار کننده اینمی نظری فلودارابین؛ ۲) افزایش دوز سلول‌های CD<sub>34</sub> دریافتی در زمان پیوند؛ ۳) توجه به زمان مناسب انفوژیون لغوشیتی دهنده (DLI) بر اساس نتایج کیمریسم و انجام DLI در زمانی که کیمریسم سلولی دهنده در مقادیر بالاتر از ۳۰ درصد می‌باشد و ۴) قطع سریع‌تر داروی سیکلوسپورین جهت پروفیلاکسی بالاخص با توجه 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 ریشه‌کن کننده سلول‌های بنیادی آلوژنیک جهت درمان بیماران مبتلا به بتاتالاسمی نوع ۳ با میزان شکست پیوند بالای 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 هماتوپوئیتیک غیر ریشه‌کن کننده با داشتن عوارض جانبی و میزان مرگ و میر متعاقب پیوند کمتر نسبت به روش‌های مرسوم می‌تواند به عنوان یک درمان شفابخش جهت این بیماران پیشنهاد شود؛ به شرط آنکه با انجام اقدامات مهمی همچون افزایش دوز داروهای مهار کننده اینمی در رژیمهای آماده سازی و افزایش میزان سلول‌های بنیادی انفوژیون شده در زمان پیوند، هم‌چنین کاهش میزان و طول مدت دریافت داروهای به کار رفته به منظور پیشگیری از عارضه‌ای GVHD نظیر سیکلوسپورین و انجام DLI با دوز کافی و در زمان مناسب از میزان شکست این روش درمانی کاسته شود.

### تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان از ریاست محترم و پرسنل رحمت‌کش بخشن پیوند مغز استخوان بیمارستان دکتر شریعتی تهران به دلیل همکاری وافر و بی‌شایبه در زمینه‌ی اجرای این تحقیق کمال تشکر و سپاس را دارند.

### References:

- [1] Pianatti CB, Galavello R. Thalassemia and related disorders: Quantitative disorders of

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 به طور تا خیری نتوانست در افزایش میزان کیمریسم دهنده و موفقیت پیوند موثر باشد. در مجموع در دو مورد شماره ۹ و ۱۰ مرگ متعاقب پیوند به ترتیب به علت وقوع عارضه GVHD شدید و نارسایی (آپلازی) مغز استخوان رخ داد و در دو مورد بیماران شماره ۴ و ۵ متعاقب قطع سریع سیکلوسپورین به عنوان داروی پیشگیری کننده از واکنش پیوند علیه انسان (GVHD) کیمریسم دهنده کامل و سوراوایوال عاری از تالاسمی ۵ 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<sub>34</sub> و CD<sub>3</sub> به میزان 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 تا خیری؛ ۴) انجام DLI با دوز سلول‌های دریافتی CD<sub>3</sub> ناکافی و یا انجام دادن آن به طور تا خیری نسبت به نتایج بررسی کیمریسم با STR، سیتوژنتیک یا VNTR؛ ۵) 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؛ ۶) فقدان عوارض شایع بعد از DLI هم‌چون GVHD و آپلازی مغز استخوان در مطالعه‌ی 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 مطالعه‌ی ما و نتایج مطالعات دیگر شکست قابل ملاحظه پیوند غیر ریشه‌کن کننده جهت درمان بیماری بتاتالاسمی ملاحظه شده است که عمدتاً به این علت است که به واسطه حساس شدن بیماران چهار تالاسمی به آنتیژن‌های سازگاری نسبی دهنده که به واسطه 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

hemoglobin synthesis. In: Creer Jp, Foerster, Rodges GM, ParasReras F, Glander B, Daniel A.

- Wintrob's Clinical hematology. 12<sup>th</sup> 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. 8<sup>th</sup> 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. 2<sup>nd</sup> 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 transplantation 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.