

Alogenična transplantacija od HLA haploidentičnog obiteljskog darivatelja

Raos, Dora

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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:105:525377>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-02**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Dora Raos

**ALOGENIČNA TRANSPLANTACIJA OD HLA HAPLOIDENTIČNOG
OBITELJSKOG DARIVATELJA**

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2021.

Ovaj diplomski rad izrađen je u 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 i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2020./2021.

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Nadira Duraković

POPIS KRATICA

AGM – (engl. *Aorta-gonad-mesonephros*) mezoderm koji okružuje aortu

ALL – akutna limfoblastična leukemija

AML – akutna mijeloična leukemija

APC – (engl. *Antigen – presenting cells*) antigen – prezentirajuće stanice

DFS – (engl. *Disease-free-survival*) preživljavanje bez bolesti

DLI – (engl. *Donor lymphocyte infusion*) infuzija darivateljevih limfocita

DSA – (engl. *Donor HLA – specific antibodies*) HLA – specifična protutijela na darivatelja

GvHD – (engl. *Graft-versus-host disease*) reakcija presatka protiv primatelja

aGvHD – (engl. *acute graft-versus host disease*) akutna reakcije presatka protiv primatelja

cGvHD – (engl. *chronic graft-versus host disease*) kronična reakcija presatka protiv primatelja

HLA sustav – (engl. *Human Leukocyte Antigen*) antigeni tkivne podudarnosti

IPS – (engl. *Interstitial pneumonitis syndrome*) sindrom intersticijskog pneumonitisa

KLL – kronična limfocitna leukemija

KMS – krvotvorne matične stanice

MDS – mijelodisplastični sindrom

MH – (engl. *Morbus Hodgkin*) Hodgkinova bolest

NHL – non Hodgkinov limfom

NIMA – (engl. *Non – inherited maternal antigens*) nenasljedni majčinski antigeni

NRM – (engl. *Non relapse mortality*) smrtnost nevezana uz relaps bolesti

PBSC – (engl. *Peripheral blood stem cell*) periferne krvotvorne matične stanice

TBI – (engl. *Total body irradiation*) zračenje cijelog tijela

TCD – (engl. *T cell depletion*) deplecija limfocita T

TLI – (engl. *Total lymphoid irradiation*) totalno limfoidno zračenje

TKMS – transplantacija krvotvornih matičnih stanica

TRM – (engl. *Treatment – related mortality*) smrtnost povezana s liječenjem

UCBT – (engl. *Umbilical cord blood transplantation*) transplantacija iz krvi pupkovine

1. SAŽETAK	
2. SUMMARY	
3. UVOD	1
4. PREDTRANSPLANTACIJSKA PRIPREMA (KONDIIONIRANJE)	4
5. PROTOKOLI HAPLOIDENTIČNE TKMS	5
5.1. DEPLECIJA LIMFOCITA T S UNOŠENJEM 'MEGADOZE' CD34 STANICA	5
5.1.1. Biološka i rana klinička ispitivanja te ishodi	5
5.1.2. Usavršavanja TCD platforme	6
5.2. ALOGRAFTI PRIPREMLJENI S FAKTOROM RASTA GRANULOCITA U KOMBINACIJI S INTENZIVNOM FARMAKOLOŠKOM IMUNOSUPRESIJOM – GIAC PROTOKOL	8
5.2.1. Biološka i pretklinička ispitivanja	8
5.2.2. Klinička ispitivanja i ishodi	9
5.3. POSTTRANSPLANTACIJSKA UPORABA VISOKIH DOZA CIKLOFOSFAMIDA (PTCy)	11
5.3.1. Biološka i pretklinička ispitivanja	11
5.3.2. Klinička ispitivanja i ishodi	12
5.3.3. Usporedne studije	14
5.3.4. Uporaba ciklofosfamida u drugim tipovima transplantacije	15
6. KOMPLIKACIJE HAPLOIDENTIČNE TKMS	16
6.1. REAKCIJA PRESATKA PROTIV PRIMATELJA (GVHD)	16
6.1.1. Akutni GVHD	17
6.1.2. Kronični GVHD	18
6.2. ODBACIVANJE PRESATKA	20
6.3. SINUSOIDALNI OBSTRUKCIJSKI SINDROM (SOS)	20
6.4. INTERSTICIJSKI PNEUMONITIS SINDROM (IPS)	21
7. ZAKLJUČAK	22
8. ZAHVALE	23
9. LITERATURA	24
10. ŽIVOTOPIS	39

1. SAŽETAK

ALOGENIČNA TRANSPLANTACIJA OD HLA HAPLOIDENTIČNOG OBITELJSKOG DARIVATELJA

Dora Raos

Alogenična transplantacija krvotvornih matičnih stanica danas je važan terapijski zahvat u liječenju mnogih malignih i nemalignih hematoloških, ali i nehematoloških bolesti. Glavni cilj takvog liječenja je zamijeniti bolesnu ili nefunkcionalnu koštanu srž primatelja zdravim krvotvornim matičnim stanicama darivatelja. Osim što je za uspješno provođenje transplantacije važan preduvjet podudarnost u sustavu antigena tkivne podudarnosti (HLA sustav), također je bitno provesti ispravan režim kondicioniranja u sklopu predtransplantacijske pripreme pacijenta. Dvije su glavne vrste TKMS – autologna (gdje su darivatelj i primatelj ista osoba) i alogenična (gdje su darivatelj i primatelj različite osobe). Dok je u prošlosti glavni izvor KMS bila koštana srž, danas se sve češće KMS uzimaju iz periferne krvi što je puno sigurniji i bezbolniji pristup za darivatelja. Darivatelj za alogeničnu transplantaciju može biti srodan ili nesrodan, HLA – podudaran ili HLA – nepodudaran. Najbolji ishodi transplantacije postižu se od HLA – podudarnog srodnog darivatelja, no takvog darivatelja ima vrlo mali broj pacijenata, stoga se razvila potreba za otvaranjem Registara dobrovoljnih (nesrodnih) darivatelja krvotvornih matičnih stanica diljem svijeta te za razvojem protokola koji će omogućiti povoljne ishode transplantacije uz korištenje presadaka od HLA – nepodudarnih darivatelja. Danas postoje tri protokola koja nam omogućuju zaobilazanje povijesnih barijera haploidentične transplantacije krvotvornih matičnih stanica, svaki od njih sa svojim prednostima i nedostacima – deplecija limfocita T s unošenjem „megadoze“ CD34 stanica (TCD protokol), alografti pripremljeni s faktorom rasta granulocita u kombinaciji s intenzivnom farmakološkom imunosupresijom (GIAC protokol) i posttransplantacijska uporaba visokih doza ciklofosfamida (PTCy protokol).

Ključne riječi: transplantacija krvotvornih matičnih stanica, sustav antigena tkivne podudarnosti, liječenje, darivatelj

2. SUMMARY

ALLOGENEIC TRANSPLANTATION FROM A HLA HAPLOIDENTICAL FAMILY DONOR

Dora Raos

Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation is today an important therapeutic procedure in the treatment of many malignant and non – malignant haematological and non – haematological diseases. The main purpose of such treatment is to replace the recipient's ill or dysfunctional bone marrow with healthy donor's haematopoietic stem cells. In addition to being an important prerequisite for successful transplantation, matching in the human leukocyte antigen system (HLA system), it is also important to implement the correct conditioning regimen as part of the patient's pre – transplant preparation. There are two main types of haematopoietic stem cell transplantation – autologous (where the donor and the recipient are the same person) and allogeneic (where the donor and the recipient are different people). While in the past the main source of haematopoietic stem cells was bone marrow, today more and more haematopoietic stem cells are taken from peripheral blood which is a much safer and painless approach for the donor. The donor for allogeneic transplantation can be related or unrelated, HLA – matched or HLA – mismatched. The best outcomes of transplantation are achieved from HLA – matching related donor, but very small number of patients has such a donor, so the need to open Registers of voluntary (unrelated) haematopoietic stem cell donors has developed worldwide and to develop protocols that will enable favorable transplant outcomes using transplants from HLA – mismatched donors. Today, there are three protocols that allow us to circumvent the historical barriers of haploidentical haematopoietic stem cell transplantation, each with its advantages and disadvantages – T – cell depletion with „megadose“ CD34⁺ cells (TCD protocol), granulocyte colony – stimulating factor – primed allografts combined with intensive pharmacological immunosuppression (GIAC protocol) and high – dose, post – transplantation cyclophosphamide (PTCy protocol).

Key words: haematopoietic stem cell transplantation, human leukocyte antigen system, treatment, donor

3. UVOD

Transplantacija krvotvornih matičnih stanica (TKMS) danas je jedna od glavnih metoda liječenja mnogih malignih, ali i nemalignih hematoloških bolesti te autoimunih poremećaja u djece i odraslih. To je terapijski zahvat kojom se bolesna, nefunkcionalna ili iscrpljena koštana srž zamjenjuje zdravim krvotvornim matičnim stanicama koje zatim preuzimaju ulogu hematopoeze u novom domaćinu. Prva uspješno provedena TKMS bila je u New Yorku 1957. godine pod vodstvom doktora Thomasa na monozigotnim blizancima koji su bolovali od akutne leukemije (1). U Hrvatskoj se primjenjuje od 1983. godine (2).

Krvotvorne matične stanice proizvode krvne stanice tijekom čitavog života čovjeka. Intrautero hematopoeza započinje u žumanjčanoj vreći, potom se nastavlja u mezodermu koji okružuje aortu (AGM, engl. *Aorta-gonad-mesonephros*) te se konačno hematopoetske matične stanice useljavaju u jetru, glavni hematopoetski organ fetusa i slezenu. Kasnije se hematopoeza počinje odvijati u koštanoj srži u kojoj se odvija do kraja života. (3)

Preduvjet uspješne transplantacije je uska histokompatibilnost između darivatelja i primatelja (4) koja ovisi o HLA sustavu. Sustav humanog leukocitnog antigena (HLA sustav) je glavni sustav tkivne snošljivosti/podudarnosti u ljudi, a kodiran je genima koji se nalaze na 6. kromosomu. Dva su poznata razreda HLA proteina: razred I (A, B i C) i razred II (DP, DQ i DR). Razred molekula HLA I nalazi se na površini gotovo svih stanica te se vežu s β_2 – mikroglobulinom kako bi stvorile kompletnu HLA I molekulu. HLA I molekule prezentiraju na površini stanica unutarstanične peptide prethodno obrađene u proteasomima koje zatim prepoznaju CD8 citotoksični limfociti. Razred molekula HLA II nalazi se na površini antigen – predočnih stanica. HLA II molekula je heterodimer koja se sastoji od dva polipeptidna lanca (alfa i beta) te prezentira peptide (antigene) nastale spajanjem endocitnih vezikula s lizosomima koje prepoznaju CD4 limfociti. HLA molekule su dakle važna odrednica nastanka GVHD-a i odbacivanja presatka, odnosno uspješne transplantacije. (5, 6)

Transplantacija krvotvornih matičnih stanica je proces u kojem se čitava hematopoeza i imunološki sustav primatelja zamijeni stanicama donora (7). Dijelimo je s obzirom na njenu svrhu, porijeklo matičnih stanica i vrsti/tipu darivatelja.

Svrha TKMS može biti (8):

1. Spašavanje onkološkog pacijenta zbog toksičnih posljedica visokih doza kemo- i/ili radioterapije.
2. Liječenje teških stečenih ili kongenitalnih hematoloških poremećaja.
3. Liječenje maligne bolesti korištenjem aloimunih efektorskih mehanizama reakcije presatka protiv primatelja.

Matične stanice mogu se uzeti (8):

1. Punkcijom i aspiracijom koštane srži iz stražnjeg ilijačnog grebena.
2. Mobilizacijom perifernih matičnih stanica (PBSC) te prikupljanjem leukoferezom nakon primjene stimulatora rasta granulocita (G – CSF).
3. Prikupljanjem placentalne krvi iz pupčane vrpce tijekom porođaja.

Prema tipu darivatelja TKMS dijelimo na (8):

1. Autolognu – KMS potječu od samog pacijenta.
2. Alogeničnu – KMS potječu od druge osobe, darivatelja.
 - (1) Srodan HLA – podudaran darivatelj
 - (2) Nesrodan HLA – podudaran darivatelj
 - (3) HLA – haploidentičan obiteljski darivatelj
 - (4) HLA – nepodudaran nesrodan darivatelj

Sve do 1990 – ih godina i otkrića novih načina dobivanja KMS (iz periferne krvi mobilizacijom uz pomoć GCSF – a i iz pupčane vrpce) glavna metoda prikupljanja bila je iz stražnje ilijačne krste u općoj anesteziji. Odabir metode prikupljanja KMS ovisi o dobi darivatelja i primatelja, komorbiditetima, stadiju same bolesti te preferencijama različitih kliničkih centara i darivatelja. (9)

U posljednjih nekoliko desetljeća krvotvorne matične stanice iz periferne krvi postale su najpoželjniji izvor KMS u mnogim transplantacijskim centrima te čine oko 75% od svih provedenih TKMS (10, 11, 12). Nekoliko je prednosti primjene KMS iz periferne krvi u odnosu na one iz koštane srži. Prikupljanje stanica iz periferne krvi poželjnija je opcija za darivatelje jer su time pošteđeni opće anestezije, značajno je manja prisutnost produžene boli i teškog umora kao što je to slučaj kod uzimanja stanica iz koštane srži (13, 14, 15). Za sada nije otkriveno da primjena GCSF – a i leukofereze dovode do veće incidencije komplikacija,

kao što su moždani udar ili tumori, u odnosu na primjenu transplantacije KMS iz koštane srži (16). Osim za darivatelje, također su značajne prednosti primjene perifernih KMS i za primatelje. Najznačajnije među njima su prihvata presatka i preobrazba imunološkog sustava kod primatelja liječenih perifernim KMS u usporedbi s onima koji su liječeni KMS iz koštane srži (13, 17). Nadalje, značajno je smanjenja stopa odbacivanja presatka kod ljudi liječenih perifernim KMS, dok je najveći nedostatak veća učestalost kroničnog GVHD – a kod ljudi liječenih perifernim KMS (18, 19).

Glavne prednosti primjene KMS iz pupkovine su mogućnost brzog prikupljanja stanica i njihova administracija/primjena što pomaže u liječenju hitnih stanja, manja je učestalost infekcija, manja je stopa GVHD – a (ali jednaka stopa reakcije presatka protiv tumora, GVT) te je manja potreba za traženjem strogo identičnog HLA darivatelja (strog podudarnosti). Nedostatci ove metode uključuju odgođeni prihvata presatka s posljedično većom vjerojatnošću odbacivanja presatka i većim stopama relapsa bolesti. (20)

Kod alogene TKMS darivatelj i primatelj različite su osobe te matične stanice potječu od darivatelja koji može biti srodan ili nesrodan, podudaran ili nepodudaran. Dakle, postoje četiri opcije mogućih darivatelja: srodan HLA – podudaran, nesrodan HLA – podudaran, HLA – haploidentični/nepodudaran obiteljski darivatelj i HLA – nepodudaran nesrodan darivatelj (8). Dok za autolognu TKMS ne postoje kontraindikacije, za alogenu transplantaciju su relativne te uključuju dob višu od 50 godina, prethodno provedena TKMS i postojanje značajnih komorbiditeta (21).

Najbolji ishod alogene TKMS prisutan je kod primjene presatka od HLA – podudarnog srodnog darivatelja, no takvog darivatelja ima manje od 30% pacijenata kojima je potrebna transplantacija te su zbog toga diljem svijeta razvijeni brojni registri dobrovoljnih darivatelja KMS (22). Optimalan spoj nesrodnog darivatelja – primatelja zahtijeva podudaranje u najmanje 8/8 HLA alela (A, B, C, DRB1) (23) jer i samo jedno nepodudaranje u bilo kojem od tih lokusa može dovesti do značajnog pogoršanja preživljavanja, smrtnosti povezane s liječenjem (TRM) i veće stope akutnog GVHD –a (22). Za osobe bez HLA – podudarnog srodnog ili nesrodnog darivatelja, najprihvatljivija alternativa je haploidentična TKMS (22). Haploidentična transplantacija KMS podrazumijeva primjenu proizvoda koštane srži od srodnog ili nesrodnog haplotip – nepodudarnog darivatelja (24). Koriste se potpuno haploidentični darivatelji s nepodudaranjem u 3 od 6 HLA antigena (A, B, DRB1) (22). Takva vrsta transplantacije osobito je korisna kod pacijenata koje nisu bijele rase, kao što su

Afroamerikanci i Latinoamerikanci te kod pacijenata iz siromašnih zemalja gdje je pristup zdravstvenim resursima ograničen (25). Prednosti haploidentične TKMS uključuju manji trošak te brzu dostupnost hematopoetskih staničnih produkata, dok su najznačajniji nedostaci češća stopa hiperakutnog GVHD – a što dovodi do veće smrtnosti i odbacivanje presatka (26). Ove prepreke uspješno se počinju nadvladavati uvođenjem novih protokola TKMS koji će biti opisani dalje u tekstu.

4. PREDTRANSPLANTACIJSKA PRIPREMA (KONDICIONIRANJE)

Kako bi TKMS bila uspješna, osim uske podudarnosti u HLA – sustavu, nužno je provesti pripremu pacijenta prije same transplantacije postupkom kondicioniranja. Tim postupkom osiguravamo dovoljno prostora za krvotvorne matične stanice iz presatka te potporu za proliferaciju i diferencijaciju stanica. Također potiskujemo imunološki sustav domaćina čime omogućujemo dugoročnu kontrolu bolesti eradikacijom tumorski promijenjenih stanica te smanjujemo rizik odbacivanja presatka. (9)

Danas postoje dva opće prihvaćena načina kondicioniranja: mijeloablativno kondicioniranje (MA) i kondicioniranje smanjenog intenziteta (RIC)/(NMA) (27). U mijeloablativnom kondicioniranju koriste se visoke doze zračenja (TBI, engl. *Total body irradiation*) i/ili visoke doze kemoterapeutika što dovodi do teške pancitopenije, pojave rane toksičnosti, značajnog morbiditeta i mortaliteta (27, 28). U početku primjene MA kondicioniranja najčešće se koristila kombinacija frakcionirane TBI od 12 – 14 Gy razdijeljene tijekom 3 – 4 dana i ciklofosfamida (CY) u dozi od 120 mg/kg tijekom dva dana (28, 29). No, budući da TBI dovodi do visoke incidencije intersticijskog pneumonitis sindroma (IPS) (30), danas se sve češće koristi kombinacija Busulfana (BU) (4 mg/kg/dan tijekom 4 dana) i ciklofosfamida (120 mg/kg) (28, 31). Osim kratkoročnih posljedica, primjenom kemoterapije bez TBI, izbjegavaju se i dugoročne posljedice zračenja među kojima su katarakta, sterilitet, zaostaci u rastu i razvoju kod djece te sekundarni tumori poput mijelodisplazije (MDS) (32).

NMA je režim koji dovodi do imunosupresije uz minimalnu citopeniju te rjeđe uzrokuje ranu toksičnost (27, 33). Tri najčešće korištena režima NMA su: TBI niskog intenziteta (2 Gy) na dan transplantacije, kombinacija TBI niskog intenziteta i fludarabina (FLU) (90 mg/m² tijekom 3 dana) te kombinacija totalnog limfoidnog zračenja (TLI) u dozi od 8 – 12 Gy tijekom 11 dana i antitimocitnog globulina (ATG) tijekom 5 dana (28, 33).

Kondicioniranje smanjenog intenziteta (RIC) nastoji spojiti koristi MA i NMA kondicioniranje izbjegavajući visoku toksičnost MA režima, ali omogućujući adekvatnu imunoablaciju koja sprječava odbacivanje presatka (9, 28). Takav način kondicioniranja učinio je mogućom transplantaciju kod osoba visoke životne dobi i sa značajnim komorbiditetima (28). Najčešća kombinacija kod RIC-a su fludarabin (125 – 150 mg/m² tijekom 5 dana) i melfalan (100 – 140 mg/m² tijekom 2 dana) (34). Odabir intenziteta režima kondicioniranja ovisi o samoj dijagnozi, dobi pacijenta, komorbiditetima te vrsti donora (podudaran ili nepodudaran, srodan ili nesrodan) (9).

5. PROTOKOLI HAPLOIDENTIČNE TKMS

5.1. DEPLECIJA LIMFOCITA T S UNOŠENJEM 'MEGADOZE' CD34 STANICA

5.1.1. Biološka i rana klinička ispitivanja te ishodi

T limfociti smatraju se ključnim posrednicima u nastanku bolesti presatka protiv primatelja (GVHD) i odbacivanju samog presatka (35, 36), stoga su krajem 20. stoljeća razvijene tehnike kojima se uklanjaju T limfociti iz presatka prije njihove infuzije u primatelja (37, 38, 39). Te tehnike su omogućile da se T limfociti fizički odvoje od B limfocita, hematopoetskih matičnih stanica i ostalih hematopoetskih progenitora. Tako nastalim TCD alogenim presadcima znanstvenici su uspjeli izbjeći letalnu posljedicu transplantacije – GVHD u mišjim modelima alogene transplantacije krvotvornih matičnih stanica (37, 38, 39).

Iako su početna istraživanja bila obećavajuća te su uspjela smanjiti rizik nastanka GVHD – a, vodeći problem predstavljalo je odbacivanje presatka (u više od 20% pacijenata nakon primitka alogene TKMS po TCD protokolu) upravo zbog uklanjanja T limfocita što je učinilo presadak osjetljivijim na aloreaktivne T limfocite domaćina (40, 41). Odbacivanje presatka je osobito bilo izraženo kod pacijenata koji su primili HLA – nepodudarnu alogeničnu TKMS (42). Problem odbacivanja presatka u mišjim modelima uspješno je smanjen pojačanjem režima kondicioniranja jednim od tri načina: povećanjem doze TBI ili pojačanim zračenjem slezene (43, 44), dodavanjem tiotepe ili nekog drugog alkilirajućeg citostatika (45, 46) te upotrebom monoklonskih protutijela kako bi se smanjila količina rezidualnih T stanica domaćina (47). Također, osim imuno – posredovanog odbacivanja, otkrivena je povezanost između odbacivanja presatka i doze matičnih stanica koju pacijent primi. Presadak s većom

količinom CD34 stanica ne samo da se bolje prima u nišu koštane srži, već CD34 stanice takozvanim „veto efektom“ izravno inhibiraju aloreaktivnost T limfocita (48, 49).

U ranim kliničkim ispitivanjima znanstvenici iz Perugije u Italiji uključili su nekoliko ovih bitnih pretkliničkih uvida u novu transplantacijsku platformu kako bi poboljšali ishode alogene TKMS po TCD protokolu (50). Pojačali su režim kondicioniranja uključivanjem tiotepe, ciklofosfamida i TBI te dodavanjem antitimocitnog globulina (ATG) kako bi uklonili T limfocite domaćina. Kombinacijom koštane srži darivatelja i perifernih krvotvornih matičnih stanica (PBSCs) mobiliziranih granulocitnim čimbenikom rasta (GCSF) postignute su veće količine („megadoze“) hematopoetskih matičnih stanica nego što bi se dobile presadcima od stanica isključivo iz koštane srži. Iz presadaka su isključeni T limfociti postupkom aglutinacije sa sojinim aglutininom i sljepljivanjem eritrocita. Ova studija je pokazala kako se povijesne zapreke haploidentične TKMS mogu zaobići intenzivnim mijeloablativnim i imunosupresivnim kondicioniranjem u kombinaciji s TCD megadozom CD34 stanica, bez potrebe za dodatnom GVHD profilaksom. (5)

U daljnjim studijama ova platforma je unaprijeđena prvo zamjenom ciklofosfamida s fludarabinom (51) te postupnim prelaskom na izdvajanje samo CD34 stanica iz krvotvornih matičnih stanica periferne krvi (PBSCs) pomoću imunomagneta (52). Iako su u ovim studijama odbacivanje presatka i nastanak GVHD- a bile rijetke nuspojave, vodeći problem predstavljala je NRM prvenstveno kao posljedica virusnih infekcija (51, 52). Poslije – transplantacijske razine CD4 T limfocita ostajale su niske i nakon godinu dana, ali oporavak NK – stanica bio je prisutan unutar 2 – 4 tjedna nakon transplantacije što je pridonijelo smanjenju relapsa, ali s druge strane povećanju NRM (51, 52).

5.1.2. Usavršavanje TCD platforme

Glavni razlog daljnjim usavršavanjima platforme bila je neprihvatljivo visoka stopa NRM (5). Tübingen i Memphis grupa predstavili su selekciju CD3⁻/CD19⁻ - stanica umjesto selekcije samo CD34⁺ - stanica kako bi dobili presadak koji sadrži druge CD34⁻ stanice (kao što su NK – stanice, monociti, dendritičke stanice te druge stanice mijeloidne loze) što bi trebalo omogućiti bolji oporavak imunološkog sustava bez nastanka GVHD – a (53). Ovaj pristup je korišten u kombinaciji s kondicioniranjem smanjenog intenziteta (RIC) kako bi se smanjila toksičnost vezana uz tretman (54). Iako je primjena selekcije CD3⁻/CD19⁻ - stanica smanjila

NRM, s druge strane pridonijela je značajnom riziku od nastanka GVHD –a u odnosu na selekciju samo CD34⁺ - stanica (5).

U daljnjim istraživanjima otkriveno je da postoji vrlo uzak post – transplantacijski repertoar T limfocita u pacijenata nakon provedenog TCD protokola (osobito u pacijenata nakon mijeloablativnog kondicioniranja) što se pripisuje post – transplantacijskoj aktivnosti timusa (5). Upravo taj ograničeni repertoar T limfocita mogao je pridonijeti visokoj osjetljivosti pacijenata na virusne i ostale infekcije, stoga su znanstvenici usmjerili istraživanja na korištenje presadaka koji sadrže odabrane T limfocite koji bi omogućili zadovoljavajuću rekonstrukciju imunološkog sustava bez povećanja rizika od nastanka GVHD – a (5). Prvi takav pristup podrazumijeva dodavanje malog broja aloreaktivno iscrpljenih ili IL – 10 energiziranih T limfocita (55, 56).

U drugom pristupu znanstvenici su iz presadaka izolirali samo $\gamma\delta^+$ T limfocite, bez $\alpha\beta^+$ T limfocita (57) jer se pokazalo da $\gamma\delta^+$ T limfociti posreduju u virusno – specifičnom odgovoru na citomegalovirus i Epstein – Barrov virus (58, 59, 60) koji značajno pridonose poslije – transplantacijskom morbiditetu i mortalitetu. Također se pokazalo da $\gamma\delta^+$ T limfociti imaju antitumorsku aktivnost (58, 59, 61) te postoji manji rizik za nastanak GVHD – a nego kod $\alpha\beta^+$ T limfocita (62, 63).

Četvrti pristup grupe iz Perugije uključivao je davanje imunomagnetski izoliranih regulatornih T limfocita (T_{REG}) 4 dana prije transplantacije i konvencionalnih T limfocita na sam dan transplantacije po TCD protokolu (64, 65). Rezultati studije pokazali su značajno nižu stopu relapsa u odnosu na povijesne pristupe, međutim vodeći problem predstavljala je visoka stopa NRM i smrtnost zbog infekcija (5).

Četvrti, obećavajući pristup u usavršavanju TCD protokola haploidentične TKMS podrazumijeva davanje virusno – specifičnih linija citotoksičnih T limfocita za prevenciju ili liječenje virusnih infekcija (66). Te stanice izvršavaju antivirusni učinak bez uzrokovanja GVHD – a te se također smatra kako imaju antitumorsku aktivnost (66, 67). Završno usavršavanje ove metode uključivalo je infuziju darivateljevih limfocita koji su izražavali suicidalne gene koji se mogu aktivirati ukoliko se razvije GVHD (68, 69). Iako je nastanak GVHD – a zahvaljujući suicidalnim genima bio značajno ublažen, stopa NRM bila je i dalje jako visoka (40%) (68).

5.2. ALOGRAFTI PRIPREMLJENI S FAKTOROM RASTA GRANULOCITA U KOMBINACIJI S INTENZIVNOM FARMAKOLOŠKOM IMUNOSUPRESIJOM – GIAC PROTOKOL

5.2.1. Biološka i pretklinička ispitivanja

Novi protokol haploidentične TKMS, TCR (engl. *T – cell – replete*) ili GIAC protokol, sastoji se od četiri glavna dijela prema akronimu GIAC: stimulacija darivatelja granulocitnim čimbenikom rasta („G“CSF), pojačana („I“ntensified) post – transplantacijska imunosupresija ciklosporinom (CsA), mikofenolat mofetilom (MMF) i kratkotrajnom primjenom metotreksata, dodavanje antitimocitnog globulina („A“ntithymocyte globulin) kondicioniranju radi prevencije nastanka GVHD – a i pomoći uspješnog primitka presatka te kombinacija („C“ombination) presadaka iz perifernih krvotvornih matičnih stanica (PBSC) i koštane srži (5). Razvoj ovog protokola omogućen je zahvaljujući rastućem iskustvu s antitimocitnim globulinom (70), pojavi novih farmakoloških agenata (kao što je mikofenolat mofetil zahvaljujući kojem se uspješno može kontrolirati GVHD) te otkriću presadaka dobivenih iz matičnih stanica periferne krvi pomoću stimulacije GCSF – om (5). Nakon razvitka presadaka krvotvornih matičnih stanica iz periferne krvi stimuliranih GCSF – om, znanstvenici su bili iznenađeni kako stopa GVHD – a nije značajno veća usprkos davanju bitno većeg broja T limfocita nego što je to slučaj kod presadaka dobivenih samo iz koštane srži (71). Isprva se vjerovalo kako su za nastanak GVHD – a zaslužni pomagački T limfociti tip 1 (T_{H1}), dok su se pomagački T limfociti tip 2 (T_{H2}) smatrali zaštitničkim u tom procesu (71), danas se zna da se zapravo radi o puno složenijem procesu (72). Otkriveno je da T limfociti koji su mobilizirani iz koštane srži pod utjecajem GCSF – a imaju manju sklonost proliferaciji, imaju smanjenu proizvodnju T_{H1} , a povećanu proizvodnju T_{H2} citokina što je sve pridonijelo poboljšanju stope preživljavanja i smanjenju stope GVHD – a u mišjim modelima (71, 73). Također, pokazalo se da izloženost GCSF – u potiče i mobilizaciju dendritičkih stanica koje sudjeluju u usmjeravanju T limfocita prema T_{H2} fenotipu (74). Zbog značajno većeg omjera monocita prema T limfocitima, stimulacija GCSF – om potiče IL – 10 – posredovanu supresiju proliferacije T limfocita potaknutu aloantigenima preko $CD14^+$ antigen – prezentirajućih stanicama (75, 76). Uz sve to otkriveno je da stimulacija GCSF –om smanjuje ekspresiju CD86 kostimulacijskih molekula preko $CD14^+$ stanica i CD28 aktivaciju $CD4^+$ T limfocita (76, 77). Takvi imunološki učinci na smanjenje aktivacije i polarizaciju T limfocita mogli bi se ostvarivati upotrebom presadaka koji su dobiveni miješanjem matičnih stanica iz

koštane srži i matičnih stanica periferne krvi nakon stimulacije GCSF – om (78). Post – transplantacijsko davanje/administracija GCSF – a, u svrhu bržeg hematološkog oporavka, potaknulo je usmjeravanje T limfocita prema T_H2 fenotipu, ali na račun odgođenog oporavka normalnog T_H1 odgovora na patogene (79).

5.2.2. Klinička ispitivanja i ishodi

Dvije važne kliničke studije TCR/GIAC protokola provedene su u Pekingu, Kina na Sveučilištu u Pekingu (Peking University) i Općoj zrakoplovnoj bolnici (Air Force General Hospital) (80, 81, 82). Iako su obje studije provodile slične transplantacijske platforme po GIAC protokolu, grupa iz Opće zrakoplovne bolnice koristila je presatke dobivene samo iz koštane srži, dok je grupa s Pekinškog Sveučilišta koristila kombinaciju presađakâ dobivenih iz koštane srži i periferne krvi (5). Ove studije pokazale su kako bi primjena haploidentične TKMS po TCR/GIAC protokolu mogla omogućiti potpuni prihvât transplantata, prihvatljivu NRM i povoljnu stopu preživljavanja bez bolesti (DFS), no bitnu prepreku predstavljaju visoke stope teškog akutnog i kroničnog GVHD – a (5).

Nekoliko grupa znanstvenika pokušalo je smanjiti te visoke stope GVHD – a vezane uz GIAC protokol (5). Grupa znanstvenika iz Koreje napravila je preinaku ove platforme koristeći kondicioniranje smanjenog intenziteta (RIC) i presatke dobivene samo iz perifernih krvotvornih matičnih stanica mobiliziranih GCSF – om te je time uspjela ostvariti smanjene stope akutnog i kroničnog GVHD – a (83). Grupa iz Opće zrakoplovne bolnice u Pekingu također je unijela neke preinake u postojeći protokol, uključujući kondicioniranje temeljeno na zračenju cijelog tijela (TBI), korištenje presađakâ dobivenih samo iz matičnih stanica periferne krvi te dodavanje basiliksimaba za daljnju profilaksu GVHD – a (84, 85). Ovaj pristup doveo je do značajnog smanjenja stope akutnog GVHD – a II –IV stupnja i težine kroničnog GVHD – a (5), ali visoka stopa jednogodišnje NRM bila je i dalje prisutna (86).

Grupa znanstvenika s Pekinškog Sveučilišta provela je retrospektivnu komparativnu studiju koja je pokazala kako primjena GIAC protokola haploidentične TKMS ostvaruje slične rezultate kao i primjena alogenične TKMS s HLA – podudarnim obiteljskim/srodnim darivateljem (80). Pacijenti koji su dobili KMS HLA – podudarnog obiteljskog darivatelja liječeni su po platformi sličnoj GIAC protokolu, osim što je bila korištena niža doza citozin arabinozida, izostavljen je antitimocitni globulin (ATG) te je podskupina pacijenata dobila

samo transplantate iz koštane srži ili periferne krvi. Rezultati su bili sljedeći: pacijenti koji su primili haploidentičnu TKMS imali su veći rizik nastanka akutnog GVHD – a II – IV stupnja, učestalost kroničnog GVHD – a unutar 2 godine od transplantacije bila je slična u obje skupine, dok je dvogodišnja NRM bila viša među skupinom pacijenata liječenom haploidentičnom TKMS. No, niti jedna od ovih razlika nije bila statistički značajna jer ukupna dvogodišnja stopa preživljavanja u obje skupine bila gotovo jednaka (72% nasuprot 71%). (80, 5) Druge dvije grupe znanstvenika iz Kine također su izvjestile slične rezultate u retrospektivnim komparativnim studijama s pacijentima koji su primili haploidentičnu TKMS i pacijentima koji su primili alogeničnu TKMS od HLA – podudarnog srodnog ili nesrodnog darivatelja (87, 88).

Osobito ohrabrujući ishodi preživljavanja prisutni su u pacijenata s akutnom leukemijom koji su liječeni haploidentičnom TKMS po GIAC protokolu (5). Štoviše, rezultati jedne studije čak dokazuju da pacijenti s visokorizičnim akutnim leukemijama liječeni GIAC protokolom imaju bolje ishode od pacijenata liječenih alogeničnom TKMS od HLA – podudarnog srodnog darivatelja, u prvom redu zbog značajno manje učestalosti relapsa među pacijentima liječenim GIAC protokolom (89). Grupa znanstvenika s Pekinškog Sveučilišta 2009. godine objavila je rezultate studije provedene na 250 pacijenata s akutnom leukemijom, od kojih je 108 bolovalo od akutne mijeloične leukemije (AML), a 142 od akutne limfoblastične leukemije (ALL). Najbolje ishode 3 - godišnjeg preživljavanja imali su pacijenti s AML – om normalnog i visokog rizika, zadovoljavajući ishod imali su pacijenti s ALL – om normalnog rizika, dok su ishodi za pacijente s visokorizičnim ALL – om bili loši zbog visokih stopa NRM i relapsa. (90) No, druge dvije studije objavljene 2015. godine potvrdile su izvrsnu stopu preživljavanja kod pacijenata s ALL – om u prvoj potpunoj remisiji liječenih haploidentičnom TKMS po GIAC protokolu (91, 92).

U svim studijama koje su proučavale haploidentičnu TKMS po GIAC protokolu, opseg HLA nepodudarnosti nije utjecao na sveukupno preživljavanje (82, 93). Međutim, zaključci kasnije provedenih studija otkrivaju da je HLA – B – nepodudarnost povezana s većom stopom akutnog GVHD – a i NRM te također s lošijom stopom preživljavanja bez bolesti (DFS) i sveukupnom stopom preživljavanja (94), iako najnovija analiza grupe s Pekinškog Sveučilišta iz 2014. godine to ne potvrđuje (93). U istraživanju utjecaja značajki darivatelja na ishod liječenja pacijenta, Pekinška grupa je otkrila kako najmanju stopu NRM i najbolje sveukupno preživljavanje imaju pacijenti koji su liječeni presadcima mlađih, muških darivatelja (93). Također je zamijećeno smanjenje stope akutnog GVHD – a kad je darivatelj pacijentovo dijete

ili HLA – haploidentični srodnik koji je nepodudaran u nenasljednim majčnim antigenima (NIMA). Iako kod obje skupine darivatelja nije zamijećeno značajno poboljšanje stope preživljavanja pacijenta, odabir darivatelja s zajedničkim majčnim haplotipom povezano je sa značajno višim stopama akutnog i kroničnog GVHD – a te pogoršanja sveukupnog preživljavanja. Dakle, autori studije zaključuju kako je najbolji mogući darivatelj za haploidentičnu TKMS po GIAC protokolu NIMA – nepodudarno muško dijete pacijenta. (93)

5.3. POSTTRANSPLANTACIJSKA UPORABA VISOKIH DOZA CIKLOFOSFAMIDA (PTCy)

5.3.1. Biološka i preklinička ispitivanja

Ciklofosfamid jedan je od najstarijih kemoterapeutika te su njegovi učinci na uspostavljanje imunološke tolerancije proučavani još od ranih 60 – ih godina prošlog stoljeća (95). 1963. godine otkriveno je da su visoke doze ciklofosfamida primijenjene kratko nakon presađivanja učinkovite u produžavanju opstanka mišjih kožnih presađaka, s najvećom učinkovitošću kod primjene 2 dana nakon transplantacije (96). Ovaj pristup istraživale su brojne grupe znanstvenika, ali najznačajnije ga je istražila grupa znanstvenika sa Sveučilišta u Kyushu te su opisali tri osnovna mehanizma djelovanja tolerancije izazvane post – transplantacijskom primjenom ciklofosfamida: prvi je izravno uklanjanje domaćinovitih T limfocita koji reagiraju na antigene darivatelja na periferiji, drugi se odnosi na unutartimusnu klonalnu deleciju domaćinovitih reaktivnih T limfocita te treći koji uključuje nastanak generacije tolerogen – specifičnih domaćinovitih supresorskih T limfocita (97). Dokazano je da ti supresorski limfociti T inhibiraju/sprječavaju odgovore na velike i male antigene histokompatibilnosti preko aktivne supresije, a ne klonalne delecije aloreaktivnih T limfocita (98).

Postupno, primjena protokola post – transplantacijske uporabe ciklofosfamida (PTCy) proširena je na alogeničnu TKMS (5). U MHC – nepodudarnim (engl. Major histocompatibility complex – mismatched) mišjim modelima liječenje po PTCy protokolu dovelo je do smanjenja doze radijacije potrebne za indukciju učinkovitog prihvata presatka (99, 100, 101) te je također spriječilo nastanak GVHD – a i produžilo preživljavanje (102). Smanjivanje stope odbacivanja presatka moguće je primjenom antitimocitnog globulina (103). Rezultirajuće miješane kimere bile su tolerantne i na darivateljeve i na domaćinove antigene, ali su zadržale reaktivnost na antigene treće strane u miješanim limfocitnim kulturama (100, 102, 103). Takav tolerancijski učinak omogućio je preživljavanje kožnih i

srčanih presađaka od MHC – nepodudarnih darivatelja, dok su MHC – različiti presađci od treće strane bili odbačeni (100, 103).

Osim učinaka na domaćinove T limfocite u mišjim modelima kožne transplantacije, tolerancijski učinci PTCy protokola također su vidljivi i u uklanjanju aloreaktivnih T limfocita darivatelja (104). Takvo uklanjanje/eliminacija T limfocita pomoću ciklofosfamida je selektivno tako što su darivateljevi regulatorni T limfociti (T_{REG}), koji su nužni za sprječavanje nastanka smrtonosnog GVHD – a, u mišjim i ljudskim modelima alogenične TKMS otporni na citotoksičnost ciklofosfamida zbog pojačane ekspresije aldehid dehidrogenaze (enzim odgovoran za detoksifikaciju ciklofosfamida *in vivo*) (105, 106, 107).

PTCy protokol je najčešće korišten pristup za selektivnu depleciju aloreaktivnih T limfocita, iako su istraženi različiti *ex vivo* pristupi koji se za sada u kliničkim studijama pokazuju obećavajućima (5).

5.3.2. Klinička ispitivanja i ishodi

Kako je u pretkliničkim studijama dokazano da je ciklofosfamid učinkovit jedino ako se koristi u visokim dozama (108, 109) te je utvrđeno da visoke doze ciklofosfamida nisu štetne za krvotvorne matične stanice zbog njihove ekspresije aldehid dehidrogenaze, započela su klinička istraživanja PTCy protokola u svrhu profilakse GVHD – a (5).

Prva faza kliničkog ispitivanja PTCy protokola provedena je u Bolnici John Hopkins (John Hopkins Hospital, JHH). Postupak protokola bio je sljedeći: pacijenti su pripremljeni kondicioniranjem niskog intenziteta (RIC) koje je uključivalo fludarabin, ciklofosfamid i nisku dozu (200cGy) TBI – a, 3 dana nakon primitka TCR – haploidentične TKMS, dobili su 50 mg/kg ciklofosfamida te su za dodatnu profilaksu GVHD – a primijenjeni mikofenolat – mofetil (MMF) i takrolimus koji su dani dan nakon primitka visoke doze ciklofosfamida kroz sljedećih 30 dana (5, 110).

Druga faza kliničkog ispitivanja provedena je u Bolnici John Hopkins (JHH) i Centru za istraživanje raka Fred Hutchinson (Fred Hutchinson Cancer Research Center, FHCRC) radi poboljšanja prethodno opisanog JHH režima u cilju smanjenja stope GVHD – a i odbacivanja presatka (111). Dio pacijenata iz Centra za istraživanje raka John Hopkins primio je isti JHH protokol kao što je bilo i u prvoj fazi ispitivanja, osim što je primjena takrolimusa bila kroz 180 dana nakon transplantacije (112), dok je drugi dio pacijenta iz Bolnice John Hopkins također liječen istim JHH protokol uz dodavanje druge doze ciklofosfamida četvrti dan nakon

transplantacije (113). Stope odbacivanja presatka (13%), NRM (15%) i kroničnog GVHD – a bile su niske, dok je stopa akutnog GVHD – a II – IV stupnja bila značajno viša (34%) (113). U duljem praćenju proširenih kohorta liječenih po JHH protokolu, potvrđene su niske stope NRM, akutnog i kroničnog GVHD – a, dok su zabilježene relativno visoke stope relapsa (46%) koje su djelomičnog pripisane velikom broju pacijenata s uznapređovalom bolešću (114, 115). Nakon analize provedenoj na 372 pacijenta liječenih po JHH protokolu kojom se uklonio utjecaj rizika stadija bolesti, pokazano je da su ishodi preživljavanja usporedivi s onima kod pacijenata koji su primili presatke od HLA – podudarnih darivatelja (115).

U nastojanju da se smanje stope relapsa, istraženi su učinci pojačavanja kondicioniranja u PTCy protokolu haploidentične TKMS (5). Dvije studije provodile su mijeloablativno (MA) kondicioniranje uz davanje ciklofosfamida treći i peti dan nakon transplantacije te uvođenje mikofenolat – mofetila i ciklosporina prije ciklofosfamida te su dobili zadovoljavajuće stope akutnog GVHD – a, NRM – a (18% i 10%), nešto više, ali i dalje povoljne stope kroničnog GVHD – a (26% i 35%) te niže stope relapsa (22% i 40%) (116, 117). Druga studija, objavljena 2015. godine, koristila je TBI – bazirano mijeloablativno kondicioniranje i presatke perifernih krvotvornih matičnih stanica te su rezultati bili izvrsna stopa preživljavanja (78%) s niskim stopama NRM – a (3%) i relapsa (24%), iako su stope akutnog (23%) i kroničnog (56%) bile više (118). Alternativni pristup mijeloablativnom PTCy protokolu haploidentične TKMS razvijen je i uključuje TBI – bazirano kondicioniranje, fiksnu dozu perifernih T limfocita šesti dan prije transplantacije, ciklofosfamid u dozi 60 mg/kg treći i drugi dan prije transplantacije te CD34⁺ selektivni presadak perifernih krvotvornih matičnih stanica (119, 120). Rezultati su bili ohrabrujući: niske stope akutnog GVHD – a II – IV stupnja (4%), kroničnog GVHD – a (21%), NRM – a (3,6%) i relapsa (19%) te visoke stope sveukupnog preživljavanja (77%) (120). Ovakav pristup oponašao je standardni PTCy protokol, osim što je poštedio krvotvorne matične stanice od izlaganja ciklofosfamidu (5).

Nekoliko grupa, u pokušaju da dalje poboljšaju uspješno presađivanje i smanje stopu relapsa, istražilo je primjenu presađaka od perifernih krvotvornih matičnih stanica umjesto onih iz koštane srži (117, 118, 121, 122) no učinci te zamjene trenutno su još nejasni. Stope odbacivanja presatka su slične, samo malo poboljšanje u odnosu na stope kod PTCy protokola sa presađcima iz koštane srži, stope kroničnog GVHD – a su nešto više, ali i dalje zadovoljavajuće, dok su stope akutnog GVHD – a III – IV stupnja i NRM – a iste kao i kod pacijenata koji su primili PTCy protokol sa presađcima iz koštane srži (117, 118, 121, 122).

Iako se haploidentična TKMS po PTCy protokolu dobro podnosi, postoji nekoliko posebno važnih komplikacija (5). Jedna od najčešćih je temperatura koja se obično javi u prvih nekoliko dana nakon transplantacije, osobito kod korištenja presađaka dobivenih iz perifernih krvotvornih matičnih stanica (117, 119, 123). Te temperature mogu biti dosta ozbiljne te su najčešće neinfektivne, već su posljedica otpuštanja citokina i povezane su s nekontroliranom aloreaktivnošću te se javljaju unutar nekoliko sati do nekoliko dana nakon primjene ciklofosfamida (5). Druga važna komplikacija je hemoragični cistitis koji je česta pojava, ali se javlja većinom u blažim oblicima te se pripisuje polyomavirusnoj infekciji (117). Odbacivanje presatka potencijalna je komplikacija svake haploidentične TKMS pa tako i haploidentične TKMS po PTCy protokolu te je povezana s prisutnošću HLA – specifičnih protutijela na darivatelja (DSA) koja se nalaze u primatelju prije transplantacije (124, 125). Kako bi se uspješno provela haploidentična TKMS, u onih pacijenata u kojih se nađu prepoznatljiva HLA – specifična protutijela na sve potencijalne HLA – haploidentične darivatelje provode se postupci desenzitizacije koji smanjuju titar protutijela (124, 126).

5.3.3. Usporedne studije

U provedenim retrospektivnim usporednim studijama zaključeno je da haploidentična TKMS po PTCy protokolu rezultira sličnim ishodima kao i TKMS od HLA – podudarnog srodnog ili HLA – podudarnog nesrodnog darivatelja (115, 127, 128, 129, 130). Jedna od tih studija provedena je u Bolnici Northside (Northside Hospital) u Atlanti, GA, SAD te je njome otkriveno kako su stope NRM – a i kroničnog GVHD – a najniže u pacijenata liječenih haploidentičnom TKMS po PTCy protokolu, dok su stope akutnog GVHD – a i preživljavanja slične (127). U Bolnici San Martino (San Martino Hospital) u Genovi, Italija provedena je studija u kojoj su uspoređivali PTCy protokol haploidentične TKMS s četiri druga tipa darivatelja (HLA – podudaran srodnik, HLA – podudaran nesrodni darivatelj, HLA – nepodudarni nesrodni darivatelj i stanice krvi iz pupkovine) te su rezultati bili sljedeći: preživljavanje bez bolesti, ukupno preživljavanje i stopa relapsa bili su slični u svim skupinama, a stope NRM – a, akutnog GVHD – a II – IV stupnja i kroničnog GVHD – a bile su najniže kod PTCy protokola (128). Znanstvenici s MD Anderson centra za rak (MD Anderson Cancer Center) objavili su u svojoj studiji slične stope uspješnog presađivanja, imunološke rekonstitucije, GVHD – a i preživljavanja nakon haploidentične TKMS po PTCy protokolu u usporedbi s TKMS od HLA – podudarnog srodnog ili HLA – podudarnog

nesrodnog darivatelja (129). Korištenjem RIC – PTCy protokola haploidentične TKMS u pacijenta s perifernim T – staničnim limfomima i ne Hodgkinovim limfomima dobiveni su obećavajući rezultati u usporedbi s HLA – podudarnom alogeničnom TKMS (131, 132). Naposljetku, FHCRC i JHH grupa dokazali su da pacijenti s Hodgkinovim limfomom koji su bili liječeni po PTCy protokolu haploidentične TKMS imaju bolje ishode preživljavanja bez progresije (PFS) u usporedbi s pacijentima koji su bili liječeni presadcima od HLA – podudarnog srodnika ili HLA – podudarnog nesrodnog darivatelja (133).

Također su provedene retrospektivne usporedne studije PTCy protokola haploidentične TKMS s drugim strategijama darivatelja (5). U jednoj retrospektivnoj studiji provedenoj na 65 odraslih pacijenata od kojih je dio bio liječen po TCD, a dio PTCy protokolu haploidentične TKMS, stopa preživljavanja bila je značajno bolja u skupini liječenoj po PTCy protokolu u prvom redu zbog izrazito manje stope NRM – a u toj skupini koja je bila posljedično zbog manjeg rizika od nastanka virusnih i gljivičnih infekcija (134). Također je rekonstitucija T limfocita bila brža, a stopa kroničnog GVHD – a niža u skupini liječenoj po PTCy protokolu (134). U dvjema paralelnim prospektivnim studijama (BMT Clinical Trials Network) uspoređuju se učinci RIC – PTCy protokola s liječenjem presadcima iz krvi pupkovine (UCBT) te su nakon medijana praćenja od jedne godine gotovo svi parametri u korist RIC – PTCy protokola (uspješno presađivanje, akutni GVHD III – IV stupnja, kronični GVHD, NRM te toksičnost 3 – 4 stupnja), no stopa relapsa je niža kod pacijenata liječenih presadcima iz krvi pupkovine (135). Otkrića još jedne retrospektivne studije, koja je uspoređivala pacijente liječene po PTCy protokolu i one liječene presadcima iz krvi pupkovine, pokazala su kako je izrazito brže ugrađivanje trombocita, niže stope akutnog i kroničnog GVHD – a te niže stope relapsa i bolje preživljavanje bez progresije bolesti u onih pacijenata koji su bili liječeni PTCy protokolom (136).

5.3.4. Uporaba ciklofosfamida u drugim tipovima transplantacije

Slijedeći uspjeh koji je uporaba ciklofosfamida postigla u haploidentičnoj transplantaciji krvotvornih matičnih stanica, njegova primjena započela je i u drugim tipovima transplantacija (5). Uporaba samo ciklofosfamida, bez dodatka CNI inhibitora ili drugih imunosupresiva pokazala se kao učinkovita profilaksa GVHD – a nakon mijeloablativnog kondicioniranja i HLA- podudarne srodne i HLA – podudarne nesrodne transplantacije koštane srži (137, 138, 139). Rezultati studije provedene na 209 pacijenata s leukemijom bili

su zadovoljavajući, s niskim stopama akutnog GVHD – a III – IV stupnja, kroničnog GVHD – a i trogodišnje NRM (138).

Iako se u prethodno opisanom protokolu ciklofosamid pokazao uspješnim, njegova primjena kao jedinog lijeka u profilaksi GVHD – a nakon HLA – podudarne alogene TKMS uz primjenu presadaka iz perifernih KMS (PBSC) i/ili RIC – a, prema dosadašnjim studijama mogla bi biti neučinkovita (5). Iako je u dvjema malim studijama koje su istraživale RIC – PBSC pristup alogene TKMS, dokazano da su više stope akutnog GVHD – a III – IV stupnja i NRM – a (140, 141), u jednoj drugoj većoj studiji, koja je također istraživala isti pristup, dobivene su stope GVHD – a slične kao i kod pristupa s mijeloablativnim kondicioniranjem, no uz visoke stope NRM – a (39%) (142).

Naposljetku, primjena ciklofosamida za sada pokazuje obećavajuće rezultate u olakšavanju transplantacije solidnih organa (5).

6. KOMPLIKACIJE HAPLOIDENTIČNE TKMS

Komplikacije nakon transplantacije krvotvornih matičnih stanica mogu se podijeliti na akutne i kronične. Na njihovu pojavu utječu brojni čimbenici kao što su dob pacijenta, osnovni status izvedbe transplantacije, izvor krvotvornih matičnih stanica, tip i intenzitet režima kondicioniranja te mnogi drugi. Akutne komplikacije javljaju se unutar 100 dana od transplantacije te uključuju mijelosupresiju s neutropenijom, anemiju, trombocitopeniju, sinusoidalni opstruktivski sindrom, mukozitis, akutni GVHD, gram – pozitivne/ gram – negativne infekcije, infekcija HSV – om, CMV – om, Candidom i Aspergillusom te neprihvatanje i odbacivanje presatka. Neprihvatanje i odbacivanje transplantata se očituje trajnom pancitopenijom ili ireverzibilnim padom u krvnoj slici, javlja se u < 5% pacijenata, a terapija izbora su kortikosteroidi kroz nekoliko tjedana. Glavne kronične komplikacije uključuju kronični GVHD – a, relaps bolesti te infekcije inkapsuliranim bakterijama i VZV – om. (20, 21).

6.1. REAKCIJA PRESATKA PROTIV PRIMATELJA (GVHD)

Reakcija presatka protiv primatelja (GVHD) najčešća je komplikacija alogenične transplantacije krvotvornih matičnih stanica te značajan uzrok morbiditeta i mortaliteta.

Predstavlja bitnu prepreku široj primjeni transplantacije krvotvornih matičnih stanica u liječenju raznolikih bolesti. To je nepovoljan imunološki fenomen normalnih upalnih mehanizama koji nastaje kao posljedica prepoznavanja antigena primateljevog podrijetla kao stranih, a posredovan je imunokompetentim limfocitima T darivatelja. Kliničke manifestacije ovog imunološkog odgovora nazivaju se akutni i kronični GVHD, ovisno o vremenu nastanka simptoma – ukoliko nastane unutar prvih 100 dana od transplantacije smatra se akutnim, iako je nekad tu granicu teško razdvojiti jer se akutni GVHD može javiti i nakon 100 dana od transplantacije kao kasni akutni GVHD ili može nastati sindrom preklapanja akutnog i kroničnog GVHD – a.

Prema kriterijima konsenzusa Nacionalnog instituta zdravlja (National Institute of Health, NIH) GVHD dijelimo u 4 podrazreda: 1) klasični aGVHD – dijagnostičke i karakteristične značajke kroničnog GVHD – a su odsutne, prisutne su kliničke značajke akutnog GVHD – a unutar 100 dana od alogene TKMS ili infuzije limfocita darivatelja (DLI), 2) perzistentni/rekurentni/kasni aGVHD – značajke klasičnog aGVHD – a bez dijagnostičkih značajki cGVHD – a koje su prisutne nakon 100 dana od alogene TKMS ili DLI – a, 3) klasični cGVHD – prisutan bilo kada nakon alogene TKMS, prisutne su dijagnostičke i karakteristične značajke cGVHD – a bez značajki aGVHD – a, 4) sindrom preklapanja: vidljive su značajke akutnog i kroničnog GVHD – a (143, 144).

6.1.1. Akutni GVHD

Incidencija akutne reakcije presatka protiv primatelja (aGVHD) iznosi između 30 i 50% u bolesnika koji su primili presadak od HLA – potpuno podudarnog srodnika, dok u onih pacijenata koji su primili presadak od nesrodnog darivatelja može iznositi i 80% (21, 145). Patofiziološki se radi o postupku/procesu u tri stupnja u kojem sudjeluju urođena i stečena imunost: (1) oštećenje tkiva primatelja kao posljedica predtransplantacijskog režima kondicioniranja koji također dovodi do aktivacije domaćinovitih antigen – prezentirajućih stanica (APCs), (2) antigen – prezentirajuće stanice dovode do aktivacije i klonalne ekspanzije darivateljevih limfocita T; ova faza je također poznata pod nazivom aferentna faza, (3) eferentna faza, stanični i upalni čimbenici djeluju zajedno oštećujući ciljne organe (146, 147). Mehanizam koji je u podlozi oštećenja tkiva je masivna upalna citokinska sekrecija. Dolazi do pojačanog otpuštanja proupalnih citokina kao što su TNF – α , IL - 1 β i IL – 6 te pojačane ekspresije receptora na antigen – prezentirajućim stanicama (148).

Najbitnijim čimbenikom rizika nastanka aGVHD – a smatra se HLA nepodudarnost. Ostali čimbenici rizika uključuju razlike u spolu između primatelja i darivatelja, intenzitet režima kondicioniranja, visoku dob, višerodne ženske darivateljice, neučinkovita profilaksa GVHD – a te izvor presatka. (145)

Kliničke manifestacije aGVHD – a uključuju vrućicu, osip, hepatitis s hiperbilirubinemijom, povraćanjem, proljev, bolovima u trbuhu te gubitak na težini (21). Težina aGVHD – a procjenjuje se prema Glucksbergovoj ljestvici te se na temelju nje dijeli u 4 razreda, od I do IV stupnja: gradus I (A) podrazumijeva makulopapularni osip koji zahvaća manje od 25 % površine tijela bez jetrenih ili gastro – intestinalnih simptoma, gradus 2 (B) podrazumijeva makulopapularni osip koji zahvaća 25 – 50 % površine tijela, dijareja u količini 500 – 1500 mL/d i vrijednosti bilirubina između 2 i 6 mg/dL, gradus 3 (C) podrazumijeva generaliziranu eritrodermiju, dijareju u količini 1500 – 2000 mL/d i vrijednosti bilirubina između 6,1 i 15 mg/dL, gradus 4(D) podrazumijeva generaliziranu eritrodermiju s buloznim formacijama, dijareju u količini preko 2000 mL/d, bol u trbuhu ili ileus te vrijednosti bilirubina preko 15 mg/dL (149, 150).

Pravovremena dijagnoza aGVHD – a iznimno je bitna, a proizlazi iz anamneze (podatak o provedenoj alogenoj TKMS) i fizikalnog pregleda (karakteristične kliničke manifestacije). Najbitniji korak u prevenciji nastanka same bolesti je adekvatno provedena profilaksa te se danas najčešće provodi kombinacijom ciklosporina i metotreksata, takrolimusa i metotreksata te inhibitorima kalcineurina (143, 151). Izbor početne terapije aGVHD – a ovisi o brojnim čimbenicima, kao što su težina simptoma, koji su organi zahvaćeni te profilaktičkom režimu (151). Topički steroidi najčešće se koriste u liječenju aGVHD – a I stupnja, dok je inicijalna terapija aGVHD – a II – IV stupnja visoka doza sistemskih steroida – počinje se s metilprednizolom u dozi od 1 do 2 mg/kg na dan IV te se povisuje do 10 mg/kg na dan ukoliko nema odgovora unutar 5 dana od početka terapije (21, 151).

6.1.2. Kronični GVHD

Incidencija kroničnog GVHD – a iznosi između 35 i 50 % u bolesnika liječenih presadkom od HLA – podudarnog srodnog darivatelja i između 60 i 70 % u bolesnika s HLA – podudarnim nesrodnim darivateljem, a može se javiti kao zasebni entitet, može se nadovezati na aGVHD ili se može javiti nakon epizode aGVHD –a (21). Patofiziološki se radi također radi o tro –

faznom procesu: (1) oštećenje tkiva zbog citotoksičnosti, infekcija i aGVHD –a dovodi do aktivacija stanica urođene imunosti te nehematopoetskih stanica kao što su endotelne stanice i fibroblasti, (2) druga faza okarakterizirana je hiperreaktivnošću stečenog imunološkog sustava i smanjenjem regulatora imunoloških stanica, (3) u trećoj fazi dolazi do abnormalnog popravka oštećenih tkiva kao posljedica aktivacije makrofaga koji aktiviraju fibroblaste (152).

Čimbenici rizika koji dovode do nastanka cGVHD – a uključuju prijašnju epizodu aGVHD – a, korištenje presada iz perifernih krvotvornih matičnih stanica, transplantacije u kojima je ženska osoba darivatelj, a muška primatelj transplantata, HLA nepodudarnost između darivatelja i primatelja, starija dob darivatelja ili primatelja te dijagnoza kronične mijeloične leukemije (153).

Kronični GVHD može uključivati ne samo epitelna ciljna tkiva (probavni trakt, jetra, koža, pluća) koja su zahvaćena u klasičnom aGVHD – u, već i bilo koji drugi organski sustav, uključujući usnu šupljinu, jednjak, mišično – koštani sustav, zglobove, fascije, očni sustav, limfni sustav, kosu i nokte te genitalna tkiva (154). Klinička slika često može nalikovati autoimunim ili ostalim imuno – posredovanim poremećajima kao što su skleroderma, Sjörgenov sindrom, primarna bilijarna ciroza, obliterirajući bronhiolitis, imuna citopenija i kronična imunodeficijencija, a simptomi se najčešće javljaju unutar godine dana od TKMS, njačešće kao posljedica smanjenja doze imunosupresivnih lijekova (153). Prema kriterijima konzensusa Nacionalnog instituta zdravlja (NIH) procjenjuje se težina cGVHD – a što pomaže određivanju modaliteta liječenja i predviđa preživljavanje, a dijeli se na: 1) blagi oblik – zahvaćanje 2 ili manje organa bez oštećenja funkcije, 2) umjereni oblik – zahvaćanje 3 ili više organa bez klinički značajnog oštećenja funkcije ili zahvaćanje najmanje 1 organa uz klinički značajno oštećenje funkcije, ali bez velike invalidnosti, 3) teški oblik – značajna invalidnost (144).

Za postavljanje dijagnoze, prema NIH kriterijima, potreban je najmanje 1 dijagnostički znak ili najmanje 1 karakteristični znak utvrđen biopsijom, drugim testovima ili radiološki te isključenje drugih dijagnoza (144). Iako se prevencija cGVHD – a intenzivno istražuje, za sada protokoli nisu još značajno uspješni, a najčešće se koriste antitimocitni globulin i rituksimab (155). Liječenje cGVHD – a trebalo bi smanjiti težinu simptoma, kontrolirati objektivne manifestacije aktivn bolesti te srpiječiti oštećenja i invalidnost bez uzrokovanja toksičnosti te oštećenja vezanih uz liječenje (156). Blagi oblik cGVHD – a liječi se najčešće

samo topikalnom terapijom (157), dok se umjereni i teški oblik cGVHD – a liječe sistemskim kortikosteroidima najmanje godinu dana (156).

6.2. ODBACIVANJE PRESATKA

Odbacivanje presatka ozbiljna je komplikacija alogenične TKMS, a definirana je kao izostanak inicijalnog uspješnog prihvata presatka (primarno odbacivanje presatka) ili kao gubitak stanica darivatelja nakon inicijalnog uspješnog prihvata presatka (sekundarno odbacivanje presatka) (158). Nastaje kao rezultat imunološkog odgovora darivatelja, koji je posredovan rezidualnim imunitetom domaćina koji zaostaje nakon režima kondicioniranja, na imunohepatopoetske stanice darivatelja (159). Učestalost nastanka odbacivanja presatka najviša je kad postoji HLA nepodudarnost što je prisutno kod TKMS presadcima krvi iz pupkovine i kod haploidentične TKMS, dok je učestalost najmanja kod autologne TKMS i HLA – podudarnih srodnih darivatelja (20). Čimbenici koji utječu na nastanak odbacivanja presatka su funkcionalna rezidualna imunost primatelja, nizak broj darivateljevih stanica u presadku, in vitro oštećenja stanica tijekom prikupljanja i krioprezervacije, neadekvatna predtransplantacijska priprema i infekcije (20).

6.3. SINUSOIDALNI OBSTRUKCIJSKI SINDROM (SOS)

Također je poznat i pod nazivom veno – okluzivna bolest (VOD), a posljedica je kemoterapije tijekom preparativnog režima te se javlja unutar 6 tjedana od transplantacije krvotvornim matičnim stanicama (20). Patofiziološki se radi o uništenju endotela jetrenih sinusoida što dovodi do obstrukcije i nekroze centrilobularnog dijela jetre (160). Incidencija je oko 14 % (160), a najčešće je uzrokovan korištenjem oralnog busulfana i ciklofosfamida, dok je primjena intravenskog busulfana povezana sa smanjenom pojavom sindroma (162). Klinička slika uključuje blagu hepatomegaliju, žuticu zbog hiperbilirubinemije, ascites te dobitak na težini zbog zadržavanja tekućine (20). Dijagnoza je klinička, a temelji se na vrijednostima bilirubina većim od 2 mg/dL te nalazu hepatomegalije i znakovima retencije tekućine (20). Liječenje se provodi ursodeoksikolnom kiselinom (UDCA) koja je pokazala da dovodi do značajnog smanjenja nastanka sindroma ukoliko se daje prije i nakon transplantacije (163).

6.4. INTERSTICIJSKI PNEUMONITIS SINDROM (IPS)

Incidencija intersticijskog pneumonitis sindroma je niska te je povezana s izravnom kemotoksičnošću kao posljedica režima kondicioniranja, a javlja se obično unutar 90 dana od transplantacije (20). Patološki je okarakteriziran prisutnošću intersticijskog i alveolarnog pneumonitisa i intersticijske fibroze u odsutnosti prepoznatljivog infektivnog uzročnika (164). IPS u ljudi je teška i iscrpljujuća bolest s prosjekom preživljavanja od početka kliničkih simptoma između 5 i 6 godina (164).

7. ZAKLJUČAK

Iako je alogenična transplantacija krvotvornih matičnih stanica u zadnjih 50 godina iznimno napredovala te omogućila liječenje širokog spektra bolesti, danas se i dalje susrećemo s određenim zaprekama u njezinoj izvedbi. Svaki od opisanih protokola danas se može provesti sigurno te svaki od njih ima svoje prednosti, ali i nedostatke za koje se brojni znanstvenici diljem svijeta trude razviti načine da ih usavrše i zaobiđu. Glavni nedostatak TCD protokola visoka je stopa NRM – a, kod GIAC protokola to je visoka stopa kroničnog GVHD – a, dok je najvažnija zapreka PTCy protokolu visoke stope relapsa u inicijalnim studijama. Na kraju, uz sve rizike i nedostatke koje alogenična transplantacija krvotvornih matičnih stanica sa sobom nosi, ona je nevjerojatna metoda liječenja brojnih, do prije pola stoljeća, teških i neizlječivih bolesti.

8. ZAHVALE

Zahvaljujem svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Nadiri Duraković na pruženoj prilici, trudu i pomoći u izradi ovog rada.

Hvala mojoj obitelji i prijateljima na neizmjerne podršci, strpljenju i pogotovo razumijevanju tijekom čitavih šest godina studija. Bilo je slatko, naporno i sada kada gledam na žalost kratko.

9. LITERATURA

1. Thomas ED, Lochte HL, Lu WC, Ferrebee JW. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N. Engl. J. Med.* 1957;257(11):491-6.
2. Mardešić D i sur. *Pedijatrija*. 8. izd. Zagreb:Školska knjiga; 2016.
3. Sadler TW. *Langmanova medicinska embriologija*. 10. izd. Zagreb: Školska knjiga; 2008.
4. Uphoff, D. E. Genetic factors influencing irradiation protection by bone marrow. I. The FI hybrid effect. *Natl. Cancer Inst.* 1957;19:123-125.
5. Kanakry GC, Fuchs JE, Luznik L. Modern approaches to HLA – haploidentical blood or marrow transplantation. *Nat Rev Clin Oncol.* 2016;13(2):132.
6. Walker BR, Colledge NR, Ralston SH, Penman ID. *Davidson's Principles & Practice of Medicine*. 22. izd. Edinburgh: Churchill Livingstone Elsevier; 2014.
7. Copelan EA. Hematopoietic stem-cell transplantation. *N. Engl. J. Med.* 2006;354:1813-1826.
8. Barriga F, Ramirez P, Wietstruck A, Rojas N. Hematopoietic stem cell transplantation: clinical use and perspectives. *Biol. Res.* 2012;45:307-316.
9. Juric MK, Ghimire S, Ogonek J, Weissinger EM, Holler E, van Rood JJ, Oudshoorn M, i sur. Milestones of Hematopoietic Stem Cell Transplantation – From First Human Studies to Current Developments. *Front Immunol.* 2016;7:470.
10. Anasetti C, Logan BR, Lee SJ, Waller EK, Weisdorf DJ, Wingard JR, et al. Peripheral-blood stem cells versus bone marrow from unrelated donors. *N Engl J Med.* 2012;367:1487–96.10.1056/NEJMoa1203517.
11. Eapen M, Le Rademacher J, Antin JH, Champlin RE, Carreras J, Fay J, et al. Effect of stem cell source on outcomes after unrelated donor transplantation in severe aplastic anemia. *Blood.* 2011;118:2618–21.10.1182/blood-2011-05-354001.
12. Korblyng M, Freireich EJ. Twenty-five years of peripheral blood stem cell transplantation. *Blood.* 2011;117:6411–6.10.1182/blood-2010-12-322214.
13. Dreger P, Glass B, Uharek L, Schmitz N. Allogeneic peripheral blood progenitor cells: current status and future directions. *J Hematother.* 1996;5:331–7.10.1089/scd.1.1996.5.331.
14. Kolb HJ. As time goes by. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2015;21:1–2.10.1016/j.bbmt.2014.11.011.

15. Karlsson L, Quinlan D, Guo D, Brown C, Selinger S, Klassen J, et al. Mobilized blood cells vs bone marrow harvest: experience compared in 171 donors with particular reference to pain and fatigue. *Bone Marrow Transplant.* 2004;33(7):709–13.10.1038/sj.bmt.1704418
16. Holtick U, Albrecht M, Chemnitz JM, Theurich S, Shimabukuro-Vornhagen A, Skoetz N, et al. Comparison of bone marrow versus peripheral blood allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies in adults-a systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2015;94:179–88.10.1016/j.critrevonc.2014.12.007.
17. Powles R, Mehta J, Kulkarni S, Treleaven J, Millar B, Marsden J, et al. Allogeneic blood and bone-marrow stem-cell transplantation in haematological malignant diseases: a randomised trial. *Lancet.* 2000;355(9211):1231–7.10.1016/S0140-6736(00)02090-0.
18. Bensinger WI, Martin PJ, Storer B, Clift R, Forman SJ, Negrin R, Kashyap A, Flowers ME, Lilleby K, Chauncey TR, Storb R, Appelbaum FR. Transplantation of bone marrow as compared with peripheral-blood cells from HLA-identical relatives in patients with hematologic cancers. *N Engl J Med.* 2001;344(3):175-81.
19. Anasetti C, Logan BR, Lee SJ, Waller EK, Weisdorf DJ, Wingard JR i sur. Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network. Peripheral-blood stem cells versus bone marrow from unrelated donors. *N Engl J Med.* 2012;367(16):1487-96.
20. Khaddour K, Hana CK, Mewawalla P. Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *StatPearls* [Internet]. [pristupljeno 10.4.2021.]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536951/>
21. N.N. Transplantacija krvotvornih matičnih stanica [Internet]. MSD priručnik dijagnostike i terapije [pristupljeno 10.4.2021.]. Dostupno na: <http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/imunologija-i-alergije/transplantacija/transplantacija-krvotvornih-maticnih-stanica>
22. Hwang WYK, Ong SY. Allogeneic Haematopoietic Stem Cell Transplantation without a Matched Sibling Donor: Current Options and Future Potential. *Ann Acad Med Singap.* 2009; 38(4):340-6.
23. Lee SJ, Klein J, Haagensohn M, Baxter-Lowe LA, Confer DL, Eapen M, et al. High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. *Blood.* 2007;110:4576-83.

24. Ciurea SO, Bayraktar UD. "No donor"? Consider a haploidentical transplant. *Blood Rev.* 2015;29(2):63-70.
25. Gragert L, Eapen M, Williams E, Freeman J, Spellman S, Baitty R, Hartzman R, Rizzo JD, Horowitz M, Confer D, Maiers M. HLA match likelihoods for hematopoietic stem-cell grafts in the U.S. registry. *N Engl J Med.* 2014;371(4):339-48.
26. Beatty PG, Clift RA, Mickelson EM, Nisperos BB, Flournoy N, Martin PJ, Sanders JE, Stewart P, Buckner CD, Storb R. Marrow transplantation from related donors other than HLA-identical siblings. *N Engl J Med.* 1985;313(13):765-71.
27. Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D, Giralt S, Lazarus H, Ho V, et al. Defining the intensity of conditioning regimens: working definitions. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2009;15:1628–33.10.1016.
28. Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Gratwohl A, Masszi T. Principles of conditioning. In: Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Masszi T, editors. *Haematopoietic Stem Cell Transplantation.* Genoa: Forum Service Editore; 2008. p. 128–44.
29. Thomas ED, Buckner CD, Banaji M, Clift RA, Fefer A, Flournoy N et al. One hundred patients with acute leukemia treated by chemotherapy, total body irradiation, and allogeneic marrow transplantation. *Blood.* 1977;49:511–33.
30. Pecego R, Hill R, Appelbaum FR, Amos D, Buckner CD, Fefer A et al. Interstitial pneumonitis following autologous bone marrow transplantation. *Transplant.* 1986;42:515–7.10.1097.
31. Santos GW, Tutschka PJ, Brookmeyer R, Saral R, Beschorner WE, Bias WB, et al. Marrow transplantation for acute nonlymphocytic leukemia after treatment with busulfan and cyclophosphamide. *N Engl J Med.* 1983;309:1347–53.10.1056.
32. Metayer C, Curtis RE, Vose J, Sobocinski KA, Horowitz MM, Bhatia S, et al. Myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia after autotransplantation for lymphoma: a multi-center case-control study. *Blood.* 2003;101:2015–23.10.1182.
33. McSweeney PA, Niederwieser D, Shizuru JA, Sandmaier MB, Molina AJ, Maloney DG, et al. Hematopoietic cell transplantation in older patients with hematologic malignancies: replacing high-dose cytotoxic therapy with graft-versus-tumor effects. *Blood.* 2001;97:3390–400.10.1182.
34. Popat U, de Lima MJ, Saliba RM, Anderlini P, Andersson BS, Alousi AM et al. Long-term outcome of reduced-intensity allogeneic hematopoietic SCT in patients with AML in CR. *Bone Marrow Transplant.* 2012;47:212–6.10.1038.

35. Korngold R, Sprent J. Lethal graft – versus – host disease after bone marrow transplantation across minor histocompatibility barriers in mice. Prevention by removing mature T cells from marrow. *J Exp Med.* 1978;148:1687-1698.
36. Kernan NA et al. Clonable T lymphocytes in T cell – depleted bone marrow transplants correlate with development of graft – v – host disease. *Blood.* 1986;68:770-773.
37. Reisner Y, Kapoor N, Sharon N. Use of soybean agglutinin for the separation of mouse B and T lymphocytes. *Biochem. Biophys Res Commun.* 1976;158:1585-1591.
38. Reisner Y, Itzicovitch L, Meshorer A, Sharon N. Haemopoietic stem cell transplantation using mouse bone marrow and spleen cells fractionated by lectins. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1978;75:2933-2936.
39. Reisner Y, Kapoor N, O'Reilly RJ, Good RA. Allogeneic bone marrow transplantation using stem cells fractionated by lectins: VI, in vitro analysis of human and monkey bone marrow cells fractionated by sheep red blood cells and soybean agglutinin. *Lancet.* 1980;2:1320-1324.
40. Jabado N et al. Bone marrow transplantation from genetically HLA – nonidentical donors in children with fatal inherited disorders excluding severe combined immunodeficiencies: use of two monoclonal antibodies to prevent graft rejection. *Paediatrics.* 1996;98:420-428.
41. Suchin EJ et al. Quantifying the frequency of alloreactive T cells in vivo: new answers to an old question. *J Immunol.* 2001;166:973-981.
42. Ash RC et al. Bone marrow transplantation from related donors other than HLA – identical siblings: effect of T cell depletion. *Bone Marrow Transplant.* 1991;7:443-452.
43. Schwartz E, Lapidot T, Gozes D, Singer TS, Reisner Y. Abrogation of bone marrow allograft resistance in mice by increased total body irradiation correlates with eradication of host clonable T cells and alloreactive cytotoxic precursors. *J Immunol.* 1987;138:460-465.
44. Lapidot T et al. Booster irradiation to the spleen following total body irradiation. A new immunosuppressive approach for allogeneic bone marrow transplantation. *J immunol.* 1988;141:2619-2624.
45. Lapidot T, Terenzi A, Singer TS, Salomon O, Reisner Y. Enhancement by dimethyl myleran of donor type chimerism in murine recipients of bone marrow allografts. *Blood.* 1989;73:2025-2032.

46. Terenzi A et al. Enhancement of T cell – depleted bone marrow allografts in mice by thiotepa. *Transplant.* 1990;50:717-720.
47. Cobbold SP, Martin G, Qin S, Waldmann H. Monoclonal antibodies to promote bone marrow engraftment and tissue graft tolerance. *Nature.* 1986;323:164-166.
48. Rachamim N et al. Tolerance induction by “megadose“ haematopoietic transplants: donor – type human CD34 stem cells induce potent specific reduction of host anti – donor cytotoxic T lymphocyte precursors in mixed lymphocyte culture. *Transplant.* 1998;65:1386-1393.
49. Reisner Y, Gur H, Reich – Zeliger S, Martelli MF, Bachar – Lustig E. Haematopoietic stem cell transplantation across major genetic barriers: tolerance induction by megadose CD34 cells and other veto cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2003;996:72-79.
50. Aversa F et al. Successful engraftment of T – cell – depleted haploidentical „three – loci“ incompatible transplants in leukemia patients by addition of recombinant human granulocyte colony – stimulating factor – mobilized peripheral blood progenitor cells to bone marrow inoculum. *Blood.* 1994;84:3948-3955.
51. Aversa F et al. Treatment of high – risk acute leukemia with T – cell – depleted stem cells from related donors with one fully mismatched HLA haplotype. *N. Engl. J. Med.* 1998;339:1186-1193.
52. Aversa F et al. Full haplotype – mismatched haematopoietic stem – cell transplantation: a phase II study in patients with acute leukemia at high risk of relapse. *J. Clin. Oncol.* 2005;23:3447-3454.
53. Handgretinger R. New approaches to graft engineering for haploidentical bone marrow transplantation. *Semin. Oncol.* 2012;39:664-73.
54. Bethge WA et al. Haploidentical allogeneic haematopoietic cell transplantation in adults using CD3/CD19 depletion and reduced intensity conditioning: an update. *Blood Cells Mol. Dis.* 2008;40:13-19.
55. Amrolia PJ et al. Adoptive immunotherapy with allodepleted donor T – cells improves immune reconstitution after haploidentical stem cell transplantation. *Blood.* 2006;108:1797-1808.
56. Bacchetta R et al. Immunological outcome in haploidentical – HSC transplanted patients treated with IL – 10 – anergized donor T cells. *Front. Immunol.* 2014;5:16.
57. Schumm M et al. Depletion of T – cell receptor $\alpha\beta$ and CD19 positive cells from apheresis products with the CliniMACS device. *Cytotherapy.* 2013;15:1253-1258.

58. Devaud C et al. Antitumour activity of $\gamma\delta$ T cells reactive against cytomegalovirus-infected cells in a mouse xenograft tumour model. *Cancer Res.* 2009;69:3971–3978.
59. Scheper W et al. $\gamma\delta$ T cells elicited by CMV reactivation after allo-SCT cross-recognize CMV and leukemia. *Leukemia.* 2013;27:1328–1338.
60. Fujishima N et al. Skewed T cell receptor repertoire of V δ 1(+) $\gamma\delta$ T lymphocytes after human allogeneic haematopoietic stem cell transplantation and the potential role for Epstein-Barr virus-infected B cells in clonal restriction. *Clin. Exp. Immunol.* 2007;149:70–79.
61. Lamb LS, Jr, et al. Human $\gamma\delta$ (+) T lymphocytes have *in vitro* graft vs leukemia activity in the absence of an allogeneic response. *Bone Marrow Transplant.* 2001;27:601–606.
62. Drobyski WR, Majewski D, Hanson G. Graft-facilitating doses of *ex vivo* activated $\gamma\delta$ T cells do not cause lethal murine graft-vs.-host disease. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 1999;5:222–230.
63. Drobyski WR, Vodanovic-Jankovic S, Klein J. Adoptively transferred $\gamma\delta$ T cells indirectly regulate murine graft-versus-host reactivity following donor leucocyte infusion therapy in mice. *J. Immunol.* 2000;165:1634–1640.
64. Di Ianni M et al. Tregs prevent GVHD and promote immune reconstitution in HLA-haploidentical transplantation. *Blood.* 2011;117:3921–3928.
65. Martelli MF et al. HLA-haploidentical transplantation with regulatory and conventional T-cell adoptive immunotherapy prevents acute leukemia relapse. *Blood.* 2014;124:638–644.
66. Leen AM et al. Cytotoxic T lymphocyte therapy with donor T cells prevents and treats adenovirus and Epstein-Barr virus infections after haploidentical and matched unrelated stem cell transplantation. *Blood.* 2009;114:4283–4292.
67. Melenhorst JJ et al. Graft versus leukemia response without graft-versus-host disease elicited by adoptively transferred multivirus-specific T-cells. *Mol. Ther.* 2015;23:179–183.
68. Ciceri F et al. Infusion of suicide-gene-engineered donor lymphocytes after family haploidentical haemopoietic stem-cell transplantation for leukaemia (the TK007 trial): a non-randomised phase I-II study. *Lancet Oncol.* 2009;10:489–500.
69. Di Stasi A et al. Inducible apoptosis as a safety switch for adoptive cell therapy. *N. Engl. J. Med.* 2011;365:1673–1683.

70. Storek J, Mohty M, Boelens JJ. Rabbit anti-T cell globulin in allogeneic haematopoietic cell transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2015;21:959–970.
71. Pan L, Delmonte J, Jr, Jalonon CK, Ferrara JL. Pretreatment of donor mice with granulocyte colony-stimulating factor polarizes donor T lymphocytes toward type-2 cytokine production and reduces severity of experimental graft-versus-host disease. *Blood.* 1995;86:4422–4429.
72. Coghill JM et al. Effector CD4+ T cells, the cytokines they generate, and GVHD: something old and something new. *Blood.* 2011;117:3268–3276.
73. Zeng D, Dejbakhsh-Jones S, Strober S. Granulocyte colony-stimulating factor reduces the capacity of blood mononuclear cells to induce graft-versus-host disease: impact on blood progenitor cell transplantation. *Blood.* 1997;90:453–463.
74. Arpinati M, Green CL, Heimfeld S, Heuser JE, Anasetti C. Granulocyte-colony stimulating factor mobilizes T helper 2-inducing dendritic cells. *Blood.* 2000;95:2484–2490.
75. Mielcarek M, Graf L, Johnson G, Torok-Storb B. Production of interleukin-10 by granulocyte colony-stimulating factor-mobilized blood products: a mechanism for monocyte-mediated suppression of T-cell proliferation. *Blood.* 1998;92:215–222.
76. Mielcarek M, Martin PJ, Torok-Storb B. Suppression of alloantigen-induced T-cell proliferation by CD14+ cells derived from granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cells. *Blood.* 1997;89:1629–1634.
77. Tanaka J, Mielcarek M, Torok-Storb B. Impaired induction of the CD28-responsive complex in granulocyte colony-stimulating factor mobilized CD4 T cells. *Blood.* 1998;91:347–352.
78. Huang XJ, Chang YJ, Zhao XY. Maintaining hyporesponsiveness and polarization potential of T cells after *in vitro* mixture of G-CSF mobilized peripheral blood grafts and G-CSF primed bone marrow grafts in different proportions. *Transpl. Immunol.* 2007;17:193–197.
79. Volpi I et al. Postgrafting administration of granulocyte colony-stimulating factor impairs functional immune recovery in recipients of human leucocyte antigen haplotype-mismatched haematopoietic transplants. *Blood.* 2001;97:2514–2521.
80. Lu DP et al. Conditioning including antithymocyte globulin followed by unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and marrow transplantation can

- achieve comparable outcomes with HLA-identical sibling transplantation. *Blood*. 2006;107:3065–3073.
81. Ji SQ et al. G-CSF-primed haploidentical marrow transplantation without *ex vivo* T cell depletion: an excellent alternative for high-risk leukemia. *Bone Marrow Transplant*. 2002;30:861–866.
 82. Huang XJ et al. Haploidentical haematopoietic stem cell transplantation without *in vitro* T-cell depletion for the treatment of haematological malignancies. *Bone Marrow Transplant*. 2006;38:291–297.
 83. Lee KH et al. Reduced-intensity conditioning therapy with busulphan, fludarabine, and antithymocyte globulin for HLA-haploidentical haematopoietic cell transplantation in acute leukemia and myelodysplastic syndrome. *Blood*. 2011;118:2609–2617.
 84. Chen HR et al. Humanized anti-CD25 monoclonal antibody for prophylaxis of graft-versus-host disease (GVHD) in haploidentical bone marrow transplantation without *ex vivo* T-cell depletion. *Exp. Haematol*. 2003;31:1019–1125.
 85. Ji SQ et al. Anti-CD25 monoclonal antibody (basiliximab) for prevention of graft-versus-host disease after haploidentical bone marrow transplantation for haematological malignancies. *Bone Marrow Transplant*. 2005;36:349–354.
 86. Di Bartolomeo P et al. Haploidentical, unmanipulated, G-CSF-primed bone marrow transplantation for patients with high-risk haematologic malignancies. *Blood*. 2013;121:849–857.
 87. Chen XH et al. HLA-haploidentical blood and bone marrow transplantation with antithymocyte globulin: long-term comparison with HLA-identical sibling transplantation. *Blood Cells Mol. Dis*. 2009;43:98–104.
 88. Luo Y et al. T-cell-replete haploidentical HSCT with low-dose anti-T-lymphocyte globulin compared with matched sibling HSCT and unrelated HSCT. *Blood*. 2014;124:2735–2743.
 89. Wang Y et al. Superior graft-versus-leukemia effect associated with transplantation of haploidentical compared with HLA-identical sibling donor grafts for high-risk acute leukemia: an historic comparison. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2011;17:821–830.
 90. Huang XJ et al. Treatment of acute leukemia with unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and bone marrow transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2009;15:257–265.

91. Chen H et al. Haploidentical haematopoietic stem cell transplantation without *in vitro* T-cell depletion for the treatment of Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2015;21:1110–1116.
92. Mo XD et al. Haploidentical haematopoietic stem cell transplantation in adults with Philadelphia-negative acute lymphoblastic leukemia: no difference in the high- and low-risk groups. *Int. J. Cancer.* 2015;136:1697–1707.
93. Wang Y et al. Who is the best donor for a related HLA haplotype-mismatched transplant? *Blood.* 2014;124:843–850.
94. Huo MR et al. The effect of HLA disparity on clinical outcome after HLA-haploidentical blood and marrow transplantation. *Clin. Transplant.* 2012;26:284–291.
95. Maguire HC, Jr, Maibach HI, Minisce LW., Jr Inhibition of guinea pig anaphylactic sensitization with cyclophosphamide. *J. Invest. Dermatol.* 1961;36:235–236.
96. Berenbaum MC, Brown IN. Prolongation of homograft survival in mice with single doses of cyclophosphamide. *Nature.* 1963;200:84.
97. Eto M et al. Sequential mechanisms of cyclophosphamide-induced skin allograft tolerance including the intrathymic clonal deletion followed by late breakdown of the clonal deletion. *J. Immunol.* 1990;145:1303–1310.
98. Kong YY et al. Regulatory T cells in maintenance and reversal of peripheral tolerance *in vivo* . *J. Immunol.* 1996;157:5284–5289.
99. Mayumi H, Good RA. Long-lasting skin allograft tolerance in adult mice induced across fully allogeneic (multimajor H-2 plus multiminor histocompatibility) antigen barriers by a tolerance-inducing method using cyclophosphamide. *J. Exp. Med.* 1989;169:213–238.
100. Colson YL et al. A nonlethal conditioning approach to achieve durable multilineage mixed chimerism and tolerance across major, minor, and haematopoietic histocompatibility barriers. *J. Immunol.* 1995;155:4179–4188.
101. Luznik L, Engstrom LW, Iannone R, Fuchs EJ. Posttransplantation cyclophosphamide facilitates engraftment of major histocompatibility complex-identical allogeneic marrow in mice conditioned with low-dose total body irradiation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2002;8:131–138.
102. Luznik L, Jalla S, Engstrom LW, Iannone R, Fuchs EJ. Durable engraftment of major histocompatibility complex-incompatible cells after nonmyeloablative conditioning with fludarabine, low-dose total body irradiation, and posttransplantation cyclophosphamide. *Blood.* 2001;98:3456–3464.

103. Colson YL et al. Durable mixed allogeneic chimerism and tolerance by a nonlethal radiation-based cytoreductive approach. *J. Immunol.* 1996;157:2820–2829.
104. Ross D, Jones M, Komanduri K, Levy RB. Antigen and lymphopenia-driven donor T cells are differentially diminished by post-transplantation administration of cyclophosphamide after haematopoietic cell transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2013;19:1430–1438.
105. Ganguly S et al. Donor CD4⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells are necessary for posttransplantation cyclophosphamide-mediated protection against GVHD in mice. *Blood.* 2014;124:2131–2141.
106. Kanakry CG et al. Aldehyde dehydrogenase expression drives human regulatory T cell resistance to posttransplantation cyclophosphamide. *Sci. Transl. Med.* 2013;5:211ra157.
107. Emadi A, Jones RJ, Brodsky RA. Cyclophosphamide and cancer: golden anniversary. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2009;6:638–647.
108. Ross D, Jones M, Komanduri K, Levy RB. Antigen and lymphopenia-driven donor T cells are differentially diminished by post-transplantation administration of cyclophosphamide after haematopoietic cell transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2013;19:1430–1438.
109. Nirmul G, Severin C, Taub RN. Mechanisms and kinetics of cyclophosphamide-induced specific tolerance to skin allografts in mice. *Transplant. Proc.* 1973;5:675–678.
110. O'Donnell PV et al. Nonmyeloablative bone marrow transplantation from partially HLA-mismatched related donors using posttransplantation cyclophosphamide. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2002;8:377–386.
111. Luznik L et al. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for haematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2008;14:641–650.
112. Bastien JP et al. Photodepletion differentially affects CD4⁺ T_{REGS} versus CD4⁺ effector T cells from patients with chronic graft-versus-host disease. *Blood.* 2010;116:4859–4869.
113. Luznik L et al. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for haematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2008;14:641–650.

114. Munchel A et al. Nonmyeloablative, HLA-haploidentical bone marrow transplantation with high dose, post-transplantation cyclophosphamide. *Paediatr. Rep.* 2011;3:e15.
115. McCurdy SR et al. Risk-stratified outcomes of nonmyeloablative, HLA-haploidentical BMT with high-dose posttransplantation cyclophosphamide. *Blood.* 2015;125:3024–3031.
116. Raiola AM et al. Unmanipulated haploidentical bone marrow transplantation and posttransplantation cyclophosphamide for haematologic malignancies after myeloablative conditioning. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2013;19:117–122.
117. Solomon SR et al. Haploidentical transplantation using T cell replete peripheral blood stem cells and myeloablative conditioning in patients with high-risk haematologic malignancies who lack conventional donors is well tolerated and produces excellent relapse-free survival: results of a prospective phase II trial. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2012;18:1859–1866.
118. Solomon SR et al. Total body irradiation-based myeloablative haploidentical stem cell transplantation is a safe and effective alternative to unrelated donor transplantation in patients without matched sibling donors. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2015;21:1299–1307.
119. Grosso D et al. A 2-step approach to myeloablative haploidentical stem cell transplantation: a phase 1/2 trial performed with optimized T-cell dosing. *Blood.* 2011;118:4732–4739.
120. Grosso D, et al. A two-step approach to myeloablative haploidentical transplantation: low nonrelapse mortality and high survival confirmed in patients with earlier stage disease. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2014;21:646–652.
121. Raj K, et al. Peripheral blood haematopoietic stem cells for transplantation of haematological diseases from related, haploidentical donors after reduced-intensity conditioning. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2014;20:890–895.
122. Castagna L, et al. Bone marrow compared with peripheral blood stem cells for haploidentical transplantation with a nonmyeloablative conditioning regimen and post-transplantation cyclophosphamide. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2014;20:724–729.
123. O'Donnell P, Raj K, Pagliuca A. High fever occurring 4 to 5 days post-transplant of haploidentical bone marrow or peripheral blood stem cells after reduced-intensity conditioning associated with the use of post-transplant cyclophosphamide as prophylaxis for graft-versus-host disease. *Biol. Blood. Marrow Transplant.* 2015;21:197–198.

124. Gladstone DE, et al. Partially mismatched transplantation and human leucocyte antigen donor-specific antibodies. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2013;19:647–652.
125. Ciurea SO, et al. High risk of graft failure in patients with anti-HLA antibodies undergoing haploidentical stem-cell transplantation. *Transplantation.* 2009;88:1019–1024.
126. Leffell MS, Jones RJ, Gladstone DE. Donor HLA-specific Abs: to BMT or not to BMT? *Bone Marrow Transplant.* 2015;50:751–758.
127. Bashey A, et al. T-cell-replete HLA-haploidentical haematopoietic transplantation for haematologic malignancies using post-transplantation cyclophosphamide results in outcomes equivalent to those of contemporaneous HLA-matched related and unrelated donor transplantation. *J. Clin. Oncol.* 2013;31:1310–1316.
128. Raiola AM, et al. Unmanipulated haploidentical transplants compared with other alternative donors and matched sibling grafts. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2014;20:1573–1579.
129. Di Stasi A, et al. Similar transplantation outcomes for acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome patients with haploidentical versus 10/10 human leucocyte antigen-matched unrelated and related donors. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2014;20:1975–1981.
130. Kanakry CG, Luznik L. Are alternative donors really still “alternative”? *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2014;20:1463–1464.
131. Kanakry JA, et al. Outcomes of related donor HLA-identical or HLA-haploidentical allogeneic blood or marrow transplantation for peripheral T cell lymphoma. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2013;19:602–606.
132. Garciaz S, et al. Familial haploidentical challenging unrelated donor Allo-SCT in advanced non-Hodgkin lymphomas when matched related donor is not available. *Bone Marrow Transplant.* 2015;50:865–867.
133. Burroughs LM, et al. Comparison of outcomes of HLA-matched related, unrelated, or HLA-haploidentical related haematopoietic cell transplantation following nonmyeloablative conditioning for relapsed or refractory Hodgkin lymphoma. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2008;14:1279–1287.
134. Ciurea SO, et al. Improved early outcomes using a T cell replete graft compared with T cell depleted haploidentical haematopoietic stem cell transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2012;18:1835–1844.

135. Brunstein CG, et al. Alternative donor transplantation after reduced intensity conditioning: results of parallel phase 2 trials using partially HLA-mismatched related bone marrow or unrelated double umbilical cord blood grafts. *Blood*. 2011;118:282–288.
136. El-Cheikh J, et al. Unrelated cord blood compared with haploidentical grafts in patients with haematological malignancies. *Cancer*. 2015;121:1809–1816.
137. Luznik L, et al. High-dose cyclophosphamide as single-agent, short-course prophylaxis of graft-versus-host disease. *Blood*. 2010;115:3224–3330.
138. Kanakry CG, et al. Single-agent GVHD prophylaxis with posttransplantation cyclophosphamide after myeloablative, HLA-matched BMT for AML, ALL, and MDS. *Blood*. 2014;124:3817–3827.
139. Kanakry CG, et al. Multi-institutional study of post-transplantation cyclophosphamide as single-agent graft-versus-host disease prophylaxis after allogeneic bone marrow transplantation using myeloablative busulphan and fludarabine conditioning. *J. Clin. Oncol*. 2014;32:3497–3505.
140. Holtick U et al. OCTET-CY: a phase II study to investigate the efficacy of post-transplant cyclophosphamide as sole graft-versus-host prophylaxis after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Eur. J. Haematol*. 2016;96(1):27-35.
141. Bradstock KF, et al. Single-Agent high-dose cyclophosphamide for graft-versus-host disease prophylaxis in human leucocyte antigen-matched reduced-intensity peripheral blood stem cell transplantation results in an unacceptably high rate of severe acute graft-versus-host disease. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2015;21:941–944.
142. Alousi AM et al. Phase II trial of graft-versus-host disease prophylaxis with post-transplantation cyclophosphamide after reduced-intensity busulphan/fludarabine conditioning for haematological malignancies. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2015;21:906–912.
143. Goker H, Haznedaroglu IC, Chao NJ. Acute graft-vs-host disease: pathobiology and management. *Exp Hematol*. 2001;29:259–277.
144. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ i sur. 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. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2005;11:945–956.

145. Jagasia M, Arora M, Flowers ME, Chao NJ, McCarthy PL, Cutler CS i sur. Risk factors for acute GVHD and survival after hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2012;119:296–307.
146. Ghimire S, Weber D, Mavin E, Wang X, Dickinson AM, Holler E. Pathophysiology of GvHD and Other HSCT-Related Major Complications. *Front Immunol*. 2017;8:79.
147. Ferrara JML, Reddy P. Pathophysiology of Graft-Versus-Host Disease. *Semin Hematol*. 2006;43(1):3-10.
148. Toubai T, Mathewson ND, Magenau J, Reddy P. Danger signals and graftversus- host disease: current understanding and future perspectives. *Front Immunol*. 2016;7:539.
149. Glucksberg, HR, Storb A, Fefer et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation* 1974;18(4):295–304.
150. Rowlings PA, Przepiorka D, Klein JP et al. IBMTR Severity Index for grading acute graft-versus-host disease: retrospective comparison with Glucksberg grade. *Br J Haematol* 1997;97(4):855–64.
151. Elifcan A, Engin K, Göker H. Acute Graft-Versus-Host Disease: A Brief Review. *Turk J Haematol*. 2020; 37(1): 1–4.
152. Zeiser R, Blazar BR. Pathophysiology of chronic graft-versus-host disease and therapeutic targets. *N Engl J Med* 2017;377(26):2565–79.
153. Flowers ME, Inamoto Y, Carpenter PA, et al. Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria. *Blood*. 2011;117(11):3214–3219.
154. Jagasia MH, Greinix HT, Arora M et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015;21(3):389-401.
155. Ramachandran V, Kolli SS, Strowd LC. Review of Graft – Versus – Host – Disease. *Dermatol Clin*. 2019; 37(4):569-582.
156. Flowers ME, Martin PJ. How we treat chronic graft – versus – host – disease. *Blood*. 2015; 125(4): 606–615.
157. Wolff D, Gerbitz A, Ayuk F et al. Consensus conference on clinical practice in chronic graft-versus-host disease (GVHD): first-line and topical treatment of chronic GVHD. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010;16(12):1611–1628.

158. Ozdemir ZN, Civriz BS. Graft failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transfus Apher Sci.* 2018;57(2):163-167.
159. Nakamura H, Gress RE. Graft rejection by cytolytic T cells. Specificity of the effector mechanism in the rejection of allogeneic marrow. *Transplant.* 1990;49(2):453–8.
160. Bearman SI. The syndrome of hepatic veno-occlusive disease after marrow transplantation. *Blood.* 1995;85(11):3005-20.
161. Coppell JA, Richardson PG, Soiffer R, Martin PL, Kernan NA, Chen A. Hepatic veno-occlusive disease following stem cell transplantation: incidence, clinical course, and outcome. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2010;16(2):157-68.
162. Andersson BS, Madden T, Tran HT, Hu WW, Blume KG, Chow DS, Champlin RE, Vaughan WP. Acute safety and pharmacokinetics of intravenous busulfan when used with oral busulfan and cyclophosphamide as pretransplantation conditioning therapy: a phase I study. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2000;6(5A):548-54.
163. Cheuk DK. Hepatic veno-occlusive disease after hematopoietic stem cell transplantation: Prophylaxis and treatment controversies. *World J Transplant.* 2012;2(2):27-34.
164. Shankar G, Cohen DA. Idiopathic pneumonia syndrome after bone marrow transplantation: the role of pre-transplant radiation conditioning and local cytokine dysregulation in promoting lung inflammation and fibrosis. *Int J Exp Pathol.* 2001; 82(2): 101–113.

10. ŽIVOTOPIS

Rođena 12. rujna 1996. godine u Zagrebu, gdje je završila Osnovnu školu „Jordanovac“ 2011. godine i V. gimnaziju, opći smjer, 2015. godine. Iste godine upisuje Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studija bila je demonstrator na Katedri za medicinsku mikrobiologiju i parazitologiju te na Katedri za fiziologiju i imunologiju. Aktivno se služi engleskim i njemačkim jezikom. Aktivno se 12 godina bavila natjecateljskim skijanjem te je certificirani učitelj skijanja.