

# Ishod liječenja pacijenata s akutnom reakcijom darivatelja protiv primatelja nakon transplantacije krvotvornih matičnih stanica u periodu 2019. - 2020. u Kliničkom bolničkom centru Zagreb

---

**Pudić, Matilda**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:608872>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-10-17**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Matilda Pudić**

**Ishod liječenja pacijenata s akutnom reakcijom  
darivatelja protiv primatelja nakon  
transplantacije krvotvornih matičnih stanica u  
periodu 2019. - 2020. u Kliničkom bolničkom  
centru Zagreb**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2022.**

Ovaj diplomski rad izrađen je na Zavodu za hematologiju Klinike za internu medicinu Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Kliničkog bolničkog centra Zagreb pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Nadire Duraković, dr. med. i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2021./2022.

## POPIS KRATICA

APC – antigen-prezentirajuće stanice

ATG – antitimocitni globulin

BIS – Bolnički informacijski sustav

CTL – citotoksični T limfociti

ECP – ekstrakorporalna fotofereza (prema engl. *extracorporeal photopheresis*)

GVHD – bolest presatka protiv primatelja (prema engl. *graft-versus-host disease*)

HLA – humani leukocitni antigeni

HSCT – transplantacija krvotvornih matičnih stanica (prema engl. *hematopoietic stem-cell transplantation*)

IFN- $\gamma$  – interferon-gama

IL – interleukin

JAK – Janus kinaza

KBC – Klinički bolnički centar

KMS – krvotvorne matične stanice

KS – koštana srž

MAC – mijeloablativno kondicioniranje (prema engl. *myeloablative conditioning*)

MHC – glavni kompleks tkivne podudarnosti (prema engl. *major histocompatibility complex*)

MiHA – slabi antigeni tkivne podudarnosti (prema engl. *minor histocompatibility antigens*)

MMF – mikofenolat mofetil

MRD – srodan podudarni darivatelj (prema engl. *matched related donor*)

mTOR – cilj rapamicina sisavaca (prema engl. *mammalian target of rapamycin*)

MUD – nesrodan podudarni darivatelj (prema engl. *matched unrelated donor*)

NK stanice – prirodno ubilačke stanice (prema engl. *natural-killer cells*)

NMA – nemijeloablativno kondicioniranje (prema engl. *non-myeloablative conditioning*)

PK – periferna krv

RIC – kondicioniranje smanjenog intenziteta (prema engl. *reduced-intensity conditioning*)

TCR – T stanični receptor (prema engl. *T cell receptor*)

TLR – Toll-u slični receptori (prema engl. *Toll-like receptors*)

TNF- $\alpha$  – čimbenik tumorske nekroze alfa (prema engl. *tumor necrosis factor alpha*)

## Sadržaj

### SAŽETAK

### SUMMARY

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. Definicija i patogenezna akutne bolesti darivatelja protiv primatelja .....	1
1.2. Incidencija i čimbenici rizika .....	3
1.3. Klinička slika .....	4
1.4. Dijagnoza i određivanje stadija .....	5
1.5. Liječenje .....	7
1.6. Prevencija .....	9
<b>2. CILJ RADA</b> .....	10
<b>3. ISPITANICI I METODE</b> .....	11
3.1. Ispitanici .....	11
3.2. Metode .....	12
<b>4. REZULTATI</b> .....	13
4.1. Osnovne značajke .....	13
4.2. Incidencija akutnog GVHD .....	13
4.3. Prva linija terapije .....	15
4.4. Steroid-refraktorni GVHD .....	16
4.5. Preživljenje .....	17
<b>5. RASPRAVA</b> .....	20
<b>6. ZAKLJUČCI</b> .....	23
<b>7. ZAHVALE</b> .....	24
<b>8. LITERATURA</b> .....	25
<b>ŽIVOTOPIS</b> .....	32

## SAŽETAK

### Ishod liječenja pacijenata s akutnom reakcijom darivatelja protiv primatelja nakon transplantacije krvotvornih matičnih stanica u periodu 2019. - 2020. u Kliničkom bolničkom centru Zagreb

Matilda Pudić

Akutna reakcija darivatelja protiv primatelja (GVHD) glavni je uzrok morbiditeta i mortaliteta nakon transplantacije krvotvornih matičnih stanica (KMS). Osnovni je patogenetski mehanizam imunološka reakcija stanica presatka protiv nepodudarnih tkiva primatelja. Bolest najčešće zahvaća kožu, probavni trakt i jetru, ali incidencija i težina bolesti variraju. Unatoč brojnim istraživanjima, još uvijek ne postoji optimalan pristup liječenju ove bolesti.

Cilj je ovoga rada bio analizirati odgovor na terapiju pacijenata s akutnim GVHD-om, pri čemu su retrospektivno analizirani podatci 26 odraslih pacijenata koji su nakon alogene transplantacije KMS razvili klinički značajan akutni GVHD.

Incidencija akutnog GVHD-a iznosila je 22,5%, a GVHD je bio ukupnog stadija II ili višeg u 16,3% ukupnog broja transplantiranih pacijenata. Na prvu liniju terapije odgovorilo je 50% pacijenata s klinički značajnim akutnim GVHD-om. Troje (11,5%) je pacijenata u tijeku liječenja prvom linijom preminulo, a ostatak, 38,5% razvio je steroid-refraktorni GVHD. U liječenju steroid-refraktornog GVHD-a korišteni su ekstrakorporalna fotofereza i ruksolitinib. 33,3% pacijenata liječenih fotoferezom u drugoj liniji na terapiju je odgovorilo. Također, 33,3% odgovorilo je na ruksolitinib u drugoj liniji terapije.

Preminulo je 46,2% pacijenata s klinički značajnim akutnim GVHD-om. Najčešći uzrok smrti, u 50% slučajeva, bila je progresija GVHD-a. Preživljenje u skupini bolesnika koji su odgovorili na lijek prve linije, odnosno na terapiju kortikosteroidima, iznosilo je 83,0%, dok je preživljenje bolesnika sa steroid-refraktornim GVHD-om iznosilo 28,5%. Ta je razlika, prema log-rank testu, statistički značajna. ( $p=0,0031$ )

S obzirom na značajan utjecaj razvoja steroid-refraktornog GVHD-a na smrtnost pacijenata, kako u našem istraživanju, tako i u dostupnoj literaturi, odgovor na prvu liniju terapije smatra se najvažnijim prediktorom dugoročnog preživljenja.

Ključne riječi: GVHD, incidencija, preživljenje, steroid-refraktorni

## SUMMARY

### **Treatment outcome in patients with acute graft versus host disease after hematopoietic stem cell transplantation in University Hospital Centre Zagreb in the period from 2019. to 2020.**

Matilda Pudić

Acute graft-versus-host disease (GVHD) is major cause of morbidity and mortality following hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). Main pathogenetic mechanism is immunologic reaction of the graft cells against the recipient tissues due to histocompatibility mismatch. The disease most commonly affects skin, gastrointestinal tract and the liver, but the incidence and the severity of the symptoms vary. Despite numerous research, there is still no optimal therapeutic strategy.

The aim of this paper was to analyse therapeutic response in patients with acute GVHD. The study included 26 adult patients who developed clinically significant acute GVHD following allogeneic HSCT and their data was analysed retrospectively.

The incidence of the acute GVHD was 22,5%. 16,3% of the total number of the patients developed grade II or higher GVHD. First-line therapy response was 50% of the patients with clinically significant GVHD. Three (11,5%) patients died during first-line treatment, while others, 38,5% of the total number of the patients, developed steroid-refractory GVHD. Extracorporeal photopheresis (ECP) and ruxolitinib were used for the treatment of the steroid-refractory GVHD. 33,3% of the total number of the patients treated with ECP responded to the therapy. The response rate for the treatment with ruxolitinib was 33,3%, as well.

46,2% of the patients with clinically significant GVHD have died. The most common cause of death, in 50% of the cases, was the progression of the GVHD. Overall survival in the group of the patients who responded to the first-line therapy was 83,0%, while the survival of the patients with the steroid-refractory GVHD was 28,5%. This difference, according to the log-rank test, was statistically significant. ( $p=0,0031$ )

Given the substantial effect that developing of the steroid-refractory GVHD has on the GVHD mortality, response to the first-line therapy is considered to be the most important predictor of the long-term survival.

Key words: GVHD, incidence, steroid-refractory, survival



## 1. UVOD

### 1.1. Definicija i patogeneza

Reakcija darivatelja protiv primatelja (bolest presatka protiv primatelja, engl. *graft-versus-host disease*, GVHD) komplikacija je alogene transplantacije krvotvornih matičnih stanica (engl. *hematopoietic stem cell transplantation*, HSCT). Pri alogenoj transplantaciji, koriste se krvotvorne matične stanice srodnika ili podudarnog nesrodnog darivatelja.(1) Najčešća su indikacija za HSCT hematološke maligne bolesti pri kojima je jedan od terapijskih mehanizama i učinak presatka protiv leukemije, a karakterizira ga prepoznavanje i uništavanje tumorskih stanica obnovljenim imunološkim sustavom podrijetlom od darivatelja.(2) HSCT se koristi i za liječenje nasljednih i stečenih poremećaja hematopoeze te prirođenih metaboličkih grešaka.(1) Nakon kondicioniranja, odnosno pripreme primatelja kemoterapijom s ili bez radioterapije, s ciljem uništavanja malignih stanica i imunosupresije, pluripotentne matične stanice primjenjuju se intravenski. Izvor krvotvornih matičnih stanica može biti koštana srž ili periferna krv darivatelja nakon stimulacije čimbenicima rasta granulocita. (1,2) GVHD je glavno ograničenje za uspjeh transplantacije i čini glavni uzrok morbiditeta i mortaliteta nakon transplantacije KMS (krvotvornih matičnih stanica).(2) Na temelju histološkog obrasca, patogenetskog mehanizma, vremena pojave i kliničke slike, GVHD se može klasificirati u akutni i kronični oblik.(2,3) Kronični se GVHD može javiti nakon akutnog ili se pojaviti neovisno o njemu. (1)

GVHD je sistemski upalni odgovor posredovan imunološkim sustavom darivatelja koji može dovesti do opsežnih multiorganskih oštećenja. Posredovan je zrelim T stanicama darivatelja koje pri interakciji s antigen prezentirajućim stanicama (engl. *antigen-presenting cells*, APC) primatelja i darivatelja luče proinflamatorne citokine uzrokujući proliferaciju aktiviranih stanica i oštećenje ciljnih tkiva.(4) Billingham je 1966. godine definirao tri predujeta za razvoj GVHD-a. Prvi je dovoljan broj imunokompetentnih stanica u presatku, drugi se odnosi na nemogućnost primatelja da odbaci stanice presatka, a treći je prisustvo tkivnih antigena primatelja koji nisu prisutni u darivatelja te se stoga prepoznaju kao strani.(5)

Razvoj akutnog GVHD-a možemo razmatrati kroz tri faze.(6) Prva faza počinje prije transplantacije. Oštećenje tkiva uzrokovano brojnim čimbenicima - osnovnom bolešću,

njenim liječenjem te kondicioniranjem prije transplantacije uzrokuje povećano lučenje upalnih citokina kao što su interleukin-1 (IL-1), čimbenik tumorske nekroze-alfa (engl. *tumor necrosis factor alfa*, TNF- $\alpha$ ), interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) i kemokina poput CCL2-5 i CXCL9-11, što uzrokuje povećanu ekspresiju adhezijskih molekula, proteina glavnog kompleksa tkivne podudarnosti (engl. *major histocompatibility complex*, MHC) i kostimulatornih molekula na APC stanicama primatelja.(7,8) Aktivacija APC ključna je za stimulaciju T stanica darivatelja nakon transplantacije. Aktivaciju APC pojačavaju i razgradni produkti mikroorganizama (npr. lipopolisaharid) iz gastrointestinalnog trakta, do čije translokacije u sistemska cirkulaciju dolazi nakon oštećenja crijevne stijenke kondicioniranjem.(9)

Drugu fazu karakterizira aktivacija, proliferacija, diferencijacija i migracija T stanica darivatelja u odgovoru na APC.(8) Proteini glavnog kompleksa tkivne podudarnosti (MHC), u ljudi nazvani humani leukocitni antigeni (engl. *human leukocyte antigens*, HLA), osnova su imunološke podudarnosti tkiva.(10) Kodirani su klasterom gena na kratkom kraku šestog kromosoma, a nasljeđuju se kodominantno.(11) Budući da nepodudarnost u HLA genima uzrokuje snažnu imunološku reakciju, pri izboru darivatelja za alogenu HSCT provodi se tipizacija HLA.(12) U HLA nepodudarnih transplantacija, T stanični receptori (engl. *T cell receptors*, TCR) prepoznaju antigene koje prezentiraju APC primatelja i darivatelja, odnosno prepoznaju peptide vezane na MHC molekule primatelja, kao i same MHC molekule primatelja prezentirane na MHC molekulama darivatelja. (13,14) Zbog postojanja slabih antigena tkivne podudarnosti (engl. *minor histocompatibility antigens*, MiHA), i pri HLA podudarnih transplantacija postoji rizik od razvoja GVHD-a.(15) MiHA su peptidi nastali iz unutarstaničnih proteina koji se razlikuju zbog polimorfizma kodirajućih gena, a neke od njih kodiraju i geni na Y kromosomu.(3,15) Prezentiraju ih APC putem MHC molekula, a kompleks MHC i MiHA T limfociti prepoznaju kao strani antigen te pokreću reakciju protiv njega.(3) Aktivacija TCR uzrokuje konformacijske promjene adhezijskih molekula i uzrokuje vezanje na APC jačim intenzitetom.(16) Potpuna aktivacija T limfocita rezultat je složene interakcije između kostimulatornih molekula s ligandima na APC.(8) Aktivacija stanica pokreće unutarstanične signalne putove i uzrokuje lučenje citokina koji se klasificiraju u skupinu Th1 (interleukin-2 i interferon- $\alpha$ ) ili Th2 (interleukin-4, interleukin-5, interleukin-10 i interleukin-13).(6) Ti citokini zatim aktiviraju druge T stanice te druge

stanice imunološkog sustava, poput monocita i prirodnoubilačkih stanica (engl. *natural killer cells*, NK stanice).(3)

Treća je faza obilježena kaskadnim reakcijama upalnih i staničnih medijatora koji djeluju sinergistički razarajući ciljna tkiva. Udruženo djeluju sastavnice urođene i stečene imunosti te citokini i stanice iz početnih faza.(8) Citotoksični T limfociti (engl. *cytotoxic T cells*, CTL) glavne su izvršiteljske stanice koje uzrokuju lizu ciljnih stanica Fas/Fas ligand signalinim putem te perforin/granzin mehanizmom.(17) Proupalni citokini poput TNF- $\alpha$  i IL-1 također uzrokuju oštećenje ciljnih tkiva. Poticaj za njihovo lučenje je aktivacija Toll-u sličnih receptora (engl. *Toll-like receptors*, TLR) razgradnim proizvodima mikroorganizama kroz oštećenu sluznicu probavnog sustava u početnoj fazi.(18) TNF- $\alpha$  proizvode i stanice darivatelja i stanice primatelja. Uzrokuje aktivaciju APC, produkciju kemokina te izravno oštećenje tkiva uzrokovanjem apoptoze i nekroze.(8)

## 1.2. Incidencija i čimbenici rizika

Akutni se GVHD razvija nakon 35%-50% alogenih HSCT.(19) GVHD je jedan od glavnih uzroka morbiditeta i mortaliteta transplantiranih pacijenata, a mortalitet oboljelih od GVHD-a iznosi 15%.(20) U Kliničkom bolničkom centru (KBC) Zagreb tijekom 2018. godine akutni GVHD je razvilo 44,9% transplantiranih pacijenata.(10)

Prepoznati su brojni rizični čimbenici za razvoj i težinu GVHD-a, a osnovni je HLA-nepodudarnost. Što je veća HLA-nepodudarnost, veća je vjerojatnost razvoja GVHD-a.(20,21) Incidencija je akutnog GVHD-a viša nakon transplantacije krvotvornih matičnih stanica od nesrodnog HLA-podudarnog darivatelja.(22) Također, povećana incidencija povezana je i s genetskim razlikama izvan HLA regije, odnosno u polimorfnim peptidima, MiHA.(23)

Intenzitet kondicioniranja za transplantaciju značajan je čimbenik rizika. Kondicioniranje kemoterapijom u visokim dozama ili zračenjem cijelog tijela doprinosi oštećenju tkiva i razvoju upalne reakcije koja pogoduje nastanku GVHD-a.(3)

Utjecaj na incidenciju ima i vrsta odnosno doza primijenjene profilakse.(3) Primjena takrolimusa i metotreksata ima povećan rizik razvoja GVHD-a u odnosu na primjenu kombinacije ciklosporina i metotreksata.(22)

Utjecaj izvora krvotvornih matičnih stanica na incidenciju nije jednoznačno potvrđen, iako rezultati meta-analiza upućuju na povećanu incidenciju GVHD-a u pacijenata nakon transplantacije krvotvornih matičnih stanica iz periferne krvi, što se tumači povećanim brojem T limfocita u presatku.(24,25) Krvotvorne matične stanice iz pupčane vrpce alternativan su izvor za transplantaciju. Budući da se radi o imunološki naivnim stanicama, veći stupanj nepodudarnosti između darivatelja i primatelja rezultira sličnom incidencijom i ishodom GVHD-a kao i pri podudarnim transplantacijama od srodnog darivatelja.(26) Glavni je ograničavajući čimbenik mala količina stanica; zbog toga je moguća i transplantacija iz dviju pupčanih vrpca, ali pri tome je utvrđena povećana incidencija akutnog GVHD-a.(27)

Dob darivatelja i primatelja važan je čimbenik rizika.(28) Također, povećanu incidenciju uzrokuju i razlike u spolu između darivatelja i primatelja.(28) Posebno velik rizik predstavlja transplantacija od žene multipare ako je primatelj muškarac, što se tumači alosenzitizacijom na antigene kodirane genima s Y kromosoma tijekom trudnoće.(29) Na isti se način tumači povećana incidencija nakon transplantacije od donora s transfuzijama u anamnezi.(3) Seropozitivnost darivatelja i primatelja na Epstein-Barr i citomegalovirus te splenektomija u anamnezi još su neki od čimbenika rizika.(3,29)

Na razvoj GVHD-a utječe i postojanje komorbiditeta te primarna bolest, a najveća je učestalost primijećena uz kroničnu mijeloičnu leukemiju.(3)

### 1.3. Klinička slika

Simptomi akutnog GVHD-a se u većini slučajeva pojavljuju unutar 100 dana od transplantacije, što je bila osnova za prvobitnu podjelu na akutni i kronični.(30) Pojava simptoma akutnog GVHD-a moguća je i kasnije od navedenog perioda, a prema klasifikaciji Nacionalnog instituta za zdravlje možemo ih svrstati u akutni GVHD kasnog početka te u sindrom preklapanja karakteriziran simptomima i akutnog i kroničnog GVHD-a.(31) Povećana učestalost navedenih oblika uzrokovana je češćom primjenom kondicioniranja reduciranog intenziteta.(32) Akutni GVHD u 81% pacijenata zahvaća kožu, u 54% gastrointestinalni trakt, a u 50% jetru.(30)

Najčešća manifestacija GVHD-a je makulopapularni osip koji svrbi. Zahvaćanje kože je i najranija manifestacija. U početku najčešće zahvaća stražnju stranu vrata, uši i ramena te dlanove i tabane. Blagi oblici prolaze spontano ili u odgovoru na protuupalne

lijekove, uz postupalne dispigmentacije. Teže oblike karakterizira progresija i generalizirana eritrodermija, stvaranje bula te deskvamacija, a moguć je i nastanak epidermalne nekrolize.(3) Razmatrajući dijagnozu GVHD kože, u obzir treba uzeti i oštećenja kože uzrokovana kemoterapijom te virusne egzanteme.(33)

Probavni sustav može biti zahvaćen na bilo kojoj razini. Simptomi koji upućuju na zahvaćenost gastrointestinalnog sustava su mučnina, povraćanje, grčevi, distenzija, paralitički ileus, krvarenje iz gastrointestinalnog trakta, te proljev koji je obilan i često krvav.(34) Ovi nespecifični simptomi mogu biti rezultat predtransplantacijskog kondicioniranja, antibiotske terapije i superinfekcije bakterijom *Clostridium difficile*, a mogu biti uzrokovani i virusnim infekcijama.(3,19)

Akutni GVHD gornjeg dijela probavnog trakta opisuje se kao poseban klinički entitet karakteriziran gubitkom apetita, dispepsijom, nepodnošljivošću hrane, mučninom i povraćanjem.(35)

Najranija je jetrena manifestacija žutica s konjugiranom hiperbilirubinemijom te povišena razina alkalne fosfataze zbog kolestaze uzrokovane oštećenjem žučnih kanalikula.(34) Vrijednosti aminotransferaza mogu biti unutar normalnih, iako su opisane i hepatitičke varijante koje povišenim aminotransferazama oponašaju akutni virusni hepatitis.(3,36) Diferencijalno dijagnostički u obzir dolazi venookluzivna bolest uzrokovana visokim dozama lijekova, infekcija, sepsa, preopterećenje željezom te toksični učinci lijekova.(32)

Uz osnovne manifestacije akutnog GVHD-a, još neke od komplikacija HSCT povezane su s reakcijom darivatelja protiv primatelja. Mogu zahvaćati pluća, bubrege, oči te hematopoezu s posebnim naglaskom na smanjenje broja trombocita u perifernoj krvi.(3)

#### 1.4. Dijagnoza i određivanje stadija

Dijagnoza akutnog GVHD-a temelji se na kliničkoj slici, a za potvrdu dijagnoze koristi se biopsija, iako patohistološki nalaz nije uvijek patognomoničan.

Histološke karakteristike akutnog GVHD-a kože uključuju diskeratozu, egzocitozu limfocita, depleciju Langerhansovih stanica, vakuolarnu degeneraciju bazalnog sloja epidermisa, pojavu apoptotičkih keratinocita, apoptozu epitela folikula, pojavu vezikula

u bazalnom sloju te potpuno odvajanje epidermisa od dermisa.(3) Uz apoptotičke keratinocite vidljivi su limfociti („satellite cell necrosis“), što upućuje na to da limfociti u interakciji s keratinocitima uzrokuju njihovu apoptozu.(37) Važan rani dijagnostički znak je povećana ekspresija HLA-DR na keratinocitima.(37)

Evaluacija simptoma zahvaćenosti probavnog sustava uz endoskopiju s biopsijom, obuhvaća kulturu stolice i radiološke pretrage. Radiološki mogu biti vidljivi dilatacija lumena i zadebljanje stijenke tankog crijeva ( karakteristični znak „vrpce“ na CT-u) te aerolikvidni nivoi kao znak ileusa.(38) Endoskopski nalaz varira od normalnog do opsežnog edema, ljuštenja sluznice crijeva te difuznog krvarenja širom gastrointestinalnog trakta.(3) Promjene su obično najizraženije u području ileuma, cekuma i uzlaznog kolona, iako mogu zahvaćati i ostale dijelove probavnog trakta.(34) Patohistološki nalaz ukazuje na nekrozu epitelnih stanica kripti i postojanje kriptalnih apscesa.(39) Imunohistokemijski dokazana povećana ekspresija adhezijskih molekula, poput VCAM-1, na enterocitima(40)

Iako je biopsija korisna u postavljanju dijagnoze GVHD-a jetre, postoji veliki rizik od krvarenja pri izvođenju biopsije nakon HSCT.(3) Histološki, GVHD jetre prezentira se limfocitnom infiltracijom i oštećenim žučnim kanalima s nuklearnim polimorfizmom epitelnih stanica.(3)

Određivanje ukupnog stadija akutnog GVHD-a klinička je procjena koja se temelji na kombinaciji stupnjeva zahvaćenosti pojedinih organa te općeg tjelesnog stanja ocijenjenog pomoću ECOG ljestvice. Ima velik utjecaj na preživljenje i važna je za procjenu učinkovitosti profilakse i liječenja.(3) Podjela se temelji na četiri stadija ovisno o težini kliničke slike.

Tablica 1. Određivanje stupnja zahvaćenosti pojedinog organa akutnim GVHD-om

<b>organ</b>	<b>stadij 1</b>	<b>stadij 2</b>	<b>stadij 3</b>	<b>stadij 4</b>
<b>koža</b>	osip koji zahvaća <25% tjelesne površine	osip 25-50% tjelesne površine	generalizirana eritrodermija	generalizirana eritrodermija s formiranjem bula
<b>jetra</b>	bilirubin 34,2 – 51,3 µmol/l	bilirubin 51,4-102,6 µmol/l	bilirubin 102,7-256,5 µmol/l	bilirubin >256,5 µmol/l
<b>crijeva</b>	proljev >500 ml/dan	proljev >1000 ml/dan	proljev >1500 ml/dan	proljev >2000 ml/dan ili teška abdominalna bol s ili bez ileusa

Tablica 2. Određivanje ukupnog stadija akutnog GVHD-a

ukupni stadij	koža	Jetra	Crijeva	ECOG rezultat
<b>I (ograničen)</b>	+1 do +2	0	0	0
<b>II (umjereno teški)</b>	+1 do +3	+1	i/ili +1	0-1
<b>III (teški multiorganski)</b>	+2 do +3	+2 do +4	i/ili +2 do +3	2-3
<b>IV (životno-ugrožavajući)</b>	+2 do +4	+2 do +1	i/ili +2 do +4	3-4

### 1.5. Liječenje

Izbor lijeka ovisi o težini simptoma, zahvaćenim organima i primijenjenoj profilaksi.(41) Cilj djelovanja većine lijekova su T stanice darivatelja, čijom se imunosupresijom postiže kontrola bolesti, ali i povećava opasnost od infekcija te od relapsa, zbog smanjenog učinka presatka protiv tumora.(42)

Za ograničeni akutni GVHD prvog stadija, preporučena je primjena kortikosteroida topikalno. Jakost topikalnih kortikosteroidnih pripravaka prilagođava se ovisno o lokalizaciji lezije.(43) U steroid-refraktornog GVHD-a prvog stadija indicirana je topikalna primjena inhibitora kalcineurina takrolimusa.(43)

Lijek prvog izbora za akutni GVHD stadija II – IV (klinički značajan akutni GVHD) je sistemska primjena kortikosteroida, zbog njihova limfolitičkog i protuupalnog djelovanja.(43) Uz kortikosteroide, nastavlja se primjena lijekova korištenih za profilaksu. Rane su studije pokazale da u 44% bolesnika dolazi do potpunog ili parcijalnog odgovora.(44) Optimalna doza i trajanje terapije varira. Uputno je liječenje započeti s dozama ekvivalentnim 1-2 mg/kg/dan prednizona, 1 mg/kg/dan za GVHD drugog stadija, a 2 mg/kg/dan za stadije III i IV.(41,43) Po postizanju kontrole simptoma slijedi postupno smanjivanje doze. Doze veće od 2 mg/kg/dan nisu rutinski preporučljive, budući da istraživanja nisu pokazala prednosti primjene doza od 10mg/kg/dan u odnosu na doze od 2 mg/kg/dan metilprednizolona, a uzimajući u obzir i nuspojave.(45) Za GVHD crijeva, učinkovit je dodatak neapsorbirajućih kortikosteroida, budezonida ili beklometazona, čije je djelovanje ograničeno na probavni trakt, tako smanjujući dozu steroida primijenjenih sistemski.(43) Njihova je primjena kontraindicirana u slučaju gastrointestinalne infekcije.(10)

Uz etiološko liječenje, važna je i adekvatna potporna terapija. U gastrointestinalnim oblicima nužna je adekvatna nadoknada tekućine i elektrolita.(42) Za kontrolu proljeva korisna može biti primjena oktreotida.(10) U pacijenata s kožnim lezijama primjenjuju se hidratantne kreme te zaštita od ultraljubičastog zračenja i infekcija rana.(46) U pacijenata sa svrbežom korisna može biti i primjena antihistaminika.(42) Poseban je naglasak na prevenciji i kontroli infekcija nakon HSCT.(47)

Smatra se da se nakon pet dana od početka liječenja može utvrditi koji pacijenti imaju steroid-refraktan GVHD.(48) Primijena druge linije terapije indicirana je u pacijenata u kojih je izostao odgovor nakon pet dana liječenja metilprednizolonom u dozi od 2 mg/kg/dan uz inhibitor kalcineurina te u pacijenata s progresijom simptoma unutar 72h.(43) Također, indikacija za primjenu lijekova druge linije je i steroid-ovisan GVHD, odnosno ponovno pogoršanje bolesti nakon smanjenja doze kortikosteroida.(10) Lijekovi druge linije uključuju primjenu ekstrakorporalne fotoforeze (engl. *extracorporeal photopheresis*, ECP), mikofenolat mofetil (MMF), inhibitore signalnog puta mTOR (cilj rapamicina sisavaca, engl. *mammalian target of rapamycin*) te inhibitore Janus kinaze (JAK).(46) U primijeni su i monoklonalna protutijela na citokin TNF- $\alpha$  te na receptor citokina IL-2, kao i poliklonalna mješavina protutijela na multiple epitope ljudskih limfocita T nazvana antitimocitni globulin (ATG).(8,43) ECP je imunomodulatorna terapija u kojoj se leukocite izolirane iz bolesnikove periferne krvi, nakon dodatka fotoaktivnog agensa (8-metoksipsoralena), izlaže ultraljubičastim-A zrakama i potom reinfundira u organizam. Terapijski učinci ECP uključuju indukciju apoptoze leukocita, otpuštanje protuupalnih citokina te produkciju imunosupresivnih regulatornih T stanica.(49) Nuspojave su ECP blage, poput hipotenzije, vrućice i snižene razine serumskog hemoglobina, a nije utvrđen povećan rizik od infekcije ni relapsa primarne bolesti.(43) MMF je imunosupresivni lijek ograničene učinkovitosti u liječenju akutnog GVHD-a, a djeluje na proliferaciju limfocita B i T.(43) Inhibitori signalnog puta mTOR, poput sirolimusa, inhibiraju stanični ciklus T limfocita.(3) Potreban je povećan oprez prilikom njihove primjene zbog interakcija s drugim lijekovima te zbog nuspojava poput hiperlipidemije, mijelosupresije te hemolitičko-uremijskog sindroma.(43) Ruksolitinib je JAK inhibitor, a imunosupresivni učinak postiže zaustavljanjem sinteze čimbenika rasta i proupalnih citokina.(46) Prema rezultatima retrospektivnog istraživanja, 87% pacijenata s akutnim GVHD-om stadija III i IV odgovorilo je na ruksolitinib, uz visoko šestomjesečno preživljenje (79%), a nisku



stopu relapsa (7%).(50) Nuspojave takve terapije su pancitopenija i reaktivacija infekcije citomegalovirusom.(46)

Ne postoje stroge smjernice oko izbora lijeka druge linije, a preporuke su da se neadekvatan lijek druge linije zamijeni nekim drugim lijekom iz iste linije. U kontekstu lijekova treće linije spominju se lijekovi koji se još istražuju. To uključuje i primjenu mezenhimalnih matičnih stanica koje mogu modulirati upalni i imunološki odgovor te ubrzati obnavljanje vezivnog tkiva, a čiju je kliničku učinkovitost i terapijsku korist potrebno dodatno istražiti.(43,51)

## 1.6. Prevencija

Prevencija GVHD-a je obavezna u svih pacijenata koji se podliježu alogenoj HSCT i uključuje minimalizaciju rizika od razvoja bolesti adekvatnim izborom donora te farmakološku pripremu. Farmakološka profilaksa u pravilu započinje u neposrednom posttransplantacijskom periodu, sa smanjivanjem doze se započinje nakon stotog dana, a primjena se prekida oko 180. dana.(3) Standardni profilaktički režim karakterizira kombinacija dvaju lijekova, koja je učinkovitija od primjene istih lijekova pojedinačno, a primjenjuje se nakon mijeloablativnog kondicioniranja.(52) Najčešće se radi o kombinaciji inhibitora kalcineurina (npr. ciklosporin, takrolimus) s metotreksatom. Opisana je i primjena kombinacije takrolimusa i sirolimusa (mTOR inhibitor).(53) Kombinacija inhibitora kalcineurina s mikofenolat mofetilom uobičajeno se primjenjuje uz kondicioniranje smanjena intenziteta, jer uzrokuje bolje prihvaćanje presatka.(54)

Deplecija T limfocita druga je profilaktička strategija. Moguće ju je provesti ex vivo, prije infundiranja presatka, ili in vivo, za što se koriste alemtuzumab, monoklonsko protutijelo na antigen CD52 na površini limfocita ili antitimocitni globulin.(55,56) Oba su načina povezana s povećanim rizikom od odbacivanja presatka, nastanka teških infekcija ili relapsa primarne bolesti, pa se, unatoč velikoj učinkovitosti u prevenciji akutnog GVHD, prednost daje standardnom režimu.(8)

## **2. CILJ RADA**

Cilj je ovog rada analizirati odgovor na terapiju pacijenata s akutnim GVHD-om, odnosno utvrditi incidenciju steroid-refraktornog GVHD-a u pacijenata liječenih na Zavodu za Hematologiju pri Klinici za Internu Medicinu KBC-a Zagreb tijekom 2019. i 2020. godine.

### 3. ISPITANICI I METODE

#### 3.1. Ispitanici

U ovom su istraživanju retrospektivno analizirani podaci o pacijentima liječenim na Zavodu za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti KBC-a Zagreb. Riječ je o 26 odraslih pacijenata (>18 godina) koji su u periodu od 1.1.2019. do 31.12.2020. podvrgnuti alogenoj HSCT te potom razvili klinički značajan akutni GVHD. Demografske i kliničke karakteristike pacijenata su prikazane u tablici 3.

Tablica 3. Demografske i kliničke karakteristike ispitanika

<b>Ispitanici</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Medijan dobi, godine (raspon)	51 (19-68)	
Muškarci	11	42,3
Žene	15	57,7
<b>Indikacije za HSCT</b>		
AML	9	34,7
ALL	8	30,8
MbH	1	3,8
NHL	2	7,7
MDS	4	15,4
OMF	1	3,8
MPN	1	3,8
<b>Izvor</b>		
Periferna krv (PK)	24	92,3
Koštana srž (KS)	2	7,7
<b>Srodnost</b>		
Srodan – engl. <i>matched related donor</i> (MRD)	8	30,8
Nesrodan – engl. <i>matched unrelated donor</i> (MUD)	15	57,7
Haploidentičan	3	11,5
<b>Intenzitet kondicioniranja</b>		
Mijeloablativno – engl. <i>myeloablative conditioning</i> (MAC)	5	19,2
Ne-mijeloablativno – engl. <i>non-myeloablative c.</i> (NMA)	1	3,8
Smanjenog intenziteta – engl. <i>reduced-intensity c.</i> (RIC)	20	77,0

### 3.2. Metode

Iz medicinske dokumentacije pohranjene u Bolničkom informacijskom sustavu (BIS-u), prikupljeni su podatci o spolu i dobi pacijenta, datumu HSCT, karakteristikama donora, izvoru presatka, tipu kondicioniranja, datumu razvoja GVHD i početka terapije, ukupnom stadiju, dozi i lijeku prve linije, odgovoru na lijek prve linije, te potrebi za primjenom drugih lijekova, izbor lijeka te odgovor na njegovu primjenu. Navedeni su podatci retrospektivno analizirani metodama deskriptivne statistike, a rezultati prikazani brojčano, tablično i grafički. Za obradu podataka korišten je Microsoft Office Excel.

## 4. REZULTATI

### 4.1. Osnovne značajke

Tijekom 2019. i 2020. godine, na Zavodu za hematologiju, alogenoj je transplantaciji KMS podvrgnuto 160 pacijenata. Od toga je 81 (50.6%) ženskog, a 79 (49,4%) muškog spola. Prosječna dob pacijenata, izražena kao medijan, iznosila je 52 (18 – 70) godina. Podatci o podrijetlu presatka s obzirom na izvor iz kojeg je presadak izoliran te s obzirom na srodnost darivatelja i primatelja prikazani su u tablici 4. Također, prikazan je i intenzitet kondicioniranja primatelja.

Tablica 4. Podrijetlo presatka s obzirom na izvor i srodnost te intenzitet kondicioniranja primatelja. Podatci su prikazani kao broj (udio od ukupnog broja ispitanika).

	N (%)
<b>Izvor</b>	
PK	134 (83,8%)
KS	26 (16,2%)
<b>Srodnost</b>	
MRD	39 (24,3%)
MUD	98 (61,3%)
haploidentičan	23 (14,4%)
<b>Intenzitet kondicioniranja</b>	
MAC	27 (16,9%)
NMA	11 (6,9%)
RIC	122 (76,2%)

### 4.2. Incidencija akutnog GVHD-a

Od 160 pacijenata primatelja alogenog presatka, akutni je GVHD razvilo ukupno 36 pacijenata, odnosno 22,5%. Tablice 5.-7. prikazuju incidenciju akutnog GVHD-a ovisno o izvoru, srodnosti i intenzitetu kondicioniranja primatelja. Slika 1. prikazuje broj oboljelih prema pojedinom stadiju.

Tablica 5. Incidencija akutnog GVHD-a u skupini transplantiranih iz periferne krvi i iz koštane srži. Podatci su prikazani kao broj (udio ukupnog broja transplantiranih iz pojedinog izvora)

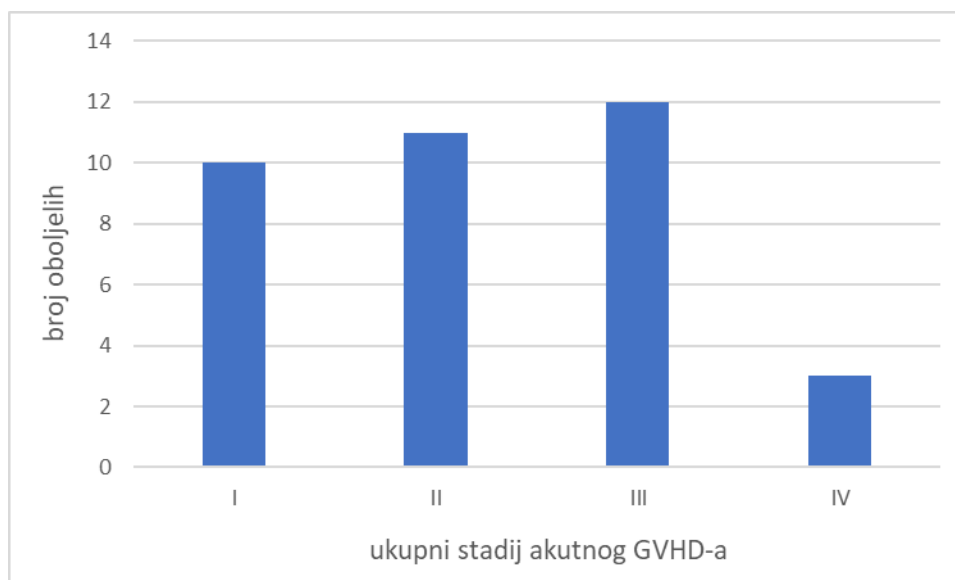
	<b>PK</b>	<b>KS</b>
<b>Incidencija akutnog GVHD-a</b>	24 (17,9 %)	2 (7,7%)

Tablica 6. Incidencija akutnog GVHD-a ovisno o srodnosti darivatelja i primatelja. Podatci su prikazani kao broj (udio ukupnog broja transplantiranih određene srodnosti)

	<b>MRD</b>	<b>MUD</b>	<b>haploidentičan</b>
<b>Incidencija akutnog GVHD-a</b>	8 (20,5%)	15 (12,3%)	3 (13,0%)

Tablica 7. Incidencija akutnog GVHD-a ovisno o intenzitetu kondicioniranja. Podatci su prikazani kao broj (udio ukupnog broja kondicioniranih određenim intenzitetom)

	<b>MAC</b>	<b>NMA</b>	<b>RIC</b>
<b>Incidencija akutnog GVHD-a</b>	5 (18,6 %)	1 (9,1%)	20 (16,4%)



Slika 1. Broj oboljelih u pojedinom stadiju GVHD-a

Klinički značajan (stadija II – IV) akutni GVHD razvilo je 16,3%, odnosno 26 pacijenata, koji su predmet našeg istraživanja. Od navedenih, 15 (57,7%) je pacijenata ženskog spola, a 11 (42,3%) muškog spola. Medijan dobi oboljelih iznosio je 51 (19 – 68)

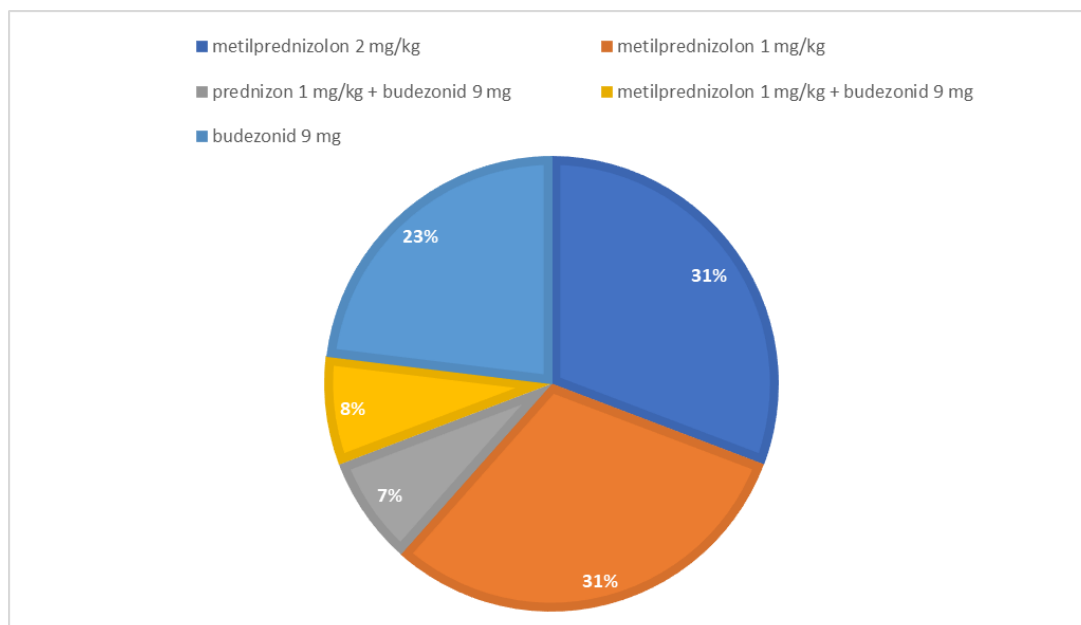
godinu, a medijan vremena proteklog od HSCT do razvoja bolesti 72 (7. – 164.) dana. Dva (7,7%) su pacijenta primila presadak izoliran iz koštane srži, a 24 (92,3%) iz periferne krvi. 15 (57,7%) presadaka prikupljeno je od nesrodnih podudarnih darivatelja, osam (30,8%) od podudarnih srodnih, a tri (11,5%) od srodnih haploidentičnih darivatelja.

#### 4.3. Prva linija terapije

Na prvu liniju terapije odgovorilo je 13 (50%) pacijenata. Prvu liniju činili su kortikosteroidi čiji je izbor i doziranje ovisilo o težini bolesti i zahvaćenim organima. U tablici 4. prikazani su korišteni terapijski pristupi te broj pacijenata koji je primio određeni lijek prve linije. Slika 2. prikazuje pacijente koji su odgovorili na prvu liniju terapije i koliko je od njih primilo koji lijek.

Tablica 8. Terapijski pristup – prva linija terapije

<b>Lijek i doza</b>	<b>N</b>
Metilprednizolon 2 mg/kg	12
Metilprednizolon 1 mg/kg	7
Prednizon 1 mg/kg	1
Metilprednizolon 1 mg/kg + Budezonid 9 mg	2
Prednizon 1 mg/kg + Budezonid 9 mg	1
Budezonid 9 mg	3

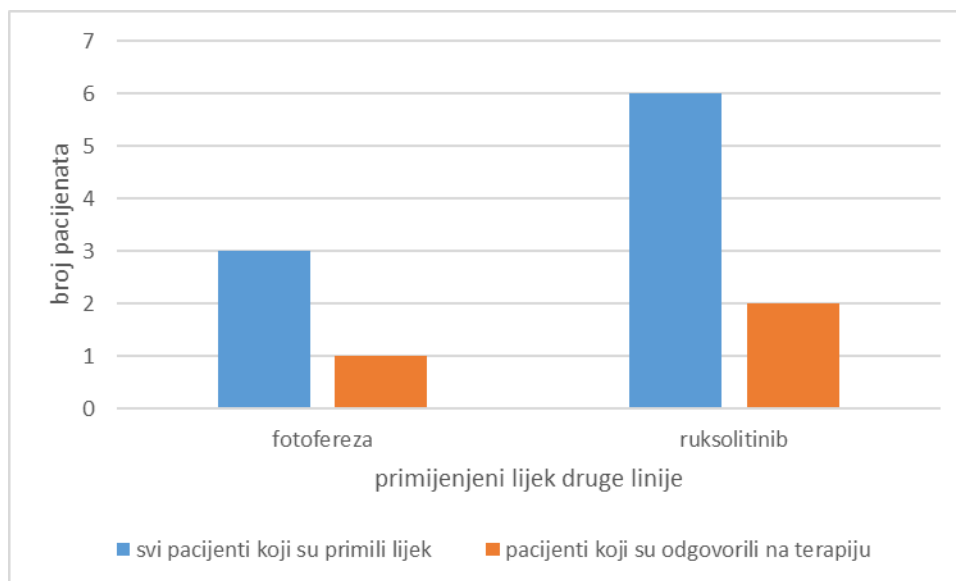


Slika 2. Grafički prikaz – primijenjeni lijek i doza u pacijenata koji su odgovorili na prvu liniju terapije

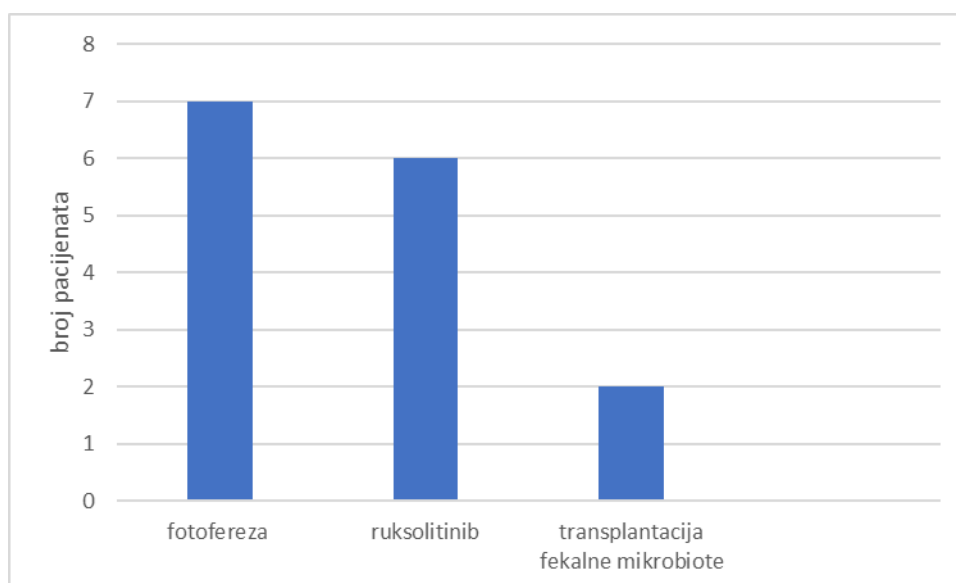
#### 4.4. Steroid-refraktorni GVHD

Steroid-refraktorni GVHD razvilo je 10 pacijenata, odnosno 38,5%. Medijan dana proteklih od početka primjene kortikosteroida do početka primjene lijekova druge linije iznosi 53 (6 –140). U liječenju steroid-refraktornog GVHD-a korišteni su ekstrakorporalna fotofereza i ruksolitinib. Troje je pacijenata podvrgnuto ekstrakorporalnoj fotoferezi, 6 je primilo ruksolitinib, a u jednog pacijenta prekinuto je liječenje zbog relapsa osnovne hematološke bolesti. Od troje pacijenata liječenih ekstrakorporalnom fotoferezom, jedan (33,3%) je pacijent odgovorio na terapiju, jedan (33,3%) je razvio kronični GVHD, a jedan (33,3%) preminuo. Dvoje (33,3%) od 6 pacijenata liječenih ruksolitinibom u drugoj liniji na njega je odgovorilo. U ostalih četvero nastavljeno je liječenje primjenom ekstrakorporalne fotofereze. Jedan (25,0%) je pacijent odgovorio na terapiju, jedan preminuo (25,0%), a dvoje je zatim uspješno liječeno transplantacijom fekalne mikrobiote.





Slika 3. Grafički prikaz – druga linija terapije



Slika 4. Grafički prikaz učestalosti upotrebe pojedinog lijeka u liječenju steroid-refraktornog GVHD-a

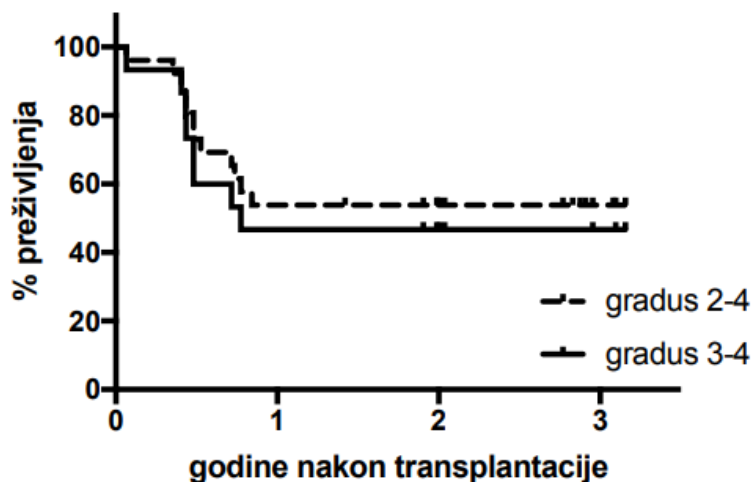
#### 4.5. Preživljenje

Od 26 pacijenata s klinički značajnim akutnim GVHD-om, preminulo je 12 (46,2%) pacijenata. Od ukupnog broja preminulih, 5 (41,7%) je ženskog spola, a 7 (58,3%) muškog. Medijan dobi preminulih iznosio je 57 godina. Od razvoja GVHD-a do smrti prošlo je u prosjeku 120 (7 – 276) dana. Uzrok smrti je u 6 (50%) pacijenata progresija

GVHD, u 3 (25%) infekcija, a jedan (8,3%) je oboljeli preminuo zbog relapsa hematološke maligne bolesti. U dvoje je ispitanika uzrok smrti nepoznat.

Broj preživjelih iznosi 14, odnosno 53,8%. Od toga je 10 (71,4%) ženskog, a 4 (28,6%) muškog spola. Medijan praćenja preživjelih ispitanika od nastanka GVHD-a iznosio je 31 mjesec. U 50% preživjelih nije došlo do progresije bolesti tijekom praćenja.

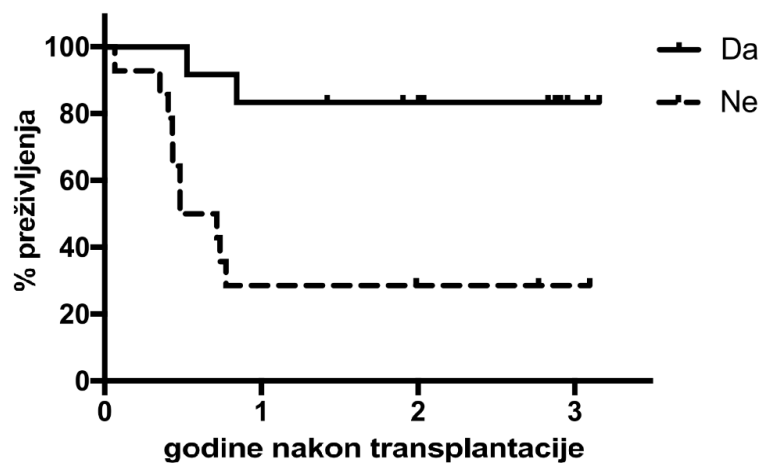
Statistička analiza nije pokazala značajne razlike u preživljenju s obzirom na ukupni stadij GVHD-a.



Slika 5. Kaplan-Meier krivulja preživljenja akutnog GVHD ovisno o ukupnom stadiju

Preživljenje u skupini pacijenata kojima je za kontrolu bolesti bila dovoljna samo prva linija liječenja iznosilo je 62,5%, dok je preživljenje pacijenata kojima je bila potrebna i druga linija terapije bilo niže, odnosno 40%, no ta se razlika nije pokazala statistički značajnom.

Međutim, prema log-rank testu, uočena je statistički značajna razlika u preživljenju pacijenata s obzirom na odgovor na prvu liniju terapije. Preživljenje u pacijenata koji su odgovorili na prvu liniju terapije iznosilo je 83,0%, a u pacijenata sa steroid-refraktornim GVHD preživljenje je 28,5%. ( $p=0.0031$ )



Slika 6. Kaplan-Meier krivulja preživljenja pacijenata koji su odgovorili na prvu liniju terapije i pacijenata bez odgovora na nju

## 5. RASPRAVA

Akutna reakcija darivatelja protiv primatelja glavna je prepreka uspješnom ishodu alogene transplantacije krvotvornih matičnih stanica, a terapijski pristup ovoj bolesti nije uniforman i postoji još prostora za napredak. U KBC-u Zagreb, tijekom 2019. i 2020. godine, akutni GVHD razvilo je 22,5% odraslih pacijenata liječenih alogenom transplantacijom KMS, pri čemu je bolest ukupnog stadija II ili višeg razvilo 16,3% od ukupnog broja pacijenata. Taj je postotak značajno niži od opisanog u literaturi, gdje se navodi incidencija od 30 do 50%(19,41). Također, incidencija je niža od incidencije prijašnjih godina, koja je 2018. godine iznosila 44,9%.(10)

S obzirom na nižu incidenciju, očekivali bismo veću skupinu pacijenata čiji je presadak od srodnog HLA-podudarnog darivatelja, budući da je HLA-nepodudarnost glavni rizični čimbenik, odnosno da je opisana povećana incidencija i u HLA-podudarnog, ali nesrodnog darivatelja.(20,22) Međutim, u najvećeg je broja pacijenata, 61,3% svih HSCT, podrijetlo presatka bio nesrodni podudarni darivatelj. 24,3% presadaka izolirano je iz podudarnih srodnih, a 14,4% iz haploidentičnih darivatelja. Također, suprotno očekivanom, incidencija klinički značajnog akutnog GVHD-a bila je najviša u skupni transplantiranih od podudarnih srodnih darivatelja i iznosila je 20,5%, za razliku od pacijenata koji su primili presadak od nesrodnog podudarnog darivatelja (12,3%) i od haploidentičnog darivatelja (13,0%).

Izvor većine presadaka, čak 83,8%, bila je periferna krv. Incidencija klinički značajnog GVHD-a viša je u skupini koja je primila presatke iz periferne krvi, što je u skladu s brojnim istraživanjima.(24,57)

Najveći je broj pacijenata (76,2%) za transplantaciju pripreman kondicioniranjem reduciranog intenziteta, na račun mijeloablativnog kondicioniranja. To ide u prilog nižoj ukupnoj incidenciji akutnog GVHD-a, budući da je mijeloablativno kondicioniranje prepoznato kao važan rizični čimbenik.(3) Sukladno tome, najveća je incidencija akutnog GVHD-a bila u skupini pacijenata pripremanih mijeloablativnim kondicioniranjem.

Postojanje kontradiktornih rezultata ukazuje na ograničenja ovog istraživanja te naglašava potrebu uključivanja u istraživanje ostalih karakteristika, potencijalnih i

otprije poznatih rizičnih čimbenika, te provedbu istraživanja nad većim brojem pacijenata.

U ovom istraživanju, na prvu liniju terapije odgovorilo je 50,0% pacijenata, što je u skladu s dostupnim podacima iz literature. Martin i suradnici utvrdili su odgovor na terapiju kortikosteroidima u 44% pacijenata s klinički značajnim akutnim GVHD-om.(44)

Od pacijenata koji nisu odgovorili na terapiju kortikosteroidima, 3 su pacijenta preminula, a ostatak, 38,5% transplantiranih, razvilo je steroid-refraktorni GVHD. Pagliuca i suradnici su, u retrospektivnom istraživanju objavljenom 2021., utvrdili incidenciju steroid-refraktornog GVHD-a od 30,5%.(58) Također, opisali su rizične čimbenike za razvoj akutnog steroid-refraktornog GVHD-a: transplantacija presatka prikupljenog od nesrodnog darivatelja, odsutnost in-vivo T-stanične deplecije u profilaksi te kondicioniranje reduciranog intenziteta.(58)

Unatoč mnogobrojnim istraživanjima i novim strategijama za liječenje, ne postoji standardni lijek druge linije. U ovom su liječenju kao lijekovi druge linije primijenjeni ekstrakorporalna fotofereza (33,3%) i ruksolitinib (66,7%). 33,3% pacijenata liječenih ekstrakorporalnom fotoferezom odgovorilo je na terapiju, što je značajno niže od odgovora na fotoferezu kojeg opisuju Perfetti (52%) i Jagasia (66%).(59,60) Na ruksolitinib u drugoj liniji također je odgovorilo 33,3% pacijenata, što je značajno niže od odgovora na ruksolitinib koji opisuje Jagasia (54,9%).(61) U pacijenata koji nisu odgovorili na terapiju zatim je primijenjena ekstrakorporalna fotofereza te transplantacija fekalne mikrobiote.

Preminulo je 46,2% pacijenata s klinički značajnim akutnim GVHD-om. Medijan dobi preminulih iznosio je 57 godina. Medijan dana proteklih od razvoja GVHD-a do smrti iznosio je 120 dana. Najčešći uzrok smrti (50%) je progresija GVHD, slijede infektivne komplikacije (25%) i relaps hematološke maligne bolesti (8,3%). Uzrok smrti je nepoznat u 16,7% pacijenata.

Ukupno preživljenje pacijenata s klinički značajnim akutnim GVHD-om iznosilo je 53,8%. Budući da radovi objavljeni u zadnjih nekoliko godina opisuju preživljenje od 79 do 86%(62), te su brojke ipak značajno niže. Medijan praćenja preživjelih pacijenata iznosio je 31 mjesec. Preživljenje se nije značajno razlikovalo među pacijentima

različitog ukupnog stadija bolesti. Preživljenje u pacijenata koji su odgovorili na prvu liniju liječenja bilo je 83,0%, a u pacijenata u kojih je odgovor na prvu liniju izostao 28,5% i ta je razlika, prema log-rank testu, statistički značajna. ( $p=0.0031$ ) Iako preživljenje pacijenata sa steroid-refraktornim GVHD-om u literaturi varira, Rashidi opisuje ukupno dvogodišnje preživljenje pacijenata sa steroid-refraktornim GVHD od 25%(63), što je slično našim rezultatima.

## 6. ZAKLJUČCI

Incidencija akutnog reakcije darivatelja protiv primatelja u pacijenata transplantiranih u KBC-u Zagreb tijekom 2019. i 2020. godine iznosila je 22,5%, odnosno 16,3% gledajući samo stadije II-IV. Opisana je incidencija značajno niža od incidencije u dostupnoj literaturi, unatoč velikom broju presađaka od nesrodnih darivatelja odnosno iz periferne krvi.

Dok je broj pacijenata koji je odgovorio na prvu liniju terapije u skladu s dobivenim podacima iz literature, uspjeh druge linije terapije znatno je niži.

Ukupno preživljenje pacijenata koji su razvili klinički značajan akutni GVHD iznosilo je 53,8% i niže je od standarda.

Razvoj steroid-refraktornog akutnog GVHD-a indikator je lošeg ishoda, s obzirom na značajno sniženje ukupnog preživljenja (28,5%) pacijenata koji ga razvijaju.

## **7. ZAHVALE**

Mentorici, izv. prof. dr. sc. Nadiri Duraković, hvala na izvanrednom vodstvu.



## 8. LITERATURA

1. Ralston SH. Haematology and transfusion medicine. U: Davidson's principles and practice of medicine. 2018.
2. Abbas AK. Transplantacijska imunologija. U: Stanična i molekularna imunologija. 2018. str. 359-82.
3. Goker H, Haznedaroglu IC, Chao NJ. Acute graft-vs-host disease. *Exp Hematol.* 2001 ožu;29(3):259–77.
4. Hill L, Alousi A, Kebriaei P, Mehta R, Rezvani K, Shpall E. New and emerging therapies for acute and chronic graft versus host disease . *Ther Adv Hematol.* 2018 sij;9(1):21–46.
5. Billingham RE. The biology of graft-versus-host reactions. *Harvey Lect.* 62:21–78.
6. Ferrara JLM, Reddy P. Pathophysiology of Graft-Versus-Host Disease. *Semin Hematol.* 2006 sij;43(1):3–10.
7. Ferrara JLM, Levy R, Chao NJ. Pathophysiologic mechanisms of acute graft-vs.-host disease. *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* 1999 pros;5(6):347–56.
8. Choi SW, Levine JE, Ferrara JLM. Pathogenesis and Management of Graft-versus-Host Disease. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2010 velj;30(1):75–101.
9. Shlomchik WD, Couzens MS, Tang CB, McNiff J, Robert ME, Liu J, i ostali. Prevention of Graft Versus Host Disease by Inactivation of Host Antigen-Presenting Cells. *Science (1979).* 1999 srp 16;285(5426):412–5.
10. Šimunić L. Incidencija i ishod pojave akutne bolesti darivatelja protiv primatelja u Kliničkom bolničkom centru Zagreb [Diplomski rad]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet; 2020 [pristupljeno 13.08.2022.] Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:216904>
11. Abbas AK. Molekule glavnog kompleksa tkivne podudarnosti i predočivanje antigena limfocitima T. U: Stanična i molekularna imunologija. 2018. str. 107–36.

12. Hoffbrand AV MPPJ. Stem cell transplantation. U: Essential Haematology. 2006. str. 249–63.
13. Beilhack A, Schulz S, Baker J, Beilhack GF, Wieland CB, Herman EI, i ostali. In vivo analyses of early events in acute graft-versus-host disease reveal sequential infiltration of T-cell subsets. *Blood*. 2005 kol 1;106(3):1113–22.
14. Weijtens M, van Spronsen A, Hagenbeek A, Braakman E, Martens A. Reduced Graft-Versus-Host Disease-Inducing Capacity of T Cells After Activation, Culturing, and Magnetic Cell Sorting Selection in an Allogeneic Bone Marrow Transplantation Model in Rats. *Hum Gene Ther*. 2002 sij 20;13(2):187–98.
15. Griffioen M, van Bergen CAM, Falkenburg JHF. Autosomal Minor Histocompatibility Antigens: How Genetic Variants Create Diversity in Immune Targets. *Front Immunol*. 2016 ožu 15;7.
16. Cobbold S, Martin G, Waldmann H. The Depletion of T Cell Subsets in Vitro and in Vivo. *Transplantation*. 1986 ruj;42(3):239–47.
17. van den Brink MRM, Burakoff SJ. Cytolytic pathways in haematopoietic stem-cell transplantation. *Nat Rev Immunol*. 2002 tra 1;2(4):273–81.
18. Iwasaki A, Medzhitov R. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nat Immunol*. 2004 lis 28;5(10):987–95.
19. Jacobsohn DA, Vogelsang GB. Acute graft versus host disease. *Orphanet J Rare Dis*. 2007 pros 4;2(1):35.
20. Loiseau P, Busson M, Balere ML, Dormoy A, Bignon JD, Gagne K, i ostali. HLA Association with Hematopoietic Stem Cell Transplantation Outcome: The Number of Mismatches at HLA-A, -B, -C, -DRB1, or -DQB1 Is Strongly Associated with Overall Survival. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2007 kol;13(8):965–74.
21. Flomenberg N. Impact of HLA class I and class II high-resolution matching on outcomes of unrelated donor bone marrow transplantation: HLA-C mismatching is associated with a strong adverse effect on transplantation outcome. *Blood*. 2004 lis 1;104(7):1923–30.

22. Jagasia M, Arora M, Flowers MED, Chao NJ, McCarthy PL, Cutler CS, i ostali. Risk factors for acute GVHD and survival after hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2012 sij 5;119(1):296–307.
23. Goulmy E, Schipper R, Pool J, Blokland E, Falkenburg F, Vossen J, i ostali. Mismatches of Minor Histocompatibility Antigens between HLA-Identical Donors and Recipients and the Development of Graft-Versus-Host Disease after Bone Marrow Transplantation. *New England Journal of Medicine*. 1996 velj;334(5):281–5.
24. Cutler C, Giri S, Jeyapalan S, Paniagua D, Viswanathan A, Antin JH. Acute and Chronic Graft-Versus-Host Disease After Allogeneic Peripheral-Blood Stem-Cell and Bone Marrow Transplantation: A Meta-Analysis. *Journal of Clinical Oncology*. 2001 kol 15;19(16):3685–91.
25. Przepiorka D, Smith TL, Folloder J, Khouri I, Ueno NT, Mehra R, i ostali. Risk factors for acute graft-versus-host disease after allogeneic blood stem cell transplantation. *Blood*. 1999 kol 15;94(4):1465–70.
26. Jacobsohn DA, Hewlett B, Ranalli M, Seshadri R, Duerst R, Kletzel M. Outcomes of unrelated cord blood transplants and allogeneic-related hematopoietic stem cell transplants in children with high-risk acute lymphocytic leukemia. *Bone Marrow Transplant*. 2004 stu 1;34(10):901–7.
27. Lazaryan A, Weisdorf DJ, DeFor T, Brunstein CG, MacMillan ML, Bejanyan N, i ostali. Risk Factors for Acute and Chronic Graft-versus-Host Disease after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation with Umbilical Cord Blood and Matched Sibling Donors. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2016 sij;22(1):134–40.
28. Weisdorf D, Hakke R, Blazar B, Miller W, Mcglave P, Ramsay N, i ostali. Risk factors for acute graft-versus-host disease in histocompatible donor bone marrow transplantation. 1991 lip;51(6):1197–202.
29. Gale RP, Bortin MM, Bekkum DW, Biggs JC, Dicke KA, Gluckman E, i ostali. Risk factors for acute graft-versus-host disease. *Br J Haematol*. 1987 pros;67(4):397–406.

30. Martin PJ, Schoch G, Fisher L, Byers V, Anasetti C, Appelbaum FR, i ostali. A retrospective analysis of therapy for acute graft-versus-host disease: initial treatment. *Blood*. 1990 lis 15;76(8):1464–72.
31. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ, i ostali. 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. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2005 pros;11(12):945–56.
32. Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host disease. *The Lancet*. 2009 svi;373(9674):1550–61.
33. Johnson ML, Farmer ER. Graft-versus-host reactions in dermatology. *J Am Acad Dermatol*. 1998 ožu;38(3):369–92.
34. McDonald GB, Shulman HM, Sullivan KM, Spencer GD. Intestinal and hepatic complications of human bone marrow transplantation. Part I. *Gastroenterology*. 1986 velj;90(2):460–77.
35. Weisdorf D, Snover D, Haake R, Miller W, McGlave P, Blazar B, i ostali. Acute upper gastrointestinal graft-versus-host disease: clinical significance and response to immunosuppressive therapy. *Blood*. 1990 kol 1;76(3):624–9.
36. Akpek G, Boitnott JK, Lee LA, Hallick JP, Torbenson M, Jacobsohn DA, i ostali. Hepatic variant of graft-versus-host disease after donor lymphocyte infusion. *Blood*. 2002 pros 1;100(12):3903–7.
37. Aleksandra Basta-Juzbašić, i sur. Reakcija transplantata protiv primatelja nakon transplantacije krvotvornih matičnih stanica. U: *Dermatovenerologija udžbenik i atlas*. 2014. str. 332–4.
38. Vogelsang GB, Lee L, Bensen-Kennedy DM. Pathogenesis and Treatment of Graft-Versus-Host Disease After Bone Marrow Transplant. *Annu Rev Med*. 2003 velj;54(1):29–52.
39. Sale GE, Shulman HM, McDonald GB, Thomas ED. Gastrointestinal graft-versus-host disease in man. *Am J Surg Pathol*. 1979 kol;3(4):291–300.

40. Norton J, Sloane JP, Al-Saffar N, Haskard DO. Expression of adhesion molecules in human intestinal graft- versus - host disease. Clin Exp Immunol. 2008 lip 28;87(2):231–6.
41. Aladağ E, Kelkitli E, Göker H. Acute Graft-Versus-Host Disease: A Brief Review. Turkish Journal of Hematology. 2020 sij 15;37(1).
42. Jacobsohn DA, Vogelsang GB. Acute graft versus host disease. Orphanet J Rare Dis. 2007 pros 4;2(1):35.
43. Dignan FL, Clark A, Amrolia P, Cornish J, Jackson G, Mahendra P, i ostali. Diagnosis and management of acute graft-versus-host disease. Br J Haematol. 2012 srp;158(1):30–45.
44. Martin PJ, Schoch G, Fisher L, Byers V, Anasetti C, Appelbaum FR, i ostali. A retrospective analysis of therapy for acute graft-versus-host disease: initial treatment. Blood. 1990 lis 15;76(8):1464–72.
45. van Lint MT, Uderzo C, Locasciulli A, Majolino I, Scimé R, Locatelli F, i ostali. Early treatment of acute graft-versus-host disease with high- or low-dose 6-methylprednisolone: a multicenter randomized trial from the Italian Group for Bone Marrow Transplantation. Blood. 1998 lis 1;92(7):2288–93.
46. Ramachandran V, Kolli SS, Strowd LC. Review of Graft-Versus-Host Disease. Dermatol Clin [Internet]. 2019 lis;37(4):569–82. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733863519300567>
47. Dykewicz CA. Summary of the Guidelines for Preventing Opportunistic Infections among Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients. Clinical Infectious Diseases. 2001 srp 15;33(2):139–44.
48. Hsu B, May R, Carrum G, Krance R, Przepiorka D. Use of antithymocyte globulin for treatment of steroid-refractory acute graft-versus-host disease: an international practice survey. Bone Marrow Transplant. 2001 stu 1;28(10):945–50.
49. Hart JW, Shiue LH, Shpall EJ, Alousi AM. Extracorporeal photopheresis in the treatment of graft- versus -host disease: evidence and opinion. Ther Adv Hematol. 2013 lis 30;4(5):320–34.

50. Zeiser R, Burchert A, Lengerke C, Verbeek M, Maas-Bauer K, Metzelder SK, i ostali. Ruxolitinib in corticosteroid-refractory graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation: a multicenter survey. *Leukemia*. 2015 lis 31;29(10):2062–8.
51. Cheung TS, Bertolino GM, Giacomini C, Bornhäuser M, Dazzi F, Galleu A. Mesenchymal Stromal Cells for Graft Versus Host Disease: Mechanism-Based Biomarkers. *Front Immunol*. 2020 lip 25;11.
52. Storb R, Deeg HJ, Whitehead J, Appelbaum F, Beatty P, Bensinger W, i ostali. Methotrexate and cyclosporine compared with cyclosporine alone for prophylaxis of acute graft versus host disease after marrow transplantation for leukemia. *N Engl J Med*. 1986 ožu 20;314(12):729–35.
53. Cutler C, Li S, Ho VT, Koreth J, Alyea E, Soiffer RJ, i ostali. Extended follow-up of methotrexate-free immunosuppression using sirolimus and tacrolimus in related and unrelated donor peripheral blood stem cell transplantation. *Blood*. 2007 tra 1;109(7):3108–14.
54. Bornhäuser M, Schuler U, Pörksen G, Naumann R, Geissler G, Thiede C, i ostali. Mycophenolate mofetil and cyclosporine as graft-versus-host disease prophylaxis after allogeneic blood stem cell transplantation. *Transplantation*. 1999 velj 27;67(4):499–504.
55. Kottaridis PD, Milligan DW, Chopra R, Chakraverty RK, Chakrabarti S, Robinson S, i ostali. In vivo CAMPATH-1H prevents graft-versus-host disease following nonmyeloablative stem cell transplantation. *Blood*. 2000 lis 1;96(7):2419–25.
56. Bacigalupo A, Lamparelli T, Bruzzi P, Guidi S, Alessandrino PE, di Bartolomeo P, i ostali. Antithymocyte globulin for graft-versus-host disease prophylaxis in transplants from unrelated donors: 2 randomized studies from Gruppo Italiano Trapianti Midollo Osseo (GITMO). *Blood*. 2001 stu 15;98(10):2942–7.
57. Holtick U, Albrecht M, Chemnitz JM, Theurich S, Skoetz N, Scheid C, i ostali. Bone marrow versus peripheral blood allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for haematological malignancies in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2014 tra 20;

58. Pagliuca S, Prata PH, Xhaard A, Frieri C, Giannoni L, Sutra del Galy A, i ostali. Long-term outcomes and risk factor analysis of steroid-refractory graft versus host disease after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2021 sij 25;56(1):38–49.
59. Perfetti P, Carlier P, Strada P, Gualandi F, Occhini D, van Lint MT, i ostali. Extracorporeal photopheresis for the treatment of steroid refractory acute GVHD. *Bone Marrow Transplant.* 2008 stu 28;42(9):609–17.
60. Jagasia M, Greinix H, Robin M, Das-Gupta E, Jacobs R, Savani BN, i ostali. Extracorporeal Photopheresis versus Anticytokine Therapy as a Second-Line Treatment for Steroid-Refractory Acute GVHD: A Multicenter Comparative Analysis. *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* 2013 srp;19(7):1129–33.
61. Jagasia M, Perales MA, Schroeder MA, Ali H, Shah NN, Chen YB, i ostali. Ruxolitinib for the treatment of steroid-refractory acute GVHD (REACH1): a multicenter, open-label phase 2 trial. *Blood.* 2020 svi 14;135(20):1739–49.
62. Bashey A, Zhang X, Morris LE, Holland HK, Solh M, Solomon SR. Improved Survival of Patients Diagnosed with Severe (Grade 3-4) Acute GVHD or Severe NIH Grade Chronic GVHD in the Current Era Compared to Historic Controls. *Blood.* 2019 stu 13;134(Supplement\_1):2006–2006.
63. Rashidi A, DeFor TE, Holtan SG, Blazar BR, Weisdorf DJ, MacMillan ML. Outcomes and Predictors of Response in Steroid-Refractory Acute Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019;25(11):2297–302.

## **ŽIVOTOPIS**

Rođena sam 1998. godine u Slavonskom Brodu, gdje sam 2016. završila Klasičnu gimnaziju fra Marijana Lanosovića. Iste sam godine započela studij na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Za vrijeme fakulteta volontirala sam na Klinici za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“ te na Zavodu za hitnu medicinu Krapinsko-zagorske županije.