

# Akutna bolest darivatelja protiv primatelja

---

**Tominac, Marija**

**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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:217691>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-08-09**



*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Marija Tominac

Akutna bolest darivatelja protiv primatelja

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2022

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

## POPIS KRATICA

aGvHD - akutna boleost darivatelja protiv primatelja (engl. Acute graft versus host disease)

APC - antigen-predočne stanice (engl. Antigen-presenting cells)

ATG - antitimocitni globulin (engl. Antithymocyte globulin)

cGvHD – kronična boleost darivatelja protiv primatelja (engl. Chronic graft versus host disease)

CMV – citomegalovirus

CTL – citotoksični T limfociti (engl. Cytotoxic T lymphocyte)

ECP – izvantjelesna fotofereza (engl. Extracorporeal photopheresis)

GC-resistant aGvHD - akutna boleost darivatelja protiv primatelja rezistentna na glukokortikoide (engl. Glucocorticoid (GC)-resistant aGvHD)

GCSF – granulocitni faktor rasta (engl. Granulocyte colony-stimulating factor)

GI – gastrointestinalni (probavni) sustav

GM-SCF – granulocitno-monocitni faktor rasta (engl. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor)

GvHD - boleost presatka protiv primatelja (engl. Graft versus host disease)

GvL - učinak presatka protiv leukemije (engl. Graft versus leukemia)

HLA - humani leukocitni antigeni (engl. Human leukocyte antigens)

HSCT - transplantacija hematopoetskih matičnih stanica (engl. Hematopoietic stem cell transplantation)

IBMTR - Međunarodni registar za transplantaciju koštane srži (engl. International Bone Marrow Transplant Registry)

IL - interleukin

IFN - interferon

JAK - Janus kinaza

MHC - glavni kompleks tkivne podudarnosti (engl. Major histocompatibility complex)

MiHA - slabi antigeni tkivne podudarnosti (engl. Minor histocompatibility antigens)

MMF - mikofenolat mofetil (engl. Mycophenolat mofetil)

MSCs – mezenhimalne stromalne matične stanice (engl. Mesenchymal stromal stem cells)

mTOR – ciljna molekula rapamicina u sisavaca (engl. Mammalian Target of Rapamycin)

NK limfociti - prirodno ubilačke stanice (engl. Natural killer cells)

TCD - deplecija T-limfocita (engl. T cell depletion)

TCR – receptor T stanice (engl. T-cell receptor)

T<sub>H1</sub> i T<sub>H2</sub> - pomagački limfociti podskupine 1 i 2 (engl. Helper T cells)

TNF- $\alpha$  - čimbenik tumorske nekroze alfa (engl. Tumor necrosis factor alpha)

## SADRŽAJ

SAŽETAK

SUMMARY

UVOD .....	1
EPIDEMIOLOGIJA I FAKTORI RIZIKA.....	3
IMUNOLOŠKA OSNOVA .....	4
MEHANIZAM NASTANKA .....	5
KLINIČKA SLIKA.....	8
DIJAGNOZA .....	12
PROFILAKSA .....	14
TERAPIJA .....	15
ZAKLJUČAK .....	19
ZAHVALE .....	20
LITERATURA.....	21
ŽIVOTOPIS .....	23

## SAŽETAK

### Akutna bolest darivatelja protiv primatelja

Marija Tominac

Akutna bolest darivatelja protiv primatelja (aGvHD) najčešća je po život opasna komplikacija alogene transplantacije hematopoetskih matičnih stanica. Predstavlja imunološku reakciju imunokompetentnih T stanica darivatelja koje stanice primatelja prepoznaje kao strane. Mehanizam nastanka ima tri faze. Primjenom zračenja i intenzivne kemoterapije zbog pripreme bolesnika za transplantaciju, dolazi do ozljede tkiva bolesnika te izlučivanja upalnih citokina (I. faza). Ti upalni citokini i antigen-predodne stanice aktiviraju darivateljeve T limfocite koji posreduju aGvHD (II. faza) a koji dodatno izlučivanjem citokina i uz pomoć endotoksina stimuliraju makrofage. Aktivirani makrofazi sa staničnim upalnim efektorskim stanicama dovode do lokalne ozljede tkiva (III. faza). Klasično se pojavljuje unutar sto dana od transplantacije. Može zahvatiti jedan ili više organa: kožu, jetru i gastrointestinalni trakt. Tipične promjene na koži su makulopapulozni osip, generalizirani eritem, a u najtežim slučajevima moguća je epidermioliza s bulama i deskvamacijom. Promjene na jetri očituju se kao hiperbilirubinemija sa žuticom te porastom alkalne fosfataze i serumskog kolesterola, dok se promjene na gastrointestinalnom traktu očituju kao mučnina, proljev i bolovi u truhu. Dijagnoza se postavlja na osnovi kliničke slike i histološkog nalaza biopsije kože, crijeva ili rjeđe jetre. U profilaksi pojave akutnog GVHD primjenjuje se najčešće inhibitor kalcineurinskih receptora (ciklosporin ili takrolimus), sam ili u kombinaciji s nekim drugim imunosupresivnim lijekom (načesto metotreksat u bolesnika nakon mijeloablativne pripreme, te mikofenolat-mofetil u bolesnika nakon nemijeloablativne pripreme. Terapija ovisi o simptomima, zahvaćenosti organa i profilaksi – prvi stadij ne zahtijeva sistemsko liječenje, dok prvi izbor terapije za ostale stadije su sistemski kortikosteroidi. Pri neuspjehu liječenja prvim izborom, druga linija terapije je ruksolitinib, novi lijek s velikom učinkovitosti u liječenju akutnog GvHD-a. Ostali izbor lijekova i terapijskih postupaka u liječenju su antitimocitni globulin, mikofenolat mofetil, monoklonska protutijela, pentostatin, sirolimus, mezenhimalne matične stanice i ekstrakorporalna fotofereza.

Ključne riječi: aGvHD, klinička slika, profilaksa, terapija

## SUMMARY

### Acute Graft versus Host Disease

Marija Tominac

Acute graft-versus-host disease (aGVHD) is the most common life-threatening complication of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. It represents the immune reaction of immunocompetent T cells of a mismatched donor to recipient cells which it recognizes as foreign. The mechanism of occurrence takes place in three phases. The use of radiation and intensive chemotherapy to prepare patients for transplantation results in injuries to the patient's tissues due to the secretion of inflammatory cytokines (phase I). These inflammatory cytokines and antigen-presenting cells activate aGvHD by T donor lymphocytes (phase II) and stimulate macrophages by cytokine secretion and endotoxins. Macrophages with cellular inflammatory effectors secrete cytokines and lead to local tissue injury (phase III). It classically appears within hundred days after transplantation. It can affect one or more organs: skin, liver, and gastrointestinal tract. Typical skin changes are maculopapular rash, generalized erythema and in the most severe cases, epidermolysis with bumps and desquamation as possible. Changes in the liver manifest as hyperbilirubinemia with jaundice and an increase of alkaline phosphatase and serum cholesterol, while changes in the gastrointestinal tract manifest as nausea, diarrhea, and abdominal pain. The diagnosis is based on the clinical signs and histological findings of a biopsy of the skin, rectum and rarely liver. In prophylactic therapy calcineurin inhibitors are most usually used (cyclosporine or tacrolimus), alone or in combination with other immunosuppressive drugs (most usually methotrexate in patients after myeloablative preparation) and mycophenolate mofetil in patients after nonmyeloablative preparation.

Therapy depends on symptoms, organ involvement and prophylaxis – the first stage does not require systemic treatment, while the first choice of therapy for other stages are systemic corticosteroids. If the first-line treatment fails, the second-line therapy is ruxolitinib, a new drug with high efficacy in the treatment of acute GvHD. Other choice of drugs and therapeutic procedures in treatment are antithymocyte globulin, mycophenolate mofetil, monoclonal antibodies, pentostatin, sirolimus, mesenchymal stem cells and extracorporeal photopheresis.

Key words: aGvHD, clinical manifestation, prophylaxis, therapy



## UVOD

Alogena transplantacija krvotvornih matičnih stanica (engl. Hematopoietic stem cell transplantation, HSCT) uspješna je terapija u liječenju različitih hematoloških poremećaja, kao i imunoloških deficijencija te metaboličkih poremećaja (1), a transplantacija u ovom slučaju znači presađivanje hematopoetskih matičnih stanica s jedne u drugu jedinku koje su genetski različite, ali su unutar iste vrste (2). Za neke bolesti, poput primarne odnosno sekundarne mijelofibroze, presađivanje krvotvornih matičnih stanica je jedina terapija koja može dovesti do izlječenja. Matične stanice prikupljaju se iz koštane srži ili periferne krvi nakon stimulacije čimbenicima rasta granulocita (engl. Granulocyte colony-stimulating factor, GCSF) (2). Periferne matične stanice izoliraju se procesom koji se zove afereza ili leukaferaza. Treći izvor matičnih stanica je krv iz pupkovine, čija prednost je mogućnost uspješne transplantacije s manjom genetskom kompatibilnošću između primatelja i darivatelja (3). Na uspjeh liječenja hematopoetskih malignih bolesti alogenom transplantacijom utječe učinak presatka protiv leukemije (GvL od engl. *Graft versus leukemia effect*), u kojem imunokompetentne stanice darivatelja prepoznaju između ostalih i maligne stanice pacijenta te ih uništavaju. S druge strane, slična reakcija dovodi do razvoja najčešće komplikacija HSCT-a: akutne bolesti darivatelja protiv primatelja koja može biti smrtonosna (2).

Akutna bolest darivatelja protiv primatelja (engl. Acute graft versus host disease, aGvHD) multisistemska je poremećaj koji se nastaje nakon alogene transplantacije krvotvornih matičnih stanica, uzrokovan imunološkom reakcijom imunokompetentnih T stanica darivatelja koje stanice primatelja prepoznaje kao strane te u primatelja uzrokuje oštećenje tkiva i organa (4).

Bolest darivatelja protiv primatelja prvi puta primijećena je u životinjskim modelima, odnosno u mišjim modelima nakon HSCT-a, ali u nedostatku znanja o HLA sustavu, bolest je nazvana „sekundarnom“. Bili su mišljenja da bolest nastaje sekundarno po oporavku od iradijacijskih oštećenja. Već šezdesetih godina prošlog stoljeća, Medawar i Billingham na temelju svojih eksperimenata, identificiraju tri temeljna uvjeta za nastanak sekundarne bolesti: primjena presatka s imunokompetentnim stanicama, imunološka nepodudarnost darivatelja i primatelja te transplantacija presatka imunosuprimiranom primatelju (5).

Razlikujemo dva glavna tipa GvHD-a, akutni (aGvHD) i kronični (cGvHD). Glavna razlika između akutnog i kroničnog je vrijeme pojavljivanja bolesti prije ili poslije 100. dana nakon alogene transplantacije krvotvornih matičnih stanica te klinička slika (5). Na temelju ove klasične podjele i postojanje znakova akutnog i/ili kroničnog GvHD – a, razlikujemo 4 podtipa: *klasični akutni* GvHD pojavljuje se unutar 100 dana od transplantacije s tipičnim znakovima akutnog, a s nedostatkom kliničkih znakova kroničnog GvHD-a. Drugi podtip, *perzistentni, rekurentni* GvHD s *kasnom pojavnošću* pojavljuje se s tipičnim znakovima akutnog i bez znakova kroničnog GvHD-a, ali pojavljuje se nakon 100. dana. Treći podtip, *klasični kronični* GvHD može se pojaviti u bilo koje vrijeme nakon transplantacije i prezentira se klasičnom slikom kroničnog bez znakova akutnog GvHD-a. Četvrti, odnosno zadnji podtip, *sindrom preklapanja* prezentira se znakovima akutnog i kroničnog GvHD-a koji se pojavljuje u bilo koje vrijeme nakon transplantacije (4).

Tablica 1 Klasifikacija akutnog i kroničnog GvHD-a

<b>Klasifikacija</b>	<b>Vrijeme pojavljivanja nakon HSCT-a</b>	<b>Znakovi akutnog GvHD-a</b>	<b>Znakovi kroničnog GvHD-a</b>
<b>Akutni</b>			
Klasični akutni	<100 dana	DA	NE
Perzistentni, rekurentni akutni	>100 dana	DA	NE
<b>Kronični</b>			
Klasični kronični	bilo koje vrijeme	NE	DA
Sindrom preklapanja	bilo koje vrijeme	DA	DA

Izvor: Poglavlje 43, Acute Graft-Versus-Host Disease (5)

## EPIDEMIOLOGIJA I FAKTORI RIZIKA

Brojni čimbenici rizika utječu na incidenciju, težinu simptoma i vrijeme javljanja aGvHD-a. U vrlo rijetkim slučajevima, akutni GvHD može se razviti nakon transplantacije solidnih organa kao naprimjer nakon transplantacije jetre, pluća ili tankog crijeva zbog velikog udjela limfnog tkiva (2). Unatoč podudarnosti u humanim leukocitnim antigenima (engl. Human leukocyte antigens, HLA) i korištenoj profilaksi, u 35-50% primatelja alogenog transplantanta razvija se klinički značajan akutni GvHD, odnosno aGvHD stadija II-IV. Glavni rizični čimbenik za razvoj aGvHD-a je razina HLA nepodudarnosti i nepodudarnost slabih antigena tkivne podudarnosti (engl. Minor histocompatibility antigens, MiHA) između darivatelja i primatelja. Veća nepodudarnost u nesrodnog darivatelja i primatelja povećava rizik za razvoj aGvHD i gori ishod transplantacije. U potpuno podudarnih srodnih darivatelja i primatelja niža je incidencija razvoja aGvHD u usporedbi s nesrodnim darivateljima, osobito ukoliko postoji nepodudarnost u jednom ili više HLA lokusa (6). S druge strane, veća nepodudarnost i pojava GVHD, osobito akutnog i kroničnog smanjuje rizik relapsa osnovne bolesti (7).

Intenzitet i način kondicioniranja također utječe na razvoj aGvHD-a. Mijeloablativno kondicioniranje uzrokuje veća oštećenja tkiva primatelja koja dovode do većeg otpuštanja citokina koji sudjeluju u patogenezi aGvHD-a i dovode do pojačane ekspresije MHC molekula (8). Tip transplantata utječe na razvoj aGvHD-a pri čemu kod korištenja matičnih stanica krvi iz pupkovine niža je stopa incidencije GVHD, dok matične stanice prikupljene iz periferne krvi imaju najvišu stopu incidencije (1,6). Prednosti matičnih stanica iz pupkovine su što za transplantaciju zahtijeva manju usklađenost HLA nego za matične stanice iz koštane srži ili periferne krvi te je zato manja vjerojatnost pojave GvHD-a. Periferne matične stanice sadrže puno više T limfocita koji povećavaju incidenciju i produljuju trajanje GvHD-a (3). Ostali rizični čimbenici za razvoj aGvHD-a su starija dob darivatelja, starija dob primatelja, prijašnje transfuzije darivatelja, spolna nepodudarnost darivatelja i primatelja. Pogotovo je uvećan rizik za razvoj aGvHD-a kod muških pacijenata i ženskih darivateljica, višerotkinja, zbog moguće alosenzitacije tijekom trudnoće (9). Splenektomija prije transplantacije povećava rizik za razvoj akutnog GvHD-a kao i seropozitivnost na citomegalovirus (CMV) primatelja i darivatelja. Intenzitet profilakse GVHD-a lijekovima svakako utječu na razvoj aGvHD-a (8).

## IMUNOLOŠKA OSNOVA

Imunosni sustav čovjeka sastoji se od urođene i adaptivne imunosti. Urođena imunost je prva linija obrane, a sastoji se od staničnih i kemijskih zapreka, bjelančevina krvi te makrofaga, neutrofila i NK stanica (engl. Natural killer cells, NK). Druga linija je adaptivna, te razlikujemo dvije vrste adaptivne imunosti – humoralna, posredovana limfocitima B i njihovim protutijelima te stanična imunosti, posredovana T limfocitima. Stanice izlučuju bjelančevine koje reguliraju i utječu na imunosni odgovor urođene i adaptivne imunosti. Te bjelančevine nazivamo citokini (10). Upravo reakcija T limfocita darivatelja na molekule stanica primatelja ima glavnu ulogu u patofiziologiji GvHD-a te izlučeni citokini dovode do većeg oštećenja tkiva i upalnog odgovora organizma. (2).

Molekule stanica koje su ključne u prezentaciji antigena T limfocitima i razlikovanju stanica porijekla drukčijeg od samih T stanica (razlikovanje „self“ od „non-self“) su molekule glavnog kompleksa tkivne podudarnosti (engl. Major histocompatibility complex, MHC). U ljudi, MHC molekule nazivaju se ljudskim leukocitnim antigenima (engl. Human leukocyte antigens, HLA). Područje MHC nalazi se na kratkom kraku šestog kromosoma na p21 poziciji. Ti MHC geni se nasljeđuju od oba roditelja i izražavaju se kodominantno te su najpolimorfniji geni među sisavcima. Lokus MHC obuhvaća dvije skupine polimorfnih gena – MHC I i MHC II, odnosno HLA I i HLA II. Tri su skupine unutar MHC I gena te ih označavamo s HLA-A, HLA-B i HLA-C a one kodiraju tri istoimene vrste molekule MHC-I skupine (11). Nalaze se na svim stanicama s jezgrom, te predstavljaju antigene CD8<sup>+</sup> T limfocitima. Antigene HLA skupine II označavamo sa HLA-DP, HLA-DQ i HLA-DR, a one su izražene na stanicama koje sudjeluju u imunološkom odgovoru – na dendritičnim stanicama, makrofagima, limfocitima B, ali i endotelnim stanicama i epitelnim stanicama timusa (8,11). Molekule HLA skupine II prezentiraju antigene CD4<sup>+</sup> T limfocitima (8). Citokini koji se stvaraju tijekom urođenog i adaptivnog imunosnog odgovora povećavaju izražaj MHC molekula. Djelovanje interferona  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  (IFN-  $\alpha, \beta, \gamma$ ) tijekom rane faze urođenog imunosnog odgovora povećava izražaj MHC klase I molekula, dok IFN-  $\gamma$  proizveden od strane NK stanica i T limfocita aktiviranih antigenom povećava izražaj MHC klase II molekula (11).

Tipizacija HLA je ključna u presađivanju matičnih stanica jer veća usklađenost među HLA genima smanjuje incidenciju aGvHD-a (12). Međutim, akutni GvHD pojavljuje se i u podudarnih parova primatelja i darivatelja (između braće i sestara) jer uz HLA, postoje i ostali polimorfni geni koji pridonose razvoju akutnog GvHD-a. (11,12) Ti geni, odnosno peptidi,

nazvani su antigeni slabe tkivne podudarnosti (engl. Minor histocompatibility antigens, MiHA) koji su nastali od unutarstaničnih proteina te se na površini stanica prikazuju darivateljevim T-limfocitima putem MHC molekula. To dokazuje da T stanice ne prepoznaju antigene pojedinačno, nego kombinacije MHC gena stanice (8).

Najistraženiji antigen slabe tkivne podudarnosti je HA-1 koji je izražen na zdravim i malignim stanicama, te je udružen s HLA-A 02:01 (13). U kliničkoj studiji ispitala se nepodudarnost pet opisanih MiH antigena: HA-1, HA-2, HA-3, HA-4 i HA-5 zajedno s HLA A1 i HLA A2 u alogeno transplantiranih 148 bolesnika. Nepodudaranje HA-1 bilo je usko povezano s pojavom akutnog GvHD-a drugog ili višeg stupnja. Također, nepodudarnost u HA-1, HA-2, HA-4 i HA-5 bili su značajno povezani, dok nepodudarnost u HA-3 nije s razvojem aGvHD-a. U svim slučajevima kad je HA-1<sup>+</sup> pacijent primio transplantat HA-1<sup>-</sup>, razvio se GvHD. Utvrđeno je da se nonapeptid HA-1<sup>-</sup> razlikuje u jednoj aminokiselini od HA-1<sup>+</sup> (8). Polimorfizam BCL2A1 gena kodira dva MiH antigena, ACC-1 i ACC-2 koji su predočeni putem HLA-A\*24:02 i HLA-B\*44:03 molekula. BCL2A1 dio je Bcl-2 skupine anti-apoptotičnih gena, te je više izražen na malignim hematološkim stanicama (13).

## MEHANIZAM NASTANKA

Prije same transplantacije, darivatelj i primatelj moraju proći kroz fazu pripreme. Uobičajeno pet dana prije afereze, darivatelju se daje GCSF kako bi se povećao broj matičnih stanica u krvi. Matične stanice se aferezom izoliraju na temelju gradijenta gustoće, a pokušava se prikupiti matične stanice koje su karakterizirane izražajem hematopoetskog staničnog makera CD34<sup>+</sup> na membrani. Te matične stanice imaju svojstvo diferencijacije u kolonije granulocita, makrofaga, eritrocita i drugih multipotentnih ili nezrelih stanica. Primatelj prima režim kondicioniranja koji se sastoji od kemoterapije, često u kombinaciji sa radioterapijom i deplecijom T-stanica kako bi suprimirali imunološki odgovor primatelja te time smanjili mogućnost odbacivanja presatka. Nakon toga daje se infuzija prikupljenih matičnih stanica (3). Unatoč napretku u metodama HLA tipizacije darivatelja i imunosupresiji nakon transplantacije, akutni GvHD i dalje je značajan uzrok mortaliteta i morbiditeta povezanih s transplantacijom nakon HSCT-a, čak i u potpunoj podudarnosti HLA između braće i sestara (1).

Mehanizam nastanka aGvHD možemo opisati kroz tri faze. Prva faza je aferentna faza, to jest faza ozljede tkiva. Ozljeda tkiva nastaje tijekom postupka kondicioniranja, zbog primjene

kemoterapije i povremenog zračenja tijela kako bi se uništio imunosni i hematopoetski sustav primatelja. Bakterijski endotoksini, lipopolisaharidi, mogu prijeći iz lumena crijeva u cirkulaciju i time potaknuti oslobađanje upalnih citokina, uključujući IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, IFN i GM-CSF (engl. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-SCF). Oni pojačano djeluju na regulaciju ekspresije MHC molekula i adhezijskih molekula na staničnoj površini antigen-prezentirajućih stanica (engl. Antigen-presenting cells, APC) primatelja koji posreduju u aloimunom odgovoru zrelih T stanica darivatelja. Ova „citokinska oluja“ važan je posrednik za pojavu i težinu aGvHD, a spomenuti polimorfizam alogenih gena izravno utječe na mehanizam nastanka. Međutim, ravnoteža između pro-upalnih i protu-upalnih citokina je složena i ovisi o mnogim transplantacijskim čimbenicima, poput načina kondicioniranja, izvora matičnih stanica, broju T stanica transplantanta i tipu profilakse (1).

Druga faza je faza indukcije i ekspanzije T stanica darivatelja. Ova faza najvažniji je korak u razvoju aGvHD-a. T stanice darivatelja prepoznaju kompleks peptid-MHC molekula izraženih na staničnoj površini APC stanica primatelja. Peptidi u kompleksu peptid-MHC nastaju procesiranjem bjelančevina od strane APC stanica. Aktivacija T stanica darivatelja određena je interakcijom peptid-MHC kompleksa i antigen-specifičnog T staničnog receptora (engl. T cell receptor, TCR). U slučaju kad su HLA u potpunosti podudarni, prepoznaje se razlika u peptidima u kompleksu peptid-MHC, tzv. MiH. Uočena je važnost vaskularnih antigena u aktivaciji i adheziji T stanica darivatelja. Vaskularni antigeni pojačano su izraženi na trombocitima, endotelu, monocitima, granulocitima i limfocitima te imaju ulogu adhezije (prianjanja) T stanica darivatelja. Veze između antigena i T stanica su slabe, stoga za potpunu adheziju treba proći dovoljno vremena (8).

Aktivacija T stanica darivatelja ovisi o dva signala. Prvi signal polazi od interakcije TCR-peptid-MHC kompleksa. Drugi signal dolazi od kostimulacijskih signala od strane APC stanica nastalih direktnom interakcijom stanica. Drugi signali regulira prvi signal. Kostimulacijski signali dovode do tri moguća ishoda; potpune aktivacije, djelomične aktivacije te stanja nereaktivnosti (anergije). Kostimulacijske molekule za T stanice su iz B7 skupine antigena; B7-1 (CD80) i B7-2 (CD86) koji se vežu za CD40/CD40L receptore. Dva se receptora nalaze na T stanicama: CD28 i CTLA-4 na koje se veže B7 ligand. Upravo kostimulacijski signal s CD28, inhibitorni signal CTLA-4 te signal s TCR utječu na spomenuta tri moguća ishoda T stanične aktivacije. Aktivacija T stanica izrazito je kompleksna te ovisi o kostimulacijskim i inhibitornim signalima, ali i stanju zrelosti APC i T stanica (8).

U trećoj fazi, fazi efektora dolazi do izravnog i neizravnog oštećenja primateljevih stanica. Za disfunkciju i oštećenje organa odgovoran je vrlo kompleksan mehanizam aktiviranih T stanica. Aktivirane T stanice otpuštaju citokine.  $CD4^+$  i  $CD8^+$  T-limfociti izlučuju IL-2, GM-CSF, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  koji dovode do aktivacije T stanica, monocita, NK stanica.  $T_H1$  stanice proizvode IFN- $\gamma$  i IL-2, te je ta njihovu proliferaciju odgovoran IL-2.  $T_H2$  stanice proizvode IL-4,6,10 te je za proliferaciju potreban IL-4 ili IL-10. Prevlast  $T_H1$  limfocita može dovesti do aktivacije citotoksičnih T limfocita (engl. Cytotoxic T lymphocyte, CTL) koji doprinose razvoju aGvHD-a, dok prevlast  $T_H2$  stanica sprječava razvoj aGvHD-a. Ako T stanice darivatelja sazriju u  $T_H2$  fenotip uz pomoć IL-10, one prelaze u stanje nereaktivnosti te ne uzrokuju aGvHD (8). T stanice izlučuju TNF- $\alpha$  koji djeluje na mnogobrojne stanice u tijelu te dovodi do njihove apoptoze i upale (11). Mehanizmi oštećenje organa i tkiva posredovana NK i CTL stanicama su citoliza stanica posredovana perforin-granzim B interakcijom te apoptoza stanica Fas-Fas ligandom. Interakcija Fas-FasL ima ulogu u započinjanju apoptoze, a vezanjem perforina na ciljnu stanicu, dolazi do otpuštanja granzim A i B koji aktiviraju kaspaznu kaskadu te posljedično citolizu stanice (8). Ova disregulacija dovodi do kliničke manifestacije aGvHD.

## KLINIČKA SLIKA

Klinička manifestacija akutnog GvHD-a prezentira se zahvaćanjem tri organa: kože, jetre i gastrointestinalnog trakta (6). Akutni GvHD može zahvatiti i druge organe – krvotvorne organe, oči, bubrege te izrazito rijetko usta i pluća.

Akutni GvHD najranije i najčešće se klinički manifestira na koži (6). Pojavljuje se makulopapularni osip na tabanima i na dlanovima koji se kasnije širi prema vratu, licu, prsima i trupu (1). Pacijenti se mogu žaliti na svrbež ili povećanu osjetljivost na zahvaćenim dijelovima kože (6). U pacijenata koji su primili slabiji intenzitet kondicioniranja (koji ne rezultira ablacijom srži) primijećeno je kasnije pojavljivanje aGvHD-a. Razlog tomu je manje oštećenje prilikom kondicioniranja pri kojima otpušteni citokini sporije pokreću imunološki sustav te odgovor imunološkog sustava rezultira akutnim GvHD-om nešto kasnije (6). Blagi kožni oblik aGvHD-a može se spontano povući dok u težim oblicima, kožne lezije mogu prijeći u generalizirani eritem, a u najtežim slučajevima nastaje epidermioliza sa stvaranjem bula i deskvamacijom (4,8). Progresija aGvHD-a kože može se klinički definirati u četiri stupnja ovisno o opsegu zahvaćenosti kože (8). U *tablici 2.* navedeno je stupnjevanje kožnog oblika aGvHD-a s odgovarajućim promjenama. Kao diferencijalnu dijagnozu osipa u aGvHD-u treba uzeti u obzir kožne promjene nastale kao posljedica kemoterapija, lijekova i virusnih infekcija (8).

*Tablica 2. Stupnjevanje aGvHD-a kože (4)*

<b>Koža</b>	
<b>Stupnjevi</b>	Opis promjene
<b>1</b>	Makulopapularni osip <25% kože
<b>2</b>	Makulopapularni osip 25-50% kože
<b>3</b>	Generalizirana eritroderma
<b>4</b>	Generalizirana eritroderma s bulama i deskvamacijom

Drugi često zahvaćeni organ u akutnom GvHD-u je jetra. Rijetko kad pacijenti imaju umjereno do tešku bolest jetre u aGvHD-u bez zahvaćenosti kože (8). Najranije jetrene promjene se očituju kao žutica sa konjugiranom hiperbilirubinemijom i povišenim koncentracijama alkalne



fosfataze i serumskog kolesterola (4,8). Ove jetrene promjene nastaju kao posljedica oštećenja žučnih kanalića koji dovode do kolestaze. Povećanje jetre, taman urin, blijeda stolica i svrbež se rijetko opažaju u pacijenata (4). Zatajenje jetre s encefalopatijom je neuobičajena promjena u aGvHD-u, te se može razviti ukoliko GvHD traje duže vrijeme (8). Diferencijalno dijagnostički ovakve promjene mogu uzrokovati i druge bolesti poput hepatičko veno-okluzivne bolesti, infekcija jetre (prvenstveno virusnih), sepse i nuspojava lijekova (8). Stupanj i težina aGvHD-a određuje se prema koncentraciji konjugiranog bilirubina (4). U *tablici 3.* navedeni su stupnjevi težine zahvaćenost jetre.

*Tablica 3. Stupnjevanje aGvHD-a jetre (4)*

<b>Jetra</b>	
<b>Stupnjevi</b>	<b>Opis promjene</b>
<b>1</b>	Bilirubin 2-3 mg/dl; AST 150-750 IU
<b>2</b>	Bilirubin 3,1-6,0 mg/dL
<b>3</b>	Bilirubin 6,1-15,0 mg/dL
<b>4</b>	Bilirubin > 15 mg/dL

Treći zahvaćeni organ u akutnom GvHD-u je gastrointestinalni (GI) trakt. Može zahvatiti bilo koji dio gastrointestinalnog trakta. Klinička manifestacija uključuje krvavu dijareju (ominozan znak), grčevite bolove u trbuhu, mučninu, povraćanje, distenziju te u najtežim slučajevima paralitički ileus i perforaciju (4,8). Potrebno je svakako isključiti infektivni razlog dijareje odrediti. Sekretorni proljev kod aGVHD može biti veći od deset litara dnevno, a može potrajati i nakon prestanka oralnog uzimanja lijekova. Na početku je proljev vodenast kao posljedica neuravnotežene reapsorpcije soli i vode, ali poslije često postaje krvav s povećanom potrebom za transfuzijama krvi. Kao moguću diferencijalnu dijagnozu u obzir treba uzeti infekcije bakterijama kao što su na primjer *Clostridium difficile*. Akutni GvHD gornjeg GI trakta opisuje se kao poseban entitet. Klinički se manifestira anoreksijom, dispepsijom, intolerancijom na hranu, mučninom i povraćanjem. Akutni GvHD koji zahvaća gornji GI trakt bolje reagira na imunosupresivno liječenje (8). U *tablici 4.* navedeni su stupnjevi zahvaćenosti GI sustava.

Tablica 4. Stupnjevanje aGvHD-a GI sustava (4)

Gastrointestinalni sustav	
Stupnjevi	Opis promjene
1	Proljev > 30 ml/kg ili > 500ml/dan
2	Proljev > 60 ml/kg ili > 1000ml/dan
3	Proljev > 90 ml/kg ili > 1500ml/dan
4	Proljev > 90 ml/kg ili > 2000ml/dan + izrazita bol u trbuhu +/- ileus

Promjene na očima manifestiraju se kao konjuktivitis, fotofobija, smanjeno ili povećano suzenje očiju (4,14). Uočena je veća incidencija suhoće očiju prilikom transplantacije matičnih stanica periferne krvi nego iz koštane srži ili pupkovine (3). Iako se ovakve promjene na očima uočavaju u akutnom, ipak su one češće u cGvHD-u. Primijećeno je kako očnom obliku GvHD-a prethode kožne promjene tijekom akutnog i kroničnog GvHD-a (15). Zahvaćenost bubrega prezentira se kao nefritis i nefrotski sindrom (4). Kliničke promjene na usnama i oralnoj sluznici, poput eritema i ulceracija, nespecifični su i rijetko se pojavljuju u aGvHD-u (16). U aGvHD-u može biti zahvaćen i hematopoetski sustav što je opisano u ranijim životinjskim studijama. U limfnim čvorovima je tako opisano smanjenje zametnih centara nakon presatka koštane srži. Opažamo abnormalan omjer CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> stanica u krvi i limfnim čvorovima, što može dovesti do razvoja teških infekcija. Također, aGvHD utječe na hematopoezu stanica te uzrokuje smanjenje krvnih stanica, osobito trombocita. Smanjenje hematopoeze uočeno je na mišjim modelima, ali i u pacijenata nakon primjene infuzije darivateljevih limfocita. (8)

Glucksbergova klasifikacija bila je prva klasifikacija aGvHD-a opisana još davne 1974. godine te je to (17). Svaki stupanj zahvaćenosti organa označen je brojem 0 do 4 te kombinacije zahvaćenost organa određuju stadij težine kliničke slike aGvHD-a (5). Postoji i indeks težine aGvHD-a prema Međunarodnom registru za transplantaciju koštane srži (engl. International Bone Marrow Transplant Registry, IBMTR) (4)

Tablica 5. Glucksbergovi stupnjevi aGvHD-a (4)

<b>GLUCKSBERGOVI stupnjevi aGvHD-a</b>	
<b>Stadij</b>	
<b>I</b>	Kožni stupanj 1 ili 2 Bez zahvaćenost jetre i crijeva, PS 0
<b>II</b>	Kožni stupanj od 1 do 3 Stupanj jetra ili crijeva 1; PS 1
<b>III</b>	Stupanj 2 ili 3 zahvaćenost kože, crijeva ili jetre; PS 2
<b>IV</b>	Kožni stupanj od 1 do 4, stadij 2-4 jetre ili crijeva; PS 3

Tablica 6. Indeks težine aGvHD-a prema IBMRT-u (4)

<b>Indeks težine aGvHD-a prema IBMRT-u</b>	
<b>Stadij</b>	<b>Opis promjene</b>
<b>I</b>	Kožni stupanj 1 Bez zahvaćenost jetre i crijeva
<b>II</b>	Kožni stupanj 2 Stupanj jetra ili crijeva 1-2
<b>III</b>	Stupanj 3 zahvaćenost kože, crijeva ili jetre
<b>IV</b>	Stupanj 4 zahvaćenost kože, crijeva ili jetre

## DIJAGNOZA

Dijagnoza akutnog GvHD-a temelji se na kliničkoj slici i patohistološkom nalazu (6).

Histološke značajke GVHD kože su diskeratoza, egzocitoza limfocita, nekroza u bazalnim sloju, limfociti (sateliti) uz diskeratotične epidermalne keratonocite i perivaskularna limfocitna infiltracija u dermisu (18). Ne nalazimo sve histološke značajke u svim biopsijama niti je ovakav histološki nalaz patognomičan za aGVHD (6).

Biopsija crijeva zahvaćenog GVHD-om dobivena endoskopijom GI trakta prikazuje ulceracije, ljuštenje sluznice i nekrozu stanica kripte (18). Najčešće histološke promjene nalazimo u slijepom crijevu, ileumu i debelom crijevu (6). U pacijenata sa simptomima gornjeg GI trakta, endoskopija gornjeg GI trakta može biti izuzetno korisna u postavljanju dijagnoze. Biopsije GI trakta korisne su za isključenje ostalih patoloških stanja GI trakta (18).

U histološkom nalazu jetre nalazimo infiltraciju žučnih kanala citotoksičnim limfocitima koji dovode do nastanka nepravilnih oblika žučnih kanala. Nalazimo spljoštene epitelne stanice bez jezgara, dok ostale stanice imaju povećane, nepravilne i hiperkromatske jezgre te endolilitijazu (6). Često se u biopsijama jetre opisuju veće količine željeza što nije patološki nalaz, nego vrlo vjerojatno posljedica korištenja krvnih pripravaka tijekom liječenja osnovne bolesti i transplantacije, ali veće količine željeza mogu predstavljati nepovoljni prognostički čimbenik. Zbog rizika od krvarenja zbog trombocitopenije, izbjegava se uzimati uzorak jetre za biopsiju i postavljanje dijagnoze (18). Transjugularna biopsija je poželjnija od perkutanih biopsija jetre jer je rizik od krvarenja manji (8). Biopsija jetre može biti korisna u dijagnosticiranju aGVHD-a od drugih stanja koji dovode do oštećenja jetre.

U *tablici 7.* je prikazano stupnjevanje histoloških promjena aGVHD-a kože, jetre i gastrointestinalnog sustava.

Tablica 7. Stupnjevanje histoloških promjena akutnog GvHD-a (5)

<b>Organ</b>	<b>Histološke značajke</b>
<b>Koža</b>	<p>Stupanj I: vakuolizacija bazalnog sloja dermoepidermalne granice</p> <p>Stupanj II: vakuolizacija bazalnog sloja, nekroza epidermalnih stanica, infiltracija limfocita</p> <p>Stupanj III: stupanj II + stvaranje rascjepa na dermoepidermalnoj granici</p> <p>Stupanj IV: stupanj II + odvajanje dermisa od epidermisa</p>
<b>Jetra</b>	<p>Oštećenja malih žučnih kanalića. Epitelne stanice žučnih kanalića imaju povećanu hiperkromatsku jezgru ili malu piknotičku jezgru i vakuoliziranu citoplazmu.</p> <p>Postoji stupnjevanje histopatoloških značajki jetre, ali nema dokazanu prognostičku vrijednost.</p>
<b>Gastrointestinalni sustav</b>	<p>Stupanj I: nekroze pojedinačnih stanica</p> <p>Stupanj II: gubitak pojedinačnih kripti</p> <p>Stupanj III: gubitak dvije ili više kripti s ulceracijama</p> <p>Stupanj IV: denudacija epitela</p>

Izvor: Poglavlje 43, Acute Graft-Versus-Host Disease (5)

## PROFILAKSA

Unatoč terapiji, ishod aGvHD-a je izrazito loš, stoga je korištenje učinkovite profilakse standardni pristup u kontroli ove ozbiljne komplikacije. Svakako je prvi korak u profilaksi aGvHD-a ukoliko je moguće smanjiti odnosno izbjeći rizične čimbenike koji dovode do aGvHD-a (8). Najčešće se kao profilaksa daje kombinacija inhibitora kalcineurina (ciklosporin ili takrolimus) s jednim imunosupresivnim lijekom (mikofenolat mofetil ili metotreksat). Pacijentima koji primaju presadak od nesrodnog darivatelja potrebna je jača imunosupresivna terapija (6). U pacijenata s mijeloablativnom pripremom profilaksa se provodi primjenom ciklosporina s metotreksatom. Početna doza ciklosporina je 3mg/kg/dan iv, kasnije se doza određuje prema ciljnoj koncentraciji u serumu. Trajanje profilakse je do šest mjeseci, ukoliko se ne razvije GvHD. Metotreksat se daje u četiri doze; prvog dana nakon transplantacije u dozi od 15 mg / m<sup>2</sup>, zatim trećeg, šestog i jedanaestog dana u dozi od 10 mg /m<sup>2</sup>. U slučaju pojave toksičnosti, treba izostaviti dozu metotreksata jedanaestog dana. U pacijenata s nemijeloablativnom pripremom najčešće se primjenjuje ciklosporin i mikofenolat mofetil. Početna doza ciklosporina je 3 mg/kg/dan, kasnije se doza određuje prema ciljnoj koncentraciji u serumu. Doza mikofenolat mofetila je 30 mg/kg/dan podijeljena u dvije doze, a početak primjene je dan nakon transplantacije (4).

Jedna od alternativnih metoda prevencije GvHD-a je deplecija T-limfocita (engl. T cell depletion, TCD). Provodi se na dva načina; *ex vivo* prije infuzije ili *in vivo* korištenjem monoklonalnih ili poliklonalnih protutijela (5). Česti recidivi leukemija i po život opasnih infekcija ograničili su provođenje *ex vivo* TCD-a i ona se danas vrlo rijetko izvodi. *In vivo* TCD provodi se koristeći antitimocitni globulin (ATG – engl. Antithymocyte globulin) te je dokazana da ATG smanjuje incidenciju aGvHD-a te ne povećava incidenciju relapsa u pacijenata koji su dobili presadak od nesrodnog darivatelja (19).

## TERAPIJA

Liječenje akutnog GvHD-a zahtijeva primjenu sistemske terapije, osim prvog stupnja koji se prati te liječi topikalnom primjenom kortikosteroida (5).

Prvi stupanj aGvHD-a koji zahvaća samo kožu, liječi se topikalnom primjenom kortikosteroida (5). U pacijenata s izraženim svrbežom korisno je davanje antihistaminika. Prilikom rezistentnog oblika prvog stupnja aGvHD-a može pomoći davanje topikalnog takrolimusa. U odraslih se primjenjuje 0.1% takrolimus, dok se u djece od dvije do petnaest godina primjenjuje 0.03% takrolimus (18).

Prva linija liječenja započinje se primjenom visokih doza metilprednizolona, najčešće se daje 2 mg/kg/dan podijeljen u dvije doze narednih sedam do četrnaest dana. Nakon toga doza se postepeno smanjuje u slučaju povoljnog učinka. Smanjenje doze kortikosteroida može biti popraćeno pogoršanjem simptoma, u tom slučaju taj problem se može riješiti povećanjem doze te polaganijim smanjenju doze u drugom pokušaju. Što je klinički teži stupanj aGvHD-a, to je veća vjerojatnost nedostatnog odgovora na liječenje kortikosteroidima. Pacijenti s blažim oblikom aGvHD-a koji zahvaća gornji dio GI trakta, mogu započeti liječenje s manjom dozom kortikosteroida uz istovremenu topikalnu primjenu lijekova. Liječenje s visokim dozama kortikosteroida ima za posljedicu teže komplikacije uzrokovane pojavom virusnih i gljivičnih infekcija, te u takvih pacijenata treba razmotriti primjenu profilakse antifungalnim, antivirusnim te antibakterijskim lijekovima, ukoliko ih bolesnik već ne uzima (5).

Izostanak odgovora na prvu liniju zahtijeva liječenje drugom linijom terapije. Izostanak odgovora definira se kao pogoršanje simptoma tri do pet dana nakon početka liječenja ili kao nepotpuni odgovor nakon sedam dana liječenja, odnosno recidiv simptoma nakon smanjenja doza kortikosteroida (5). Tada govorimo o aGvHD-u rezistentnom na kortikosteroide (engl. Glucocorticoid (GC)-resistant aGvHD) (20). Po najnovijim smjernicama izbor terapije druge linije je je ruksolitinib, inhibitor nereceptorskih tirozinskih kinaza zvanih Janus kinaze (JAK) (20). Druge opcije lijekova i terapijskih postupaka u drugoj liniji liječenja su ekstrakorporalna fotofereza (ECP), mikofenolat mofetil (MMF), monoklonska protutijela, ATG, sirolimus, pentostatin (18). Uobičajeno ove opcije pokazuju slabije ishode liječenja, a u slučaju izostanka odgovora na drugu i slijedeće linije liječenja krajnji ishod aGvHD-a rezultira otprilike 80% - tnom smrtnosti (5). U tijeku su ispitivanja učinkovitosti novih terapijskih opcija, mahom lijekova koji inhibiraju unutarstanične signalne puteve – već spomenutu Janus aktiviranu kinazu

(JAK1/2), CD28 (aurora kinaza), staničnih migracija (ROCK) ili signalnih staničnih faktora (MEK) (5).

Ruksolitinib oralni inhibitor JAK1 i JAK2 unutarstaničnih signalnih puteva kojeg je Agencija za hranu i lijekove SAD (FDA – engl. The Food and Drug Administration), a potom u europska regulatorna agencija EMA odobrila u liječenju GVHD u drugoj liniji pacijenata starijih od 12 godina. U randomiziranoj studiji *Zeiser et al 2020*, u trećoj fazi ispitivanja lijekova, terapija ruksolitinibom dovela je do značajnog poboljšanja u pacijenata sa stupnjem II-IV aGvHD-a. Dokazan je bolji terapijski odgovor već 28. dana od uzimanja ruksolitiniba dok je još učinkovitiji bio dugotrajniji odgovor 56. dana u usporedbi s kontrolnom skupinom. Također, terapija ruksolitinibom bila je povezana s duljim preživljavanjem pacijenata. Pacijenti koji su primali ruksolitinib imali su veću incidenciju trombocitopenije, anemije, infekcija i infekcije CMV-a od onih koji su primali kontrolnu terapiju. Ruksolitinib se primjenjuje u dozi od se 10 mg per os dva puta dnevno. U slučaju pojave citopenije ili druge toksičnosti, doza se može smanjiti. Lijek je kontraindiciran u pacijenata s brojem trombocita manjim od  $10\ 000/\mu\text{L}$ . Nuspojave ruksolitiniba su citopenija, disfunkcija jetre, neurološke tegobe, reaktivacije virusnih infekcija te bakterijske i gljivične infekcije.

Ekstrakorporalna fotofereza (engl. Extracorporeal photopheresis, ECP) je imunomodulatorna stanična terapija. U jednom ciklusu afereze procesuiru se do 15% volumena krvi pacijenta, izolira se otprilike  $5 \times 10^9$  leukocita kojima se dodaje 8-metoksipsoralena, nakon čega se pripravak izlaže ultraljubičastom A zračenju i vraća u infuziji bolesniku. Ovim postupkom inducira se apoptoza leukocita, uključujući i apoptozu aktiviranih T limfocita unutar 24 sata od reinfuzije pripravka (18). Primijećeno je da pacijenti koji prolaze kroz postupak ECP-a dva puta tjedno, imaju puno bolji odgovor s manje nuspojeva (5). Nuspojave su blagog karaktera, a uključuju hipotenziju, vrućicu i smanjenje razine hemoglobina. Ne čini se da postupak ECP dovodi do povećanog rizika od infekcija ili recidivu (18).

U drugoj liniji terapije može se primijeniti jedan ili više monoklonskih protutijela (alemtuzumab, daclizumab, inolimomab, infliximab, etanercept). Alemtuzumab je monoklonalno protutijelo usmjereno na marker CD52 zrelih T-limfocita, (5). Iako je u nekoliko studija dokazan bolji medijan preživljenja u pacijenata s aGvHD-om rezistentnim na steroide, ipak je u drugoj fazi ispitivanja lijeka iako je polovica pacijenata je odgovorila na terapiju alemtuzumabom medijan preživljenja bio izrazito nizak. Daclizumab i inolimomab protutijela su usmjerena na  $\alpha$  podjedinicu IL-2 receptora izraženu na aktiviranim T stanicama (5). Nekoliko studija je izvijestilo o obećavajućim rezultatima liječenja pacijenata daclizumabom, ali



randomizirana studija dokazala je značajno lošije preživljenje, nego kod liječenja samo kortikosteroidima. Infliksimab i etanercept inhibitori su TNF- $\alpha$  koji sudjeluje u patogenezi akutnog GvHD-a. Uočen je povećan rizik od infekcija u pacijenata liječenih infliksimabom (18). Etanercept u kombinaciji s metilprednizolonom pokazao je veću vjerojatnost postizanja boljeg odgovora na terapiju, a time i bolje preživljenje pacijenata za razliku od onih koji su liječeni samo etanerceptom (23). U dva istraživanja uočen je dobar odgovor gastrointestinalnog GvHD-a na inhibitore TNF- $\alpha$  (22,23).

Antitimocitni globulin (engl. Antithymocyte globulin, ATG) poliklonalno je protutijelo koje je moguće primijeniti u pacijenata s akutnim GvHD-om (18). Studije ne prikazuju razliku u preživljavanju pacijenata liječenih samo s ATG-om ili s kombinacijom ATG-a i kortikosteroida, te je liječenje ATG-om prepušteno odluci i iskustvu liječnika (18).

Sirolimus, odnosno rapamicin djeluje imunosupresivno inhibirajući mTOR receptor (od *engl. Mammalian Target of Rapamycin*). Može biti koristan u liječenju III/IV stupnja aGvHD-a rezistentnog na steroide, ali treba biti oprezan u primjeni ovog lijeka. Lako stvara mnogobrojne interakcije s ostalim lijekovima te je u pacijenata liječenih kombinacijom sirolimusa i inhibitora kalcineurina uočena pojava hemolitičko-uremičnog sindroma i hiperlipidemije (18).

Mikofenolat mofetil (MMF) je 2-(4-morfolino) etil ester mikofenolične kiseline. Brzo se apsorbira nakon oralne primjene i hidrolizira se u mikofenoličnu kiselinu. Selektivno blokira *de novo* put sinteze purina u limfocitima i reverzibilno inhibira inozin monofosfat dehidrogenazu. U randomiziranoj studiji pacijenti liječeni kombinacijom MMF-a i kortikosteroida u usporedbi s drugim lijekovima (etanercept, pentostatin) su imali brži kompletni odgovor na liječenje i nižu stopu pojave infekcije (18).

Uspješnom se pokazala upotreba mezenhimalnih stromalnih matičnih stanica (engl. Mesenchymal stromal stem cells, MSCs) u liječenju pacijenata s teškim oblicima akutnog GvHD-a (5). MSCs su nediferencirane pluripotentne matične stanice koje moduliraju imunološki i upalni odgovor te olakšavaju oporavak vezivnog tkiva (18). MSCs imaju drugačiji imunosupresivni učinak koji nije ograničen na HLA sustav (5).

Pentostatin analog je nukleozida i inhibitor adenzin deaminaze. Smrt stanica nastaje kao posljedica nakupljanja 2-deoksiadenozin 5-trifosfata, pogotovo u T limfocitima i NK stanicama. Koristi se u liječenju akutnog i kroničnog GvHD-a (18).

Nova metoda je i infuzija  $\alpha$ -1-antitripsina (engl, alpha-1-antitrypsin, AAT) koji ima protuupalni i stimulirani učinak na regulatorne T limfocite. U jednoj studiji dvanaest pacijenata s aGvHD-om rezistentnim na kortikosteroide liječeni su s AAT-om. Svi pacijenti su imali III/IV stupanj aGvHD-a s četvrtim stupnjem zahvaćenost crijeva. Studija je pokazala da pacijenti dobro podnose AAT i da ima učinkovitost u liječenju teškog akutnog GvHD-a. (24) Vedolizumab je protutijelo usmjereno protiv  $\alpha$ 4/ $\beta$ 7 integrina koji je selektivno izražen u GI traktu i odobren je za liječenje Crohnove bolesti. Prva istraživanja opažaju dobar terapijski odgovor u aGvHD-u rezistentnom na kortikosteroide, međutim uočena je i visoka smrtnost uzrokovana infekcijama (5).

## ZAKLJUČAK

Akutna bolest darivatelja protiv primatelja (aGvHD) velika je prepreka u uspješnom izlječenju bolesnika nakon alogene transplantacije krvotvornih matičnih stanica. Težina i brzina razvoja simptoma aGvHD-a ovisi o mnogobrojnim čimbenicima, poput razine HLA podudarnosti i tipu transplantata. Primjenom terapije kondicioniranja nastaje oštećenje tkiva u primatelja koje započinje proces nastanka aGvHD-a. T limfociti darivatelja prisutni u transplantatu aktivirani su od strane APC stanica primatelja i darivatelja te dolazi do otpuštanja citokina. Mnogobrojni citokini sudjeluju, potiču upalu i uzrokuju oštećenje tkiva kože, jetre i gastrointestinalnog sustava. Dodatno citotoksično oštećenje posredovano je stanicama darivatelja i primatelja.

Kožni oblik aGvHD-a manifestira se kao makulopapularni osip koji se pojavljuje isprva na dlanovima i tabanima te se može proširiti na ostatak tijela. U najtežim obliku može se pojaviti epidermioliza s bulama. Oštećenja na jetri očituju se kao žutica i hiperbilirubinemija, a rijetko se razvijaju teži oblici jetrenog oštećenja. Krvava dijareja, mučnina, povraćanje i grčeviti bolovi razvijaju se kod zahvaćenosti gastrointestinalnog sustava. Teže komplikacije koje se mogu pojaviti su ileus i perforacija crijeva. Težina i stupanj aGvHD-a određuje se prema Glucksbergovim kriterijama odnosno IBMTR kriterijima. Dijagnoza se temelji na kliničkoj slici, ali i biopsiji zahvaćenih organa.

Svakako treba što više smanjiti i izbjeći rizične čimbenike koje pogoduju razvoju aGvHD-a, a kao profilaksa najčešće se daje kombinacija inhibitora kalcineurina i jednog imunosupresivnog lijeka. Terapija ovisi o stadiju aGvHD-a. Prvi stadij zahvaća kožu te njega liječimo topikalnom primjenom steroida. Stadij II-IV liječimo sistemskom primjenom kortikosteroida. Po novim smjernicama, ukoliko aGvHD ne reagira na liječenje kortikosteroidima, radi se o aGvHD-u rezistentnom na kortikosteroide i lijek izbora je tada ruksolitinib. Ruksolitinib je nedavno odobren u drugoj liniji liječenja te se pokazao vrlo učinkovitim u liječenju težih stupnjeva aGvHD-a. Ostali lijekovi i terapijskih postupci primjenjuju se ovisno o težini bolesti pacijenta i iskustvu liječnika, odnosno transplantacijskog centra. Mnogo se vremena i znanja ulaže u istraživanje lijekova koji inhibiraju unutarstanične signalne puteve, a koji imaju važnu ulogu u aktivaciji T limfocita, a time i u razvoju aGvHD-a.

## ZAHVALE

Prije svega zahvaljujem svojoj mentorici izv. prof .dr. sc Nadiri Duraković, dr. med, na strpljenju, stručnoj pomoći i odvojenom vremenu oko izrade ovog diplomskog rada. Njeno znanje, trud i ljubav prema medicini koje nam je prenijela tijekom nastave ostat će mi zauvijek urezano u pamćenje te će mi biti velika inspiracija kroz život.

Zahvaljujem se svim prijateljima, onima od prije i onima koje sam upoznala tijekom studiranja na nezaboravnim uspomena, ali i podršci koju su mi pružili tijekom studentskih ispita. Vrijeme provedeno u učionici s vama bilo je mnogo ljepše čak kad su se učili i najteži predmeti.

Posebno hvala sestri Emi, bratu Igoru i dečku Josipu koji su bili za mene u najstresnijim situacijama. Svaki pruženi osmijeh i dobra riječ itekako mi je pomogla tijekom studiranja. Za vas znam da ste se najiskrenije veselili svakom položenom ispitu i bili najradosniji kad bih došla kući.

Na kraju, najveće hvala mojim roditeljima, mami Božici i tati Marinku, na beskrajnoj podršci, strpljenju i razumijevanju za svaki (ne)položeni ispit tijekom ovih šest godina. Hvala im što su financijski izdržali moje školovanje, ali i studentski život koji će mi ostati zauvijek u sjećanju. Bez vas ništa ovo ne bi bilo. Hvala vam do neba i natrag!

## LITERATURA

1. Ball, L. M., & Egeler, R. M. (2008). Acute GvHD: pathogenesis and classification. *Bone Marrow Transplantation*, 41(S2), S58–S64.
2. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Transplantacijska imunologija*. U: *Stanična i molekularna imunologija*. 2018. str. 359–82.
3. Espana, E. M., Shah, S., Santhiago, M. R., & Singh, A. D. (2013). Graft versus host disease: clinical evaluation, diagnosis and management. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 251(5), 1257–1266.
4. Boris Labar i suradnici. *Transplantacija krvotvornih matičnih stanica*. U: *Hematologija*. 2017. str. 591-595.
5. Holler E, Greinix H, Zeiser R. Acute Graft-Versus-Host Disease. U: *The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies*. 2019. str. 323–30.
6. Jacobsohn, D. A., & Vogelsang, G. B. (2007). Acute graft versus host disease. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2(1), 35.
7. Anasetti C, G.Beatty P, Storb R, Martin PJ, Mori M, Sanders JE, i ostali. Effect of HLA incompatibility on graft-versus-host disease, relapse, and survival after marrow transplantation for patients with leukemia or lymphoma. *Hum Immunol*. 1990.;29(2):79–91
8. Goker, H. (2001). Acute graft-vs-host disease Pathobiology and management. *Experimental Hematology*, 29(3), 259–277.
9. Gale, R. P., Bortin, M. M., Bekkum, D. W., Biggs, J. C., Dicke, K. A., Gluckman, E., ... Zwaan, F. E. (1987). Risk factors for acute graft-versus-host disease. *British Journal of Haematology*, 67(4), 397–406.
10. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Svojstva i pregled imunskih odgovora*. U: *Stanična i molekularna imunologija*. 2018. str. 1-13.
11. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Molekule glavnog kompleksa tkivne podudarnosti i predočivanje antigena limfocitima T*. U: *Stanična i molekularna imunologija*. 2018. str. 107– 36.
12. Teshima, T., Reddy, P., & Zeiser, R. (2016). Acute Graft-versus-Host Disease: Novel Biological Insights. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 22(1), 11–16.
13. Summers, C., Sheth, V. S., & Bleakley, M. (2020). Minor Histocompatibility Antigen-Specific T Cells. *Frontiers in Pediatrics*, 8. doi:10.3389/fped.2020.00284

14. Qiu, Y., Hong, J., & Peng, R. (2018). Manifestation of Clinical Categories of Ocular Graft-versus-Host Disease. *Journal of Ophthalmology*, 2018, 1–7.
15. Na, K.-S., Yoo, Y.-S., Mok, J. W., Lee, J. W., & Joo, C.-K. (2015). Incidence and risk factors for ocular GVHD after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 50(11), 1459–1464.
16. Elad, S., Aljitawi, O., & Zadik, Y. (2020). Oral graft- versus -host disease: a pictorial review and a guide for dental practitioners. *International Dental Journal*
17. Glucksberg H, Storb R, Fefer A, et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation*. 1974;18:295–304.
18. Dignan, F. L., Clark, A., Amrolia, P., Cornish, J., Jackson, G., ... Mahendra, P. (2012). Diagnosis and management of acute graft-versus-host disease. *British Journal of Haematology*, 158(1), 30–45.
19. Busca, A., & Aversa, F. (2017). In-vivo or ex-vivo T cell depletion or both to prevent graft-versus-host disease after hematopoietic stem cell transplantation. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 1–15.
20. Chao NJ, Negrin RS, Rosman AG. Treatment of acute graft-versus-host disease [Internet]. UpToDate. 2020 [citirano 11. srpnja 2022.]. Dostupno na: [www.up2date.com](http://www.up2date.com)
21. Zeiser, R., von Bubnoff, N., Butler, J., Mohty, M., Niederwieser, D., Or, R., ... Socié, G. (2020). Ruxolitinib for Glucocorticoid-Refractory Acute Graft-versus-Host Disease. *New England Journal of Medicine*, 382(19), 1800–1810
22. Busca, A., Locatelli, F., Marmont, F., Ceretto, C. & Falda, M. (2007) Recombinant human soluble tumor necrosis factor receptor fusion protein as treatment for steroid refractory graft-versus-host disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *American Journal of Hematology*, 82, 45–52.
23. Levine, J.E., Paczesny, S., Mineishi, S., Braun, T., Choi, S.W., Hutchinson, R.J., Jones, D., Khaled, Y., Kitko, C.L., Bickley, D., Krijanovski, O., Reddy, P., Yanik, G. & Ferrara, J.L. (2008) Etanercept plus methylprednisolone as initial therapy for acute graft-versus-host disease. *Blood*, 111, 2470–5.
24. Marcondes, A. M., Hockenbery, D., Lesnikova, M., Dinarello, C. A., Woolfrey, A., Gernsheimer, T., ... Deeg, H. J. (2016). Response of Steroid-Refractory Acute GVHD to  $\alpha$  1 -Antitrypsin. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 22(9), 1596–1601.

## ŽIVOTOPIS

Rođena sam 1. srpnja 1997. godine u Karlovcu. Živim u Cetingradu gdje sam pohađala osnovnu školu, a u Slunju sam pohađala opću gimnaziju. Tijekom osnovnoškolskog i srednjoškolskog obrazovanja sudjelovala sam na mnogobrojnim županijskim natjecanjima iz geografije, matematike, biologije i prve pomoći, a sudjelovala sam na državnim natjecanjima „National Geographic Junior“ 2008. godine, „Sigurno u prometu“ 2009. godine i „Vjeronaučna olimpijada“ 2012. godine.

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala sam akademske godine 2016./2017. Tijekom šestogodišnjeg studija bila sam članica studentske udruge CroMSIC te SportMef-a gdje sam aktivno igrala rukomet i bila dio ženske rukometne ekipe koja je predstavljala fakultet na sveučilišnim natjecanjima i na „Humanijadi“ od 2017. do 2022. godine. Volontiranje preko CroMSIC-a omogućilo mi jednomjesečnu razmjenu u Bratislavi (Slovačka) u kolovozu 2022. godine gdje sam stekla nova iskustva, radne vještine i poznanstva. Od 2018. godine sam članica Studentske sekcije dobrovoljnih darivatelja krvi i transfuzijske medicine te sam bila predsjednica Sekcije od 2019. do 2021. godine.

2020. godine Sekcija je nagrađena Posebnom Dekanovom nagradom za doprinos ugledu Medicinskog fakulteta organiziranjem deset uspješnih akcija dobrovoljnog darivanja krvi na Medicinskom fakultetu.

Više godišnji sam volonter Crvenog križa Slunj te se aktivno služim engleskim i njemačkim jezikom. U slobodnom vrijeme bavim se planinarenjem i folklorom.