

# Liječenje autolognom transplantacijom matičnih hematopoetskih stanica - iskustvo Zavoda za hematologiju KBC Split

---

**Višić, Magdalena**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2023**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:263763>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-01**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Magdalena Višić**

**LIJEČENJE AUTOLOGNOM TRANSPLANTACIJOM MATIČNIH  
HEMATOPOETSКИH STANICA – ISKUSTVO ZAVODA ZA HEMATOLOGIJU KBC  
SPLIT**

**Diplomski rad**

**Akadska godina:**

**2022./2023.**

**Mentor:**

**dr. sc. Davor Galušić, dr. med.**

**Split, srpanj 2023.**

## Sadržaj

1. UVOD .....	1
1.1. Hematopoezni sustav .....	2
1.2. Hematopoetske matične stanice .....	4
1.3. Transplantacija matičnih hematopoetskih stanica .....	7
1.4. Povijest transplantacije .....	9
1.4.1. Hrvatska .....	11
1.5. Indikacije za liječenje transplantacijom hematopoetskih matičnih stanica .....	13
1.6. Autologna transplantacija hematopoetskih matičnih stanica .....	15
1.6.1. Mobilizacija i prikupljanje hematopoetskih matičnih stanica .....	16
1.6.2. Kondicioniranje i reinfuzija hematopoetskih matičnih stanica .....	18
1.6.3. Razdoblje nakon transplantacije .....	18
1.7. Usporedba autologne i alogene transplantacije hematopoetskih matičnih stanica .....	20
2. CILJ ISTRAŽIVANJA .....	22
3. ISPITANICI I POSTUPCI .....	24
3.1. Organizacija istraživanja .....	25
3.2. Ispitanici i metode .....	25
3.3. Statistički postupci .....	26
3.4. Etičnost istraživanja .....	26
4. REZULTATI .....	27
4.1. Obilježja bolesnika i bolesti .....	28
4.2. Protokoli indukcije i mobilizacijski protokol .....	31
4.3. Terapija održavanja i ishodi .....	34
4.4. Hematološki oporavak i sigurnosni profil .....	36
4.5. Analize preživljenja .....	38
5. RASPRAVA .....	40
6. ZAKLJUČCI .....	44

7. POPIS CITIRANE LITERATURE.....	46
8. SAŽETAK.....	56
9. SUMMARY .....	58
10. ŽIVOTOPIS .....	60

## **ZAHVALA**

*Od srca se zahvaljujem svom mentoru dr. sc. Davoru Galušiću na ukazanom povjerenju i iznimnoj pomoći tijekom izrade diplomskog rada.*

*Hvala svima koji su nesebično dijelili svoje znanje i iskustvo tijekom svih ovih godina te me svojim primjerom nadahnuli i oblikovali moj pogled na ovu divnu profesiju.*

*Najveću zahvalnost želim uputiti svojoj obitelji i prijateljima koji su uvijek bili tu za mene, pružali mi potporu i ohrabrenje u trenucima vlastite sumnje.*

*Ovaj rad s ljubavlju posvećujem svojoj obitelji, osobito baki Mari i pokojnom didi Frani!*

## **POPIS KRATICA**

**ABVD** – doksorubicin, bleomicin, vinblastin, dakarbazin

**ALL** - Akutna limfoblastična leukemija

**AML** - Akutna mijeloična leukemija

**aloTKS** – alogena transplantacija krvotvornih stanica

**autoTKS**– autologna transplantacija krvotvornih stanica

**BCNU** - 1,3-bis(2-kloroetil)-1-nitrozo-urea

**BEACOPP** – bleomicin, etopozid, doksorubicin, ciklofosamid, vinkristin, prokarbazin, prednizon

**BeEAM** - bendamustin, etopozid, citarabin i melfalan

**BMDW** – (od engl. *Bone Marrow Donors Worldwide*)

**BMP** - koštani morfogogenetski protein (od engl. *Bone morphogenetic protein*)

**BV** - brentuksimab vedotin

**BV-B** – brentuksimab vedotin, bendamustin

**CFU** – jedinica koja stvara kolonije (od engl. *Colony forming unit*)

**CLP** - zajednički limfoidni progenitor (od engl. *Common lymphoid progenitor*)

**CMP** – zajednički mijeloidni progenitor (od engl. *Common myeloid progenitor*)

**CR** – kompletni odgovor (engl. *Complete response*)

**CXCR4** – (od engl. *Chemokine receptor type 4*)

**DHAP** – deksametazon, citarabin, cisplatina

**DLCBL** - difuzni B-velikostanični limfom (od engl. *Diffuse large B cell lymphoma*)

**DMSO** - dimetil sulfoksid

**DRd** – daratumumab, lenalidomid, deksametazon

**EBMT** - (od engl. *European Society for Blood and Marrow Transplantation*)

**ECOG stadij** - (od engl. *Eastern Cooperative Oncology Group*)

**FISH** – flourescencijska in situ hibridizacija

**FL** – (od engl. *Flt3-ligand*)

**FL** - folikularni limfom

**G-CSF** - granulocitni čimbenik rasta kolonija (od engl. *Granulocyte colony stimulating factor*)

**GF** – odbacivanje transplantata (od engl. *Graft failure*)

**GM-CSF** - granulocitno makrofagni čimbenik rasta kolonija (od engl. *Granulocyte*

**GMP** – (od engl. *Granulocyte-Macrophage Progenitor*)

**GVHD** - bolest presatka protiv primatelja (od engl. *Graft-versus-host disease*)

**GVL** - presadak protiv leukemije (od engl. *Graft-versus-leukemia*)

**GVT** - presadak protiv tumora (od engl. *Graft-versus-tumor*)

**HCT-CI** - indeks komorbiditeta nakon transplantacije krvotvornih matičnih stanica (od engl.

*Hematopoietic cell transplant – comorbidity indeks*)

**HL** - Hodgkinov limfom

**HLA** - ljudski leukocitni antigen (od engl. *Human leukocyte antigen*)

**HMS** - hematopoezne matične stanice

**ICE** – ifosfamid, karboplatina, etopozid

**IL** - interleukin

**ISS** – (od engl. *International Staging System*)

**IT-HSC** - srednjoročne hematopoetske matične stanice (od engl. *Intermediate-term hematopoietic stem cell*)

**KLL** - Kronična limfocitna leukemija

**KML** - Kronična mijeloična leukemija

**KRd** – carfilzomib, lenalidomid, deksametazon

**KROHEM** - Hrvatska kooperativna grupa za hematološke bolesti

**LMPP**- (od engl. *Lymphoid-primed multipotent progenitor*)

**LT-HSC** - dugotrajne hematopoetske matične stanice (od engl. *Long Term-Hematopoietic Stem Cell*)

**LVL** – leukafereza velikog volumena (od engl. *Large volume leukapheresis*)

**MCL** - limfom plaštene zone (od engl. *Mantle Cell lymphoma*)

**MDS** - mijelodisplastični sindrom

**MEP** - (od engl. *Megakaryocyte-Erythrocyte Progenitor*)

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

**MM** - multipli mijelom

**MPP** –(od engl. *Multipotent Progenitor*)

**OS** – ukupno preživljenje (engl. *Overall survival*)

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

**PD** – progresivna bolest (engl. *Progressive disease*)

**PFS** – preživljenje bez progresije bolesti (engl. *Progression-free survival*)

**PBR** - polatuzumab, rituximab, bendamustin

**PR** – parcijalni odgovor (engl. *Partial response*)

**R-CHOP** - rituximab, ciklofosamid, doksorubicin, vinkristin, prednizolon

**R-DA-EPOCH** - rituximab, etopozid, ciklofosamid, doksorubicin, vinkristin, prednizolon

**R-ISS** – (od engl. *Revised International Staging System*)

**RT** – radioterapija

**SCF** - faktor matičnih stanica (od engl. *Stem cell factor*),

**SD** – stabilna bolest (engl. *Stable disease*)

**SDF-1** - (od engl. *Stromal cell-derived factor-1*)

**ST-HSC** - kratkotrajne hematopoetske matične stanice (od engl. *Short Term-Hematopoietic Stem Cell*)

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



**TPO** - trombopoetin

**VCAM-1** – vaskularni stanični adhezijski protein 1 (od engl. *Vascular cell adhesion protein 1*)

**VCD** – bortezomib, ciklofosfamid i deksametazon

**VGPR** – vrlo dobar parcijalni odgovor (engl. *Very good partial response*)

**VLA-4** – vrlo kasni antigen 4 (od engl. *Very late antigen-4*)

**VRD** – bortezomib, lenalidomid, deksametazon

**VTD** – bortezomib, talidomid, deksametazon

## **1. UVOD**

## 1.1. Hematopoezni sustav

Hematopoezni (krvotvorni) sustav je kompleksni sustav koji, za razliku od ostalih sustava u organizmu ne čini jedinstvenu anatomsku cjelinu (1). Sačinjen je od krvnih stanica i hematopoeznih organa i tkiva. Organi i tkiva koji sudjeluju u stvaranju i sazrijevanju krvnih stanica su: koštana srž, slezena, timus, limfni čvorovi i limfocitno tkivo sluznica (2). Hematopoezni organi, iako nisu anatomski povezani, ostvaruju svoju funkcionalnu povezanost putem krvožilnog sustava (1). Za vrijeme fetalnog razvoja, prije nego koštana srž preuzme glavnu ulogu, proizvodnja krvnih stanica odvija se u žumanjčanoj vreći, slezeni i jetri (2). Hematopoeza je proces koji uključuje proizvodnju svih zrelih krvnih stanica iz hematopoetskih matičnih stanica (HMS) čime se održava ravnoteža između proizvodnje i potrebe za opskrbom i regulacijom broja eritrocita, granulocita, monocita, limfocita i krvnih pločica tijekom cijelog života jedne osobe. Dnevno se u koštanoj srži proizvede  $6 \times 10^9$  stanica po kilogramu tjelesne mase (2). Proizvodnja stanica mijenja se ovisno o potrebama organizma. U stanju mirovanja hematopoetske matične stanice ostaju u stanju visoke pripravnosti, dok u stanjima krajnje potrebe organizma, kao što su veliki gubitak krvi ili mikrobna invazija, mogu ući u stanični ciklus kako bi nadoknadili iscrpljene progenitore i potaknuli proizvodnju efektorskih stanica (3).

Koštana srž postaje glavni organ hematopoeze nakon petog mjeseca fetalnog života (2). Pri rođenju je u potpunost prisutna crvena koštana srž, a od četvrte godine života masne stanice naseljavaju dijafize dugih kostiju, a kasnije i ostale kosti. U odrasloj dobi crvena koštana srž prisutna je samo u kralješcima, rebrima, lubanjskim kostima, zdjeličnim kostima te u proksimalnoj epifizi nadlaktične i natkoljenične kosti, a u ostalim kostima prisutna je samo žuta srž (2). Tkivo koštane srži pruža jedinstveni mikrookoliš sastavljen od hematopoetskih i nehematopoetskih stanica te izvanstaničnog matriksa koji surađuju kako bi ostvarili nekoliko zadaća: poticanje samoobnavljanja matičnih stanica i multipotentnih progenitora, reguliranje diferencijacije svake loze krvnih stanica te pružanje strukturalne podrške i prostorne organizacije tkivu (4).

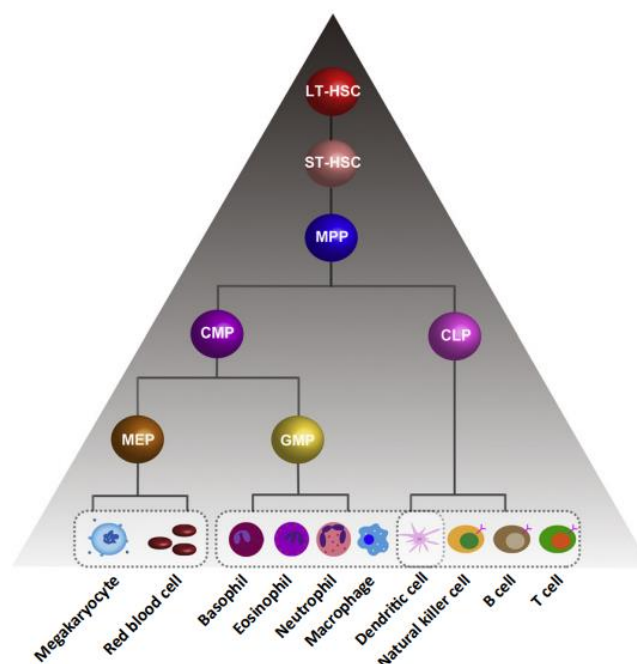
Hematopoeza se odvija u međuprostorima između krvnih žila, kostiju i retikularnih stanica, a poticajni mikrookoliš ili stroma koštane srži igra ključnu ulogu u procesu hematopoeze (5). Mnoge druge vrste stanica reguliraju hematopoezu, bilo izravno ili neizravno, te se stoga smatraju dijelom mikrookoliša. Nehematopoetske stanice uključuju sinusne endotelne stanice, osteoblastične prekursore, osteoblaste, osteocite, adipocite, Schwannove stanice, simpatičke i osjetne živce i fibroblaste (2, 6). S druge strane, hematopoetske komponente uključuju makrofage, megakariocite, mijeloične stanice i dendritične stanice (2). Pretpostavlja se da stanice „niše“ kontroliraju hematopoezu na dva načina (1). Prvi način je međustanična interakcija između stanica mikrookoliša i krvotvornih stanica, što potiče matične krvotvorne stanice da započnu procese diferencijacije i proliferacije, dok retikulinska mreža i fibroblastoidne stanice podržavaju adheziju matičnih stanica (1). Krvotvorni faktori rasta sudjeluju u drugom kontrolnom mehanizmu regulacije hematopoeze, kontrolirajući preživljenje, inducirajući diferencijaciju, proliferaciju i sazrijevanje krvotvornih stanica (1).

HMS su ukorijenjene u koštanoj srži zahvaljujući interakciji liganda SDF-1 i molekule VCAM-1 izraženih na stanicama koje čine mikrookoliš s receptorom CXCR4,  $\alpha 4\beta$  integrinom i antigenom VLA-4 izraženim na hematopoetskim matičnim stanicama (7). SDF-1–CXCR4 i VCAM-1–VLA4 igraju važnu ulogu u zadržavanju HMS stanica u „niši“ koštane srži (7). S druge strane, ključnu ulogu u procesu mobilizacije HMS-a tj. otpuštanju stanica u krvni optjecaj igra indukcija proteolitičkog mikrokruženja u koštanoj srži zbog oslobađanja proteolitičkih enzima iz granulocita i monocita (8). Primjerice, ovo se događa nakon primjene G-CSF-a (čimbenika stimulacije granulocitnih kolonija), mobilizirajućeg sredstva u procesu prikupljanja matičnih hematopetskih stanica za postupak transplantacije (9, 10).

## 1.2. Hematopoetske matične stanice

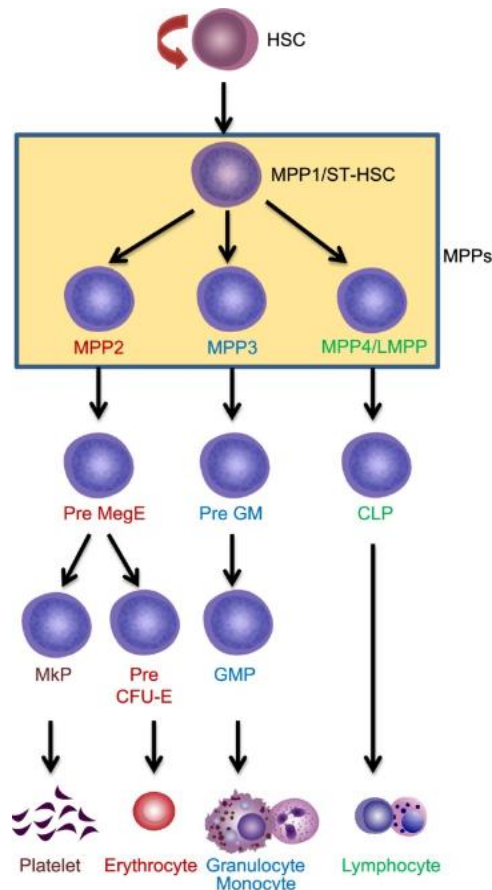
Krvotvorne matične stanice, kao i sve matične stanice u tijelu, imaju sposobnost samoobnavljanja, diferencijacije i proliferacije (1). One uspješno funkcioniraju ako mogu nadoknaditi širok spektar kratkotrajnih zrelih stanica tijekom dužeg razdoblja. Zrele stanice u krvi imaju različit prosječni životni vijek, koji varira od nekoliko sati za zrele neutrofile, do nekoliko mjeseci za crvene krvne stanice, pa sve do mnogo godina za memorijske limfocite (2). Međutim, populacija matičnih stanica predstavlja trajni izvor svih krvnih i imunoloških stanica, održavajući sposobnost generiranja raznolikog spektra stanica iz jednog izvora tijekom desetljeća života (2).

Zajednička ishodišna stanica je pluripotentna matična stanica iz koje se diferenciraju daljnje loze matičnih stanica (1). Dugo vremena se odnos linija između HMS-a i njihovih potomaka prikazivao kao model hijerarhije u obliku stabla s granama, temeljen uglavnom na imunofenotipu koji je uspostavila Weissman grupa (11). U ovom klasičnom modelu hematopoetske matične stanice se dijele u dvije subpopulacije prema njihovoj ekspresiji CD34: CD34<sup>+</sup> dugotrajni (LT)-HSC i CD34<sup>+</sup> kratkoročni (ST)-HSC (11). LT-HSC su rijetka, mirna populacija u koštanoj srži i imaju punu, dugoročnu sposobnost rekonstitucije (> 3-4 mjeseca), dok ST-HSC imaju samo kratkoročnu sposobnost rekonstitucije (uglavnom < 1 mjeseca) (11). LT-HSC se diferenciraju u ST-HSC, a zatim se ST-HSC diferenciraju u multipotentne preteče (MPP), koje nemaju detektabilnu sposobnost samoobnavljanja (11, 12). Razvojne grane nizvodno od MPP-ova dalje su definirane kao zajednički limfoidni progenitori (CLP) koji posjeduju samo limfoidno usmjerenu sposobnost diferencijacije, i zajednički mijeloidni progenitori (CMP) koji se mogu diferencirati u progenitore megakariocita/eritrocita (MEP) i progenitore granulocita/makrofaga (GMP) (13-15). Opisani klasični model hematopoetske hijerarhije prikazan je na Slici 1.



**Slika 1.** Klasični hijerarhijski odnos stanica hematopoeznog sustava. Preuzeto iz Zhang Y, Gao S, Xia J, Liu F. *Hematopoietic Hierarchy - An Updated Roadmap. Trends Cell Biol.* 2018;28(12):976-86.

S napretkom u jednostaničnoj tehnologiji i genetskim mišjim modelima, ovaj klasični model doveden je u pitanje tijekom posljednjih nekoliko godina. Studija iz 2017. godine predložila je model kontinuirane diferencijacije koja pokazuje da ne postoji očita granica u hijerarhiji (16). Pojedinačne hematopoetske matične stanice postupno stječu pristranosti loze u više smjerova bez prolaska kroz diskretne hijerarhijski organizirane populacije progenitora (17). U revidiranoj mapi, srednjoročne hematopoetske matične stanice (IT-HSC) nalaze se između LT- i ST-HSC i djeluju kao privremena populacija stanica (17). Osim toga, populacija MPP-a može se podijeliti na MPP1, MPP2, MPP3 i MPP4 (18, 19). Ove podpopulacije razlikuju se u imunofenotipu, zastupljenosti u koštanoj srži, statusu staničnog ciklusa i sposobnosti diferencijacije (19). U ovom modelu, HMS se prvo diferenciraju u MPP1/ST-HSC koji imaju sposobnost rekonstitucije više linija do 4 mjeseca u prvoj transplantaciji, a zatim daju MPP2, MPP3 i MPP4 (LMPP) koji su lišeni potencijala samoobnavljanja i pokazuju samo kratkotrajnu sposobnost rekonstitucije mijeloida (<1 mjesec) (11). MPP2 je podskup MPP-a vezan za megakariocite, MPP3 je podskup MPP-a vezan za mijeloidne, a MPP4 podskup vezan za limfoidne preteče (11, 19). Revidirani model diferencijacije hematopoetskih matičnih stanica prikazan je na Slici 2.



**Slika 2.** Usklađeni model za diferencijaciju hematopoetskih matičnih stanica. Preuzeto iz Cheng H, Zheng Z, Cheng T. *New paradigms on hematopoietic stem cell differentiation. Protein Cell.* 2020;11(1):34-44.

HMS-e nakon transplantacije prvo proizvode mijeloidne MPP-e (MPP1/2) za brzo uspostavljanje mijeloidnog izlaza, nakon čega slijedi subpopulacija MPP4 s limfoidima za ponovnu izgradnju limfoidnog odjeljka (17). Druga studija također je otkrila da se megakariociti pretežno i izravno diferenciraju iz HMS-ova, što ukazuje da diferencijacija megakariocita može zaobići faze MPP-ova, CMP-ova i MEP-ova (20). Ovim spoznajama osporava se teorija homogenosti HMS-a, a govori se o njihovoj heterogenosti i postojanju različitih stanica predodređene sudbine unutar populacije HMS-a. Funkcionalno se razlikuju u sposobnosti samoobnavljanja i diferencijaciji linija (11).

Bitno je naglasiti da je ovaj cijeli kompleksni proces hematopoeze pod kontrolom hematopoetskih faktora rasta, citokina i kemokina. SCF (od engl. *Stem cell factor*), FL (Flt3-ligand) i TPO (trombopoetin) te njihovi odgovarajući receptori (c-Kit, Flt3 i c-Mpl) imaju glavnu ulogu u rastu HMS-a kako in vitro tako i in vivo (2). Mnoštvo drugih faktora djeluje na razini pluripotentne matične stanice (*Wnt* signalni put, *Jagged* i *Notch* signalni put, BMP),

multipotentne matične stanice (IL-1, IL-3, IL-6, IL-11, te navedeni SCF, TPO, FL) i usmjerene matične stanice (G-CSF, M-CSF, IL-5, IL-6, IL-7, IL-1, eritropoetin, TPO) (1).

### **1.3. Transplantacija matičnih hematopoetskih stanica**

Transplantacija matičnih hematopoetskih stanica postupak je liječenja koji uključuje primjenu HMS-a u svrhu oporavka krvotvornog sustava primatelja (21). Riječ je o terapijskom pristupu koji je određen predtransplantacijskim razdobljem, transplantacijom i razdobljem nakon transplantacije.

S obzirom na izbor davatelja, razlikujemo tri vrste transplantacije (1):

1. Autologna transplantacija (davatelj i primatelj je bolesnik)
2. Singena transplantacija (davatelj i primatelj su jednojajčani blizanci)
3. Alogena transplantacija (davatelj i primatelj su različite osobe, a donor može i ne mora biti u srodstvu s primateljem)

Odabir odgovarajuće vrste transplantacije ovisi o dijagnozi bolesti, stanju bolesnika, prognostičkim rizicima i dostupnosti donora. Tri su potencijalna izvora HMS-a: koštana srž, periferna krv i krv iz pupkovine (1).

Koštana srž kao izvor HMS-a većinom se koristi u transplantacijama u dječjoj dobi (npr. u liječenju aplastične anemije) kako bi se reducirao rizik za razvoj GVHD (2). U općoj se anesteziji višekratnim punkcijama ilijačne kriste davatelja prikuplja koštana srž u količini od 10 do 20 ml/kg tjelesne mase (1). Uobičajene komplikacije uključuju bol i vrućicu, dok se ozbiljne jatrogene komplikacije javljaju u manje od 1% slučajeva (1, 22).

Prikupljanje matičnih stanica iz periferne krvi (PBSC, od engl. Peripheral blood stem cell) u današnje je vrijeme glavni izbor i za autolognu i za alogenu transplantaciju (21). Hematopoetske matične stanice se u perifernoj krvi prepoznaju prema CD34 markeru (1). Uspoređujući autolognu transplantaciju HMS-a iz periferne krvi s transplantatom prikupljenim iz koštane srži, transplantat koštane srži nosi veći rizik od prisutnosti tumorskih stanica (23). Također, korištenje matičnih stanica prikupljenih iz periferne krvi omogućuje brži i potpuniji oporavak hematološkog sustava (23). Alogena transplantacija stanica HMS-a prikupljenih iz periferne krvi ima manji rizik od odbacivanja transplantata, ali povećava rizik od razvoja



kronične reakcije primatelja protiv presatka (GVHD) budući da je u takvom transplantatu prisutna veća količina aktiviranih limfocita T (24).

Krv iz pupkovine se prikuplja za vrijeme porođaja i pohranjuje se u bankama krvi iz pupkovina, a može se primijeniti u autolognoj i alogenoj transplantaciji (1). Prednosti transplantacije krvi iz pupkovine uključuju kratko vrijeme prikupljanja i primjene, što olakšava liječenje hitnih stanja, rjeđi je prijenos infekcija te su niže stope GVHD-a uz istu stopu GVT-a (efekt presadka protiv tumora, od engl. *Graft-versus-tumor*) (22). Glavna ograničenja ove metode transplantacije su relativno mali broj krvotvornih matičnih stanica dostupnih u jedinicama krvi pupkovine u usporedbi s veličinom prosječnog odraslog primatelja i veći rizik od pojave oportunističkih infekcija u usporedbi s potrebom prosječnog odraslog primatelja (2). Stoga je za većinu ovih transplantacija potrebno više različitih podudarnih donora HMS-a iz pupkovine.

Ovisno o fazi bolesti u kojoj se provodi transplantacija, možemo razlikovati dva pristupa: rani, planirani transplantat koji se provodi u ranoj fazi bolesti nakon induksijskog liječenja te odgođeni transplantat koji se provodi nakon prvog relapsa bolesti (2).

Liječenje transplantacijom dijelimo na predtransplantacijsko razdoblje, transplantaciju i posttransplantacijsko razdoblje (1).

## 1.4. Povijest transplantacije

Koncept korištenja koštane srži kao oblika terapije datira još iz srednjeg vijeka, ali čak i pokušaji početkom i sredinom dvadesetog stoljeća postigli su samo mali uspjeh (25). Masivni interes za transplantacijom HMS-a potakla su opažanja izrazitih mijelosupresivnih i drugih toksičnih učinaka zračenja kod preživjelih u napadima nuklearne bombe na Hirošimu i Nagasaki (25). Početno terapijsko načelo bilo je povećanje doza zračenja kako bi se uništile tumorske stanice, ali to je istovremeno uzrokovalo nepovratnu toksičnost koštane srži (26). Spas za koštanu srž bila je infuzija hematopoetskih matičnih stanica zdravih donatora (25). Međutim, analize predkliničkih i kliničkih podataka otkrile su još jedan snažan terapijski učinak ovog pristupa, a to je efekt presađka protiv tumora (GVT), u kojem limfociti u donorskom transplantatu prepoznaju tumorske stanice domaćina kao strane i uništavaju ih (27). S druge strane, znanstvenici su se brzo suočili s pojavom do tada nepoznatog sindroma kojeg je karakterizirao brzi gubitak težine, proljev te kožne promjene kod životinja (26). U miševa je nazvan sekundarnom bolešću ili bolešću kržljanja (26). Brzo se shvatilo da je ova pojava posredovana stanicama imunskog sustava te je kasnije nazvana reakcijom transplantata protiv primatelja (26). Iako su pokušaji alogene transplantacije koštane srži 1950-ih i 1960-ih bili puni poteškoća, napredak u razumijevanju glavnog kompleksa histokompatibilnosti (MHC) i humanih leukocitnih antigena (HLA) kao ključnih faktora u odbacivanju presađka, otvorio je put za daljnja eksperimentalna istraživanja i kliničku primjenu alogene transplantacije HMS-a (27).

Za prvu alogenu transplantaciju HMS-a u ljudi je zaslužan dr. E. Donnall Thomas o čemu je izvijestio časopis *New England Journal of Medicine* 12. rujna 1957 (28). U članku je opisao liječenje šest pacijenata s leukemijom, koji su nažalost, svi preminuli. Prva uspješna transplantacija provedena je 1963. godine u Klinici Mayo, a radilo se o singenoj transplantaciji (26). Pet godina kasnije provelo se uspješno liječenje transplantacijom koštane srži od srodnog podudarnog darivatelja (27). Još jedan napredak dogodio se s prvom transplantacijom od HLA-podudarnog nesrodnog donora 1979. godine (29). Transplantacija hematopoetskih matičnih stanica od nesrodnog donora značajno je povećala izgleda za provođenje liječenja transplantacijom. Primjerice, za pacijente bijele rase, ti izgledi su porasli s 25% na 75% (30). Kako bi se proširio broj mogućih donora, uspostavljeni su nacionalni registri s više od 30 milijuna tipiziranih dobrovoljaca (26). 1974. godine osnovana je Europska grupa za

transplantaciju krvotvornih matičnih stanica (EBMT), a 14 godina kasnije osnovana je i slična grupa na svjetskoj razini (Bone Marrow Donors Worldwide - BMDW) (26, 31).

Dr. Thomas inzistirao je na uvođenju transplantacije u ranoj fazi liječenja leukemija, u prvoj kliničkoj remisiji, što je rezultiralo boljim rezultatima (32). To je bila prekretnica za transplantaciju u kliničkoj medicini. E. Donnall Thomas dobio je Nobelovu nagradu za svoja otkrića u transplantaciji stanica u liječenju ljudskih bolesti 1990. godine (3). Daljnji napredak zabilježen je 1980-ih i 1990-ih uvođenjem poboljšanih režima kondicioniranja, snažnih imunosupresivnih lijekova i novih antimikrobnih sredstava (33).

Rani dani autologne transplantacije na sličan su način obilježeni naizmjeničnim uspjesima i neuspjesima. 1970-ih godina obnovio se interes za autolognom transplantacijom, no u to vrijeme metode za pohranu transplantacijskih proizvoda nisu bile dobro razvijene, što je ograničavalo autologne transplantacijske režime na one s vrlo kratkim poluzivotom toksičnosti koštane srži (poput TBI, ciklofosfamida, melfalana, BCNU i dušičnog iperita) (27). Razvoj krioprotektora kao što je dimetil sulfoksid (DMSO) u kombinaciji s kontroliranim postupcima zamrzavanja omogućio je dugotrajnu krioprezervaciju i skladištenje autologne koštane srži (34, 35). Dostupnost krioprezervirane koštane srži omogućila je liječnicima korištenje lijekova s duljim poluzivotom i intenzivnih tretmana, što je dovelo do velikog interesa za autolognu transplantaciju koštane srži tijekom 1980-ih godina (27).

Sljedeći veliki napredak u tehnologiji transplantacije temeljio se na spoznaji da prekursorne stanice hematopoeze cirkuliraju u perifernoj krvi (35). Godine 1984., Kessinger i suradnici izveli su prvu uspješnu autolognu transplantaciju iz periferne krvi (36). U kasnijem izvješću, opisali su da je adekvatnost proizvoda određivana prebrojavanjem perifernih monocitnih stanica i ispitivanjem jedinica koje stvaraju kolonije (CFU) (37). Kasnije su postignuti i daljnji napretci. Faktori rasta hematopoeze, poput čimbenika stimulacije granulocita (G-CSF) i čimbenika stimulacije granulocitno-makrofagnih kolonija (GM-CSF), omogućili su mobilizaciju preteča i matičnih stanica (38). Također, standardiziralo se i brojanje matičnih i prekursornih stanica uz pomoć monoklonskog protutijela anti-CD34 (39). Ova saznanja olakšala su samu tehničku izvedbu transplantacijskog postupka te povećala broj donora diljem svijeta za alogenu transplantaciju. Danas se autologne transplantacije znatno više izvode od alogenih transplantacija i postale su standardna terapija za mnoge hematološke bolesti (27).

### 1.4.1. Hrvatska

Znanstveni rad o transplantaciji matičnih hematopoetskih stanica kod miševa, posebno GVL/GVH reakcije zagrebačkog eksperimentalnog tima za transplantaciju koštane srži na Institutu Ruđer Bošković, unaprijedio je znanja hrvatskih liječnika o transplantaciji i dao vjetar u leđa za pokretanje transplantacijskog programa u Zagrebu (40). Također, istraživanja Silobrčića, Vitalea i suradnika doprinijela su novim saznanjima o vremenskim fazama reaktivnosti GVH-a (od engl. *Graft-versus-host response*), kao i Boranićev rad o prolaznoj reakciji transplantata protiv domaćina (41-45). Hrvatski liječnici pod vodstvom internista-hematologa dr. Labara odlučili su započeti liječenje transplantacijom koštane srži u Zagrebu. Nakon stručnog usavršavanja u Parizu, osnivanja odjela za transplantaciju u prizemlju zgrade KBC Rebro, te formiranja transplantacijskog tima, odobreno je otvaranje Centra za transplantaciju koštane moždine u listopadu 1982. godine (26). Prva transplantacija učinjena je 8. veljače 1983. dvadesetdvogodišnjem bolesniku s aplastičnom anemijom, a donor je bio brat (26). U to vrijeme zagrebački Centar bio je jedini u Jugoslaviji koji je započeo ovu modernu vrstu liječenja (26). S vremenom se povećao broj pacijenata i proširile su se indikacije te se krenulo se i s liječenjem leukemija. U kasnim osamdesetim i ranim devedesetim otvorila se mogućnost prikupljanja krvi iz pupkovine (26). Provelo se uspješno liječenje kronične mijeloične leukemije, prvo u svijetu transplantacijom umbilikalne krvi u 28 mjeseci stare djevojčice, a donor je bila njena tek rođena sestra (46).

Od 1988. godine u zagrebačkom Centru provodi se i autologna transplantacija matičnih hematopoetskih stanica (26). Na čelu tima bio je dr. Damir Nemet, a prvi pacijent bolovao je od akutne mijeloične leukemije (AML) (26). Postupak i rezultati liječenja ovog pacijenta, kao i još tri pacijenta s različitim dijagnozama, objavljeni su u Liječničkom vjesniku 1989. godine (47). Sukladno saznanjima o mobilizaciji matičnih stanica iz periferne krvi, u studenom 1993. u Zagrebu se provela prva takva autologna transplantacija (40). Od tada ova se vrsta transplantacije primjenjuje u liječenju različitih bolesti uz napredak procesa mobilizacije i krioprezervacije stanica, te samog postupka kondicioniranja.

Važno je naglasiti postojanje Hrvatskog registra dobrovoljnih darivatelja krvotvornih matičnih stanica od 1996. i Zaklade „Ana Rukavina“ osnovane 2006. sa svrhom povećanja broja darivatelja krvotvornih matičnih stanica (26). Kasnije je osnovana i javna Banka krvi iz pupkovine iz sredstava Zaklade s ciljem pružanja veće šanse za ozdravljenje što većem broju

osoba koje se suočavaju s hematološkim bolestima (26). Trenutno zaklada broji 62 421 potencijalna darivatelja (48).

Ove godine obilježava se 40. obljetnica prve transplantacije HMS-a u Zagrebu, u čiju čast je objavljena knjiga pod nazivom "Stanice života" koju su napisali profesori Labar i Nemet (26). U ovoj knjizi detaljno su prikazani koraci i napredak u području transplantacije HMS-a postignuti u Zagrebu, a ista je poslužila kao izvor informacija za potrebe pisanja ovog rada.

Od veljače 2021. godine liječenje autolognom transplantacijom HMS-a provodi se i u Zavodu za hematologiju KBC-a Split. Usprkos brojnim reorganizacijama rada za vrijeme COVID-19 pandemije, liječenje je uspješno nastavljeno bez odgoda te je do danas provedeno ukupno 28 transplantacija. KBC Split time je postao jedina medicinska ustanova izvan Zagreba u Hrvatskoj koja pruža ovu specijaliziranu vrstu liječenja. To je značajan napredak u osiguravanju pristupa zdravstvenoj skrbi za velik broj bolesnika s hematološkim bolestima koji gravitiraju splitskoj bolnici. Velike zasluge za osnivanje Tima za transplantaciju matičnih stanica pripadaju dr. Dominiku Loziću, koji je i voditelj transplantacijskog tima KBC Split.

## 1.5. Indikacije za liječenje transplantacijom hematopoetskih matičnih stanica

Prvi korak u predtransplantacijskom razdoblju je postaviti indikaciju za liječenje određenom vrstom transplantacije (1).

Europska udruga za transplantaciju krvotvornih matičnih stanica (EBMT) više od dva desetljeća ažurira preporuke o indikacijama za liječenje transplantacijom na temelju kliničkih i znanstvenih dostignuća u tom području (49).

Indikacije za liječenje transplantacijom matičnih hematopoetskih stanica prema najnovijim smjernicama iz 2022. godine prikazane su u Tablici 1 i 2 (49).

**Tablica 1.** Indikacije za liječenje alogeničnom transplantacijom na temelju EBMT preporuka.

<b>ALOGENA TRANSPLANTACIJA</b>	
<b>MALIGNNE BOLESTI KRVOTVORNOG SUSTAVA</b>	<b>OSTALE BOLESTI KRVOTVORNOG SUSTAVA</b>
Akutna mijeloična leukemija (AML)	Teška aplastična anemija
Akutna limfoblastična leukemija (ALL)	Hemolitička paroksizmalna noćna hemoglobinurija
Kronična mijeloična leukemija (KML)	Fanconijeva anemija
Kronična mijelomonocitna leukemija	Beta-talasemija major
Kronična limfocitna leukemija (KLL)	Diamond-Blackfanov sindrom
Richterova transformacija	Dyskeratosis congenita
Sindrom mijelodisplazije	
Periferni T stanični non-Hodgkinov limfom	
Hodgkinov limfom (HL)	<b>OSTALE BOLESTI</b>
Multipli mijelom (MM)	Primarne imunodeficijencije
Idiopatska mijelofibroza	Mukopolisaharidoze
	SCID
	Wiskott-Aldrichov sindrom
	Vaskulitisi (ANCA+, Takayasu, Behcetova bolest)

**Tablica 2.** Indikacije za liječenje autolognom transplantacijom na temelju EBMT preporuka.

<b>AUTOLOGNA TRANSPLANTACIJA</b>	
<b>MALIGNNE BOLESTI KRVOTVORNOG SUSTAVA</b>	<b>OSTALE BOLESTI</b>
Multipli mijelom (MM)	Multipla skleroza
Folikularni limfom (FL)	Tumor zametnih stanica
Difuzni B-velikostanični limfom (DLCL)	Ovarijski karcinom
Hodgkinov limfom (HL)	Karcinom pluća malih stanica
Limfom plaštene zone (MCL)	Sistemska skleroza
Akutna mijeloična leukemija (AML)	Monogenske autoimune bolesti
Sistemska amiloidoza	Neuroblastom

Indikacija za liječenje transplantacijom matičnih hematopoetskih stanica postavlja se na stručnom timu, a osim same dijagnoze, u obzir se uzimaju i brojni drugi parametri (dob, stadij bolesti, prognostički indeksi, komorbiditeti, dostupnost donora itd.). Kao što je prikazano u tablicama, autologna transplantacija uglavnom se preporučuje pacijentima s kemosenzitivnim tumorima kao što su multipli mijelom (prva linija liječenja) i limfomi (uglavnom u relapsu) (2). Uništavanje tumora rezultat je citotoksične terapije u kondicionirajućem režimu, koja bi bez autologne transplantacije bila smrtonosna za bolesnika ili bi oporavak bio neprihvatljivo dug (50). S druge strane, alogena transplantacija uglavnom se provodi u bolesnika koji boluju od akutnih leukemija odmah nakon postizanja prve remisije bolesti, aplastične anemije u dječjoj i odrasloj dobi ali i u brojnim drugim indikacijama kada standardni terapijski pristup nije bio učinkovit (relapsno – refraktorna bolest) (2). Izbor autologne ili alogene transplantacije za određenu bolest temelji se na modalitetu koji je pokazao bolju učinkovitost u kliničkim studijama (51).

Važno je zajedno sa smjernicama razmotriti vjerojatnost uspješnog ishoda transplantacije procjenom bolesnikovih komorbiditeta (HCT-CI) i rizika smrti povezanog s transplantacijskim liječenjem (EBMT rizik skor) (52, 53). Osim potencijalnih koristi za preživljavanje, procjena mora uključivati kvalitetu života i kasne posljedice (49). Svi navedeni parametri imaju bitnu ulogu o donošenju odluke o liječenju transplantacijom kao terapijskim pristupom te u odabiru odgovarajuće vrste transplantacije što ponekad može biti kompleksno.

Nakon postavljene indikacije za liječenjem transplantacijom potrebna je detaljna predtransplantacijska obrada koja uključuje: detaljnu anamnezu s naglaskom na transfuzijsko liječenje, alergije na lijekove i ranije infekcije; detaljan fizikalni pregled uz pregled zubala; procjenu psihofizičkog statusa bodovnim skalama (Karnofsky i ECOG); laboratorijske testove; serološki status (CMV, EBV, VZV, HSV, HIV, HBV); UZV srca i EKG te ostala ciljana obrada po potrebi (1, 49).

## **1.6. Autologna transplantacija hematopoetskih matičnih stanica**

Kao što smo prethodno naveli riječ je o postupku kojim se bolesniku u obliku transfuzije vraćaju njegove vlastite matične stanice koje su prethodno prikupljene iz periferne krvi. Postupak je uglavnom rezerviran za bolesnike mlađe od 70 godina (ili ponekad i 75 godina) zbog intenzivne visoko-dozne kemoterapije i općenito se izbjegava u bolesnika lošeg općeg kliničkog statusa (ECOG > 2) te bolesnika s ozbiljnim komorbiditetima (54, 55).

Sam postupak transplantacije može se podijeliti u dvije faze. Prva faza je mobilizacija i prikupljanje matičnih stanica iz periferne krvi, dok drugu fazu čini infuzija istih stanica pacijentu.

U slučaju multiplog mijeloma provodi se transplantacija nakon provođenja indukcijske terapije budući da je takvim pristupom dokazano dulje preživljenje bez progresije (PFS) u odnosu na bolesnike koji se ne transplantiraju (56). Prema smjernicama Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti (KROHEM), autologna transplantacija provodi se u bolesnika s multiplim mijelomom nakon primjene četiri do šest ciklusa indukcijskog liječenja, a kao prvi izbor indukcije preporučan je VRD protokol (bortezomib, lenalidomid, deksametazon) (57).

S druge strane, u liječenju limfoma autologna transplantacija uglavnom se provodi u kasnijim fazama liječenja, odnosno u relapsu bolesti (uz iznimku limfoma plaštene zone i većine agresivnih limfoma T imunofenotipa u kojih se transplantacija povodi odmah nakon indukcijskog liječenja) (2).



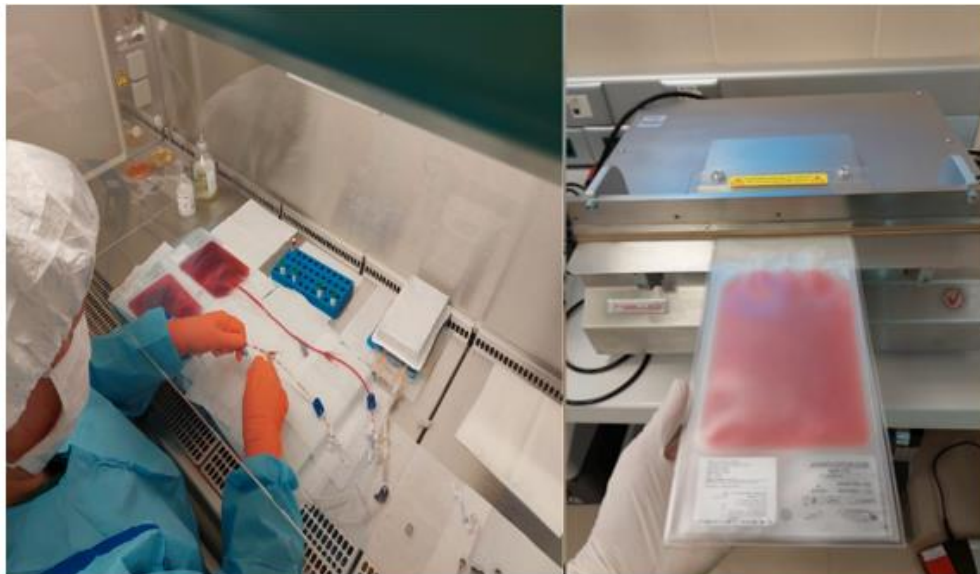
### 1.6.1. Mobilizacija i prikupljanje hematopoetskih matičnih stanica

Minimalno prihvatljiv broj HMS-a za transplantaciju je  $2 \times 10^6$  CD34+ stanica/kg tjelesne mase, a optimalni je cilj prikupiti oko 4 do  $5 \times 10^6$  CD34+ stanica/kg tjelesne mase (58). Veći broj CD34+ stanica u transplantatu korelira s bržim oporavkom hematopoeze i nižom incidencijom infekcija i krvarenja (59, 60). Budući da u stanju homeostaze u perifernoj krvi cirkulira vrlo mali broj HMS-a potrebno je potaknuti oslobađanje HMS-a iz koštane srži u perifernu krv, a taj se proces naziva mobilizacija (61). U tu svrhu najčešće se koristi filgrastim, čimbenik stimulacije granulocitnih kolonija (G-CSF), supkutano tijekom 5 dana u dozi od 10 µg/kg/dan (55). Većina protokola preporučuje početak primjene G-CSF-a unutar 1-5 dana nakon završetka kemoterapije. Uz G-CSF u mobilizacijskom protokolu može se primijeniti kemomobilizacija ciklofosfamidom i/ili plerixafor (58). Mobilizacijski ciklus ciklofosfamida uz filgrastim je standard prikupljanja hematopoetskih matičnih stanica iz periferne krvi bolesnika s multiplim mijelomom (61). Nakon kemoterapije preporučuje se svakodnevna kontrola laboratorijskih nalaza te primjena transfuzijskih pripravaka po potrebi. Plerixafor je reverzibilni antagonist CXCR4, a prekid interakcije SDF-1-CXCR4 predvidljivo posreduje u oslobađanju HMS-a u perifernu krv (62). U kombinaciji s G-CSF-om povećava mobilizaciju CD34+ stanica u perifernom optoku s vršnim učinkom nakon 4-9 sati, ali uz puno dulje održavanje učinka, što omogućuje kasniji početak afereze (62, 63). S obzirom na visoku cijenu plerixafora, provele su se studije o njegovoj pravovremenoj primjeni u mobilizaciji i predložena je strategija primjene koja se temelji na broju CD34+ stanica u perifernoj krvi prije afereze ili prinosu CD34+ stanica nakon prvog prikupljanja (61, 64).

Proces prikupljanja matičnih stanica iz periferne krvi (leukafereza) najčešće se vrši 4. dana primjene G-CSF-a s istovremenim praćenjem broja CD34+ stanica (60). Ukoliko nije postignuta zadovoljavajuća mobilizacija (broj CD34+  $< 2 \times 10^6$  L) indicirana je primjena plerixafora te se onda leukafereza izvodi sljedećeg dana (60, 65). Leukafereza se vrši pomoću aparata staničnog separatora izdvajanjem mononuklearnih stanica (61). Centrifugiranjem se odvajaju bijele krvne stanice, među kojima se nalaze matične stanice. U autolognoj transplantaciji koristi se dvoluminalni centralni venski kateter, dok se u zdravih darivatelja venski pristup ostvaruje putem periferne vene (1). Trajanje jedne leukafereze ne bi trebalo trajati dulje od 5 sati, do ukupno 4 leukafereze budući da su dodatne sesije uglavnom beskorisne i mogu opteretiti pacijenta (61). Afereza se može izvesti kao standardni postupak manjeg volumena, s tipičnim volumenom obrade od 10-15 L (2 do 3 puta volumena krvi pacijenta) ili

kao leukaferenza većeg volumena (LVL, od engl. *Large volume leukapheresis*) koja uključuje obradu do 30 L krvi (66). LVL je poželjna zbog prikupljanja većeg broj CD34+ stanica i preporučena je pacijentima s visokim rizikom od neuspjeha mobilizacije (61, 66). Zbog veće učestalosti trombocitopenije, koagulopatije i tetanije svi pacijenti ipak nisu kandidati za LVL (67). Tijekom leukaferenze upotrebljava se otopina citrata ACD-A za sprječavanje zgrušavanja krvi, a za LVL primjenjuje se i heparin (1).

Nakon što su se CD34+ stanice prikupile potrebno ih je obraditi standardnim ili specijaliziranim postupcima. Slijedi postupak zamrzavanja brzinom hlađenja od 1 do 2 °C/min, uz prethodno dodavanje krioprotektivne otopine DMSO, a potom pohrana u tekućem dušiku na temperaturi od -196 °C (krioprezervacija) (61). Na Slici 3 prikazan je postupak obrade i pakiranja transplantata. Poštivanjem propisanih pravila zamrzavanja, transplantati zaštićeni dodatnim vrećicama sigurni su od kontaminacije te desetljećima mogu očuvati proliferativnu funkciju (1). S obzirom da ishod transplantacije ovisi o kvaliteti HMS-a, važno je za svaki pripravak procijeniti zadovoljava li kriterije kvalitete, kao što su vijabilnost stanica, klonogena sposobnost te mikrobiološko testiranje (1). Ovaj dio posla obavljaju liječnici i medicinske sestre Zavoda za transfuziju, mikrobiologiju i medicinsku biokemiju, što govori da je za uspješno obavljanje transplantacije potreban timski rad stručnjaka iz različitih kliničkih disciplina.



**Slika 3.** Obrada i pakiranje transplantata hematopoetskih matičnih stanica iz periferne krvi. Preuzeto sa Zavoda za transfuzijsku medicinu KBC-a Split.

### **1.6.2. Kondicioniranje i reinfuzija hematopoetskih matičnih stanica**

Kondicioniranje je intenzivna kemoterapija koja za cilj ima uništavanje svih preostalih zloćudnih stanica u organizmu i ablaciju koštane srži. Otprilike 3-4 tjedna nakon prikupljanja HMS-s bolesnik se prima u sterilnu jedinicu i započinje se s kondicioniranjem (68). Prema smjernicama KROHEM-a za liječenje MM kao kondicionirajući protokol primjenjuje se melfalan u dozi od 200 mg/m<sup>2</sup> (57). Najčešći kondicionirajući protokol prilikom autologne transplantacije bolesnika s limfomom je BeEAM protokol (bendamustin, etopozid, citarabin i melfalan) (70). Unatoč brojnim režimima kondicioniranja, malo je dostupnih randomiziranih studija te optimalni izbor često ovisi o preferencijama pojedinog transplantacijskog centra.

Reinfuzija HMS-a obično se provodi 24-48 sati nakon završetka kondicioniranja (69). Naglo odmrznuti pripravak HMS-a u vodenoj kupelji zagrijanoj na temperaturi od 38°C treba što prije infundirati pacijentu zbog toga što DMSO oštećuje stanice pri temperaturi višoj od 4°C (1).

### **1.6.3. Razdoblje nakon transplantacije**

Postransplantacijsko vrijeme period je nakon infundiranja matičnih stanica u kojem se postupno oporavlja hematopoeza. Neželjeni događaji u tom periodu jako su česti i ovise o više faktora (dob, kliničko stanje bolesnika, intenzitet mobilizirajućeg i kondicionirajućeg režima itd.) (22).

Ovo razdoblje možemo podijeliti na rano (obično 3 do 4 tjedna) i kasno razdoblje (1). Rano razdoblje obilježava izrazita mijelosupresija zbog prethodne primjene citotoksične terapije, a posljedično tomu povećan je rizik za infekciju i krvarenje (1). To je period obnove koštane srži i potrebno je najmanje 8 do 14 dana od dana transplantacije (70). U tom periodu nužan je svakodnevni klinički nadzor uz laboratorijske kontrole kako bi se pravovremeno terapijski interveniralo (prije svega u vidu liječenja infekcije i transfuzijske potpore). Pacijenti kontinuirano primaju G-CSF u cilju skraćivanja trajanja agranulocitoze (71). U usporedbi s placebom, dokazano je da G-CSF smanjuje trajanje neutropenije, duljinu boravka u bolnici i broj infekcija nakon autologne transplantacije krvotvornih stanica (autoTKS) (72). Broj trombocita manji od 10 x 10<sup>9</sup>/L povezan je s većom učestalosti krvarenja i većom smrtnosti

(73). Većina centara koristi konvencionalne pragove za ordiniranje transfuzije trombocita (uglavnom  $< 20 \times 10^9/L$ ). Što se tiče transfuzija eritrocita, indikacija se postavlja uglavnom kada je razina hemoglobina niža od 80 g/L, ali i pri višim vrijednostima ukoliko se pojave znakovi simptomatske anemije (74).

Svakodnevnim uzorkovanjem krvi prati se postupni oporavak hematopoeze te se bilježi dan kad je broj leukocita narastao preko  $1 \times 10^9/L$ , a ANC preko  $0.5 \times 10^9/L$ . Na isti se način bilježi i porast trombocita (veći od  $20 \times 10^9/L$  bez transfuzijske potpore). Kraće vrijeme oporavka hematopoeze korelira s boljim ukupnim preživljenjem nakon transplantacije (75, 76). Ukoliko unutar 28 dana ne dođe do oporavka hematopoeze, nerijetko se radi o po život opasnoj komplikaciji (tzv. *graft failure*) (77). Uglavnom se javlja nakon neuspjele alogenične transplantacije, a jako rijetko nakon autologne transplantacije (77).

Drugi rizični parametar u ovom razdoblju su infekcije. Procjenjuje se da oko 90% pacijenata razvije infekciju tijekom transplantacijskog liječenja, a najčešće se manifestiraju kao vrućica nepoznatog porijekla (70). Dugo razdoblje neutropenije, razvoj mukozitisa i oštećenje gastrointestinalne sluznice predstavljaju faktore rizika za infekciju (70). U ranoj fazi uglavnom prevladavaju infekcije uzrokovane gram+ i gram- bakterijama, respiratornim virusima, HSV-om i kandidom (2). Najčešće dokumentirane infekcije su bakterijska pneumonija, kolitis i septicemija povezana s centralnim venskim kateterom (22). Ukoliko faza aplazije traje kratko, ove infekcije obično se dobro kontroliraju i rijetko dovode do razvoja septičkog šoka (1).

Kasne infekcije (30 dana nakon transplantacije) uglavnom su rijetke nakon autologne transplantacije te se češće javljaju u bolesnika liječenih alogeničnom transplantacijom (1). Česte su virusne infekcije (CMV, VZV), infekcije uzrokovane s *Pneumocystis jiroveci* i gljivične infekcije (2).

Važno je naglasiti detaljnu predtransplantacijsku obradu i mikrobiološki nadzor tijekom boravka u sterilnoj jedinici (nadzorne kulture). Također, od iznimne su važnosti primjena antimikrobne, antivirusne i antimikotične profilakse (1, 2).

Kao antimikrobna profilaksa najčešće se koriste fluorokinoloni (ciprofloksacin ili levofloksacin) i primjenjuje se sve do oporavka neutropenije (22). Profilaksa protiv gljivičnih infekcija uglavnom se provodi flukonazolom, a aciklovir se ordinira u svrhu prevencije virusnih infekcija (2, 78). U nekih bolesnika potrebno je i provoditi profilaksu ganciklovirom u svrhu prevencije infekcije citomegalovirusom (22).

Od drugih mogućih težih komplikacija potrebno je izdvojiti sindrom opstrukcije jetrenih venskih sinusa, poznat još kao veno-okluzivna bolest jetre. Obično se prezentira bolovima u trbuhu i oticanjem, portalnom hipertenzijom, porastom transaminaza i žuticom (1). Također može doći do razvoja trombotske mikroangiopatije, vrlo teške komplikacije s visokim mortalitetom (79).

Relaps osnovne bolesti predstavlja glavnu komplikaciju autologne transplantacije. Relaps se dominantno javlja zbog zaostale bolesti, a ne zbog eventualne kontaminacije transplantata malignim stanicama (2). Kako bi se smanjio rizik relapsa, bolesnicima s multiplim mijelomom se po završetku transplantacije ordinira konsolidacijska terapija, a potom i terapija održavanja (57). Kao kasne komplikacije treba navesti i mogućnost pojave sekundarnih novotvorina poput mijelodisplastičnog sindroma (MDS), AML-a ili solidnih tumora (80).

### **1.7. Usporedba autologne i alogene transplantacije hematopoetskih matičnih stanica**

Alogenička transplantacija hematopoetskih matičnih stanica vrsta je transplantacije u kojoj se krvotvorne matične stanice primatelja zamjenjuju s krvotvornim matičnim stanicama donora (1). Izvor matičnih stanica može biti podudaran srodni ili nesrodni donor, haploidni donor ili iz pupčane vrpce (22). Ukoliko bolesnik nema podudarnog srodnog donora, potencijalni donor traži se u hrvatskom ili međunarodnom registru dobrovoljnih darivatelja HMS-a. Izuzetno je važno pronaći odgovarajućeg donora temeljem podudarnosti u HLA sustavu kako bi se postigao što veći uspjeh u prihvaćanju presatka, a mogućnost odbacivanja transplantata svela na najmanju moguću mjeru (2).

Najčešća neželjena posljedica alogenične transplantacije razvoj je bolesti presatka protiv primatelja (GVHD, od engl. *Graft versus host disease*) (2). Radi se o imunskoj reakciji transplantiranih stanica protiv primateljevih (25). Može se manifestirati kao akutni ili kronični oblik, a najčešće se manifestira promjenama na koži i gastrointestinalnom traktu, ali bolest se može razviti i u bilo kojem drugom organskom sustavu (2). Dijagnoza se određuje na temelju kliničke slike i histoloških promjena zahvaćenih organa (25). Riječ je o vrlo ozbiljnoj komplikaciji koja se javlja u oko polovine bolesnika liječenih alogeničnom transplantacijom (61). S obzirom da pri autolognoj transplantaciji nema tkivne nepodudarnosti, nema ni opasnosti od razvoja GVHD. Međutim, budući da iste stanice koje posreduju u imunološkoj

reakciji i razvoju GVHD imaju i sposobnost prepoznavanja i uništavanja preostalih malignih stanica (GVT), ovakav učinak ne postoji prilikom autologne transplantacije (1).

Bolesnici liječeni alogenom transplantacijom imaju znatno veću učestalost razvoja zatajenja presatka i infekcija u odnosu na bolesnike liječene autolognom transplantacijom (22).

Ozbiljna komplikacija je nastanak tzv. engl. *Graft failure* (GF) koja se definira kao nedostatak početnog primanja transplantiranih stanica (primarni GF) ili gubitak transplantiranih stanica nakon početnog primanja (sekundarni GF) (22). GF je češći ukoliko postoji HLA disparitet te prilikom haploidentičnih ili transplantacija iz pupkovine, dok je znatno rjeđi prilikom autoloških i transplantacija od podudarnih srodnih donora (22).

Incidencija gram+ i gram- infekcija u ranom postransplantacijskom razdoblju podjednaka je u oba tipa transplantacije (2). Rekurentne bakterijemije uzrokovane enkapsuliranim bakterijama, gljivične infekcije i reaktivacija CMV infekcije, javljaju se u pravilu samo u bolesnika liječenih alogeničnom transplantacijom, prije svega zbog primjene imunosupresivne terapije u cilju kontrole GVHD-a (2).

Važnost i priznavanje transplantacije matičnih hematopoetskih stanica kao terapijskog postupka jasno se očituje i u činjenici da je u periodu od 1957. do 2016. godine provedeno čak 1,298,897 transplantacija (57,1% autoloških transplantacija) (81).

## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA**

Cilj ovog istraživanja je analizirati stvarno iskustvo Kliničkog bolničkog centra u Splitu u liječenju hematoloških bolesnika autolognom transplantacijom matičnih hematopoetskih stanica.

Dva glavna cilja istraživanja su:

- Utvrditi učinkovitost autologne transplantacije hematopoetskih matičnih stanica u liječenju hematoloških malignih bolesti.
- Utvrditi sigurnosni profil autologne transplantacije hematopoetskih matičnih stanica u liječenju hematoloških malignih bolesti.

**Hipoteze:**

- Autologna transplantacija hematopoetskih matičnih stanica učinkovit je terapijski pristup u liječenju multiplog mijeloma.
- Autologna transplantacija hematopoetskih matičnih stanica učinkovit je terapijski pristup u liječenju limfoma.
- Sigurnosni profil autologne transplantacije hematopoetskih matičnih stanica je prihvatljiv.



### **3. ISPITANICI I POSTUPCI**

### 3.1. Organizacija istraživanja

Ovo retrospektivno istraživanje provedeno je u Zavodu za hematologiju Kliničkog bolničkog centra Split. Prikupljeni su podaci bolesnika liječenih autolognom transplantacijom hematopoetskim matičnim stanicama u razdoblju od veljače 2021. godine do lipnja 2023. godine. Parametri koji se odnose na uspješnost i sigurnost liječenja autolognom transplantacijom krvotvornih stanica (autoTKS) prikupljeni su iz Bolničkog informacijskog sustava (BIS) tijekom 2023. godine.

### 3.2. Ispitanici i metode

Ispitanici su 28 hematoloških bolesnika liječenih u Zavodu za hematologiju Kliničkog bolničkog centra Split.

Iz medicinske dokumentacije analizirani su demografski i klinički parametri bolesnika podvrgnutih liječenju autoTKS:

- spol
- dob u trenutku transplantacije
- dijagnoza i datum postavljanja dijagnoze
- stupanj proširenosti bolesti i prognostički indeks u vrijeme postavljanja dijagnoze (ISS klasifikacija za multipli mijelom; Ann Arbor klasifikacija za limfome)
- datum provedbe transplantacijskog liječenja
- stanje bolesti prije i nakon transplantacije koje se definira kao kompletna remisija (CR), parcijalna remisija (PR), vrlo dobra parcijalna remisija (VGPR), stabilna bolest (SD) i progresivna bolest (PB)
- prisutnost citogenetskih abnormalnosti
- linije liječenja prije transplantacije
- mobilizacijski protokoli
- broj i vrijeme prikupljanja CD34+ stanica
- konsolidacijska terapija, terapija održavanja
- terapija nakon progresije bolesti

- podaci za procjenu sigurnosnog profila autoTKS: oporavak broja leukocita, neutrofila i trombocita; komplikacije; antimikrobno liječenje; transfuzijska potpora

Glavni promatrani ishodi su ukupno preživljenje (od engl. *Overall survival*, OS) i vrijeme bez progresije bolesti (od engl. *Progression-free survival*, PFS). OS se definira kao interval od dana transplantacije do dana smrti ili do zadnje kontrole, a PFS kao interval od dana transplantacije do dana progresije, smrti ili do zadnje kontrole.

### **3.3. Statistički postupci**

Opći biografski podaci ispitanika opisani su deskriptivnom statistikom, dok se za analizu OS i PFS koristila Kaplan-Meierova metoda za procjenu. Krivulje preživljenja bez progresije bolesti između grupa uspoređene su log-rank testom. Numeričke varijable su sažete koristeći mjeru središnje tendencije, kao što je medijan, te raspon. Kategorijske varijable su prikazane kroz frekvencije i postotke. Statističkim značajnim smatrane su *P* vrijednosti manje od 0,05. Za analizu je korišten program MS Excel i Python 3.7.

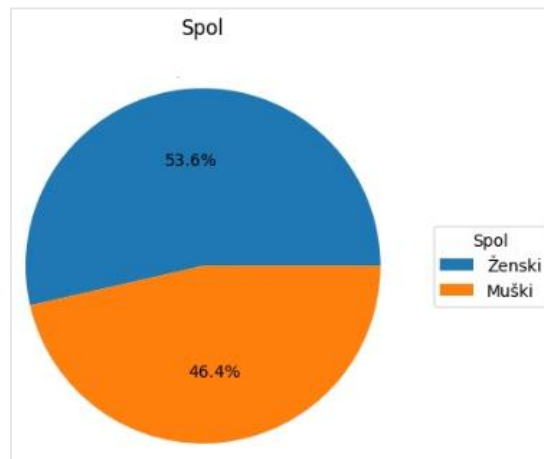
### **3.4. Etičnost istraživanja**

Provedbu istraživanja odobrilo je Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Split (klasa 500-03/23-01/58; Ur. broj: 2181-147/01/06/LJ.Z.-23-02). Zaštita osobnih podataka i prava ispitanika u skladu su s odredbama Zakona o zaštiti prava pacijenata (NN169/04, 37/08) i Zakona o provedbi Opće uredbe o zaštiti podataka (NN 42/18). Istraživanje je u potpunosti usklađeno s odredbama Kodeksa liječničke etike i deontologije (NN55/08, 139/15) kao i pravilima Helsinške deklaracije (1964.-2013.). S obzirom da se radi o retrospektivnoj studiji, informirani pristanak nije bio potreban.

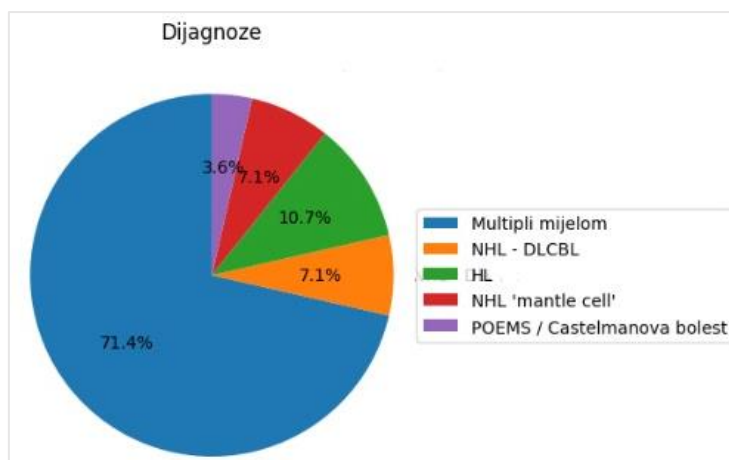
#### **4. REZULTATI**

#### 4.1. Obilježja bolesnika i bolesti

U istraživanje je uključeno 28 ispitanika, od kojih su 15 (53.6 %) osoba ženskog spola. Medijan dobi u trenutku autoTKS iznosio je 58,5 godina (raspon od 19 do 69 godina). Dijagnozu multiplog mijeloma imalo je 20 ispitanika (71,4%), među njima je jedan ispitanik imao plazmoblastičnu leukemiju. Ostalih 7 ispitanika (25%) imalo je dijagnozu limfoma, a jedan transplantirani ispitanik dijagnozu POEMS/Castelmanove bolesti. S obzirom da je najveći udio transplantiranih ispitanika imao dijagnozu multiplog mijeloma ili limfoma, usporedba je rađena između te dvije skupine. Raspodjele po spolu i dijagnozi su prikazane na Slikama 4 i 5.

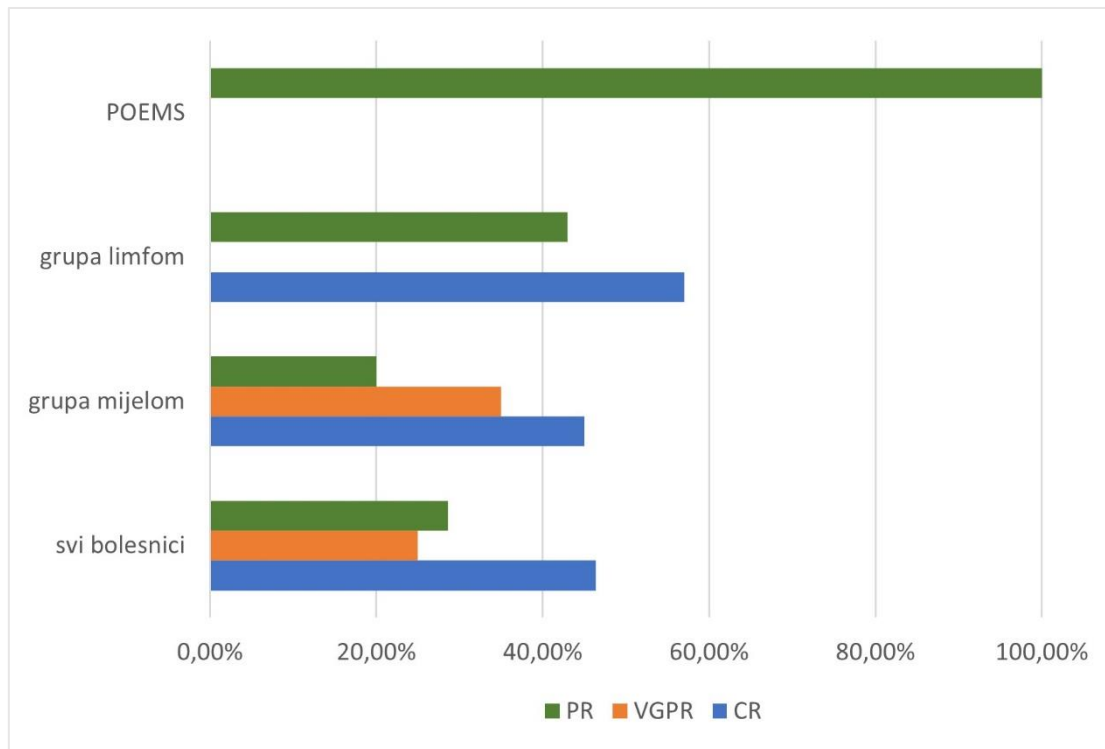


Slika 4. Raspodjela ispitanika po spolu.



Slika 5. Raspodjela ispitanika po dijagnozi.

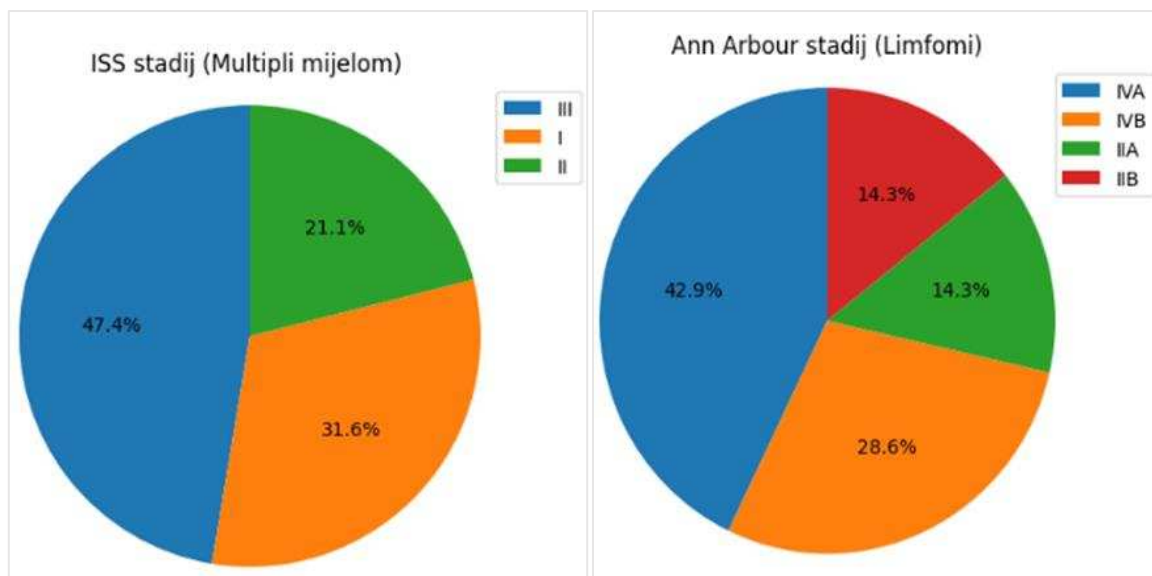
Od ukupnog broja ispitanika, njih 46,4% imalo je kompletnu remisiju bolesti (CR) prije provedbe autoTKS. U skupini ispitanika s mijelomom 45% ih je imalo CR, dok je u skupini s limfom taj udio iznosio 57,1%. Ispitanik s POEMS/Castelmaovom bolesti je prije transplantacije imao parcijalnu remisiju bolesti (PR). Slika 6 prikazuje udio zastupljenosti određenog statusa bolesti prije autoTKS u svih ispitanika.



**Slika 6.** Status bolesti prije autoTKS u svih ispitanika i u pojedinim grupama.

Citogenetske abnormalnosti utvrđene su u 8 (40%) ispitanika s multiplim mijelomom. Tri bolesnika su imala deleciju 17p, 2 bolesnika translokaciju t(11;14), 1 bolesnik translokaciju t(14;16) i 4 bolesnika amplifikaciju 1q. Dva bolesnika su imala po dvije citogenetske abnormalnosti.

Najveći udio ispitanika s mijelomom (47,4%) imao je prognostički indeks ISS III u trenutku autologne transplantacije. U skupini oboljelih od limfoma, 42,9% ispitanika imalo je stupanj IVA proširenosti bolesti prema Ann Arbor klasifikaciji. Na Slici 7 prikazana je raspodjela bolesnika po prognostičkom indeksu ISS (bolesnici s mijelomom) i stupnju proširenosti bolesti prema Ann Arbor (bolesnici s limfomom).

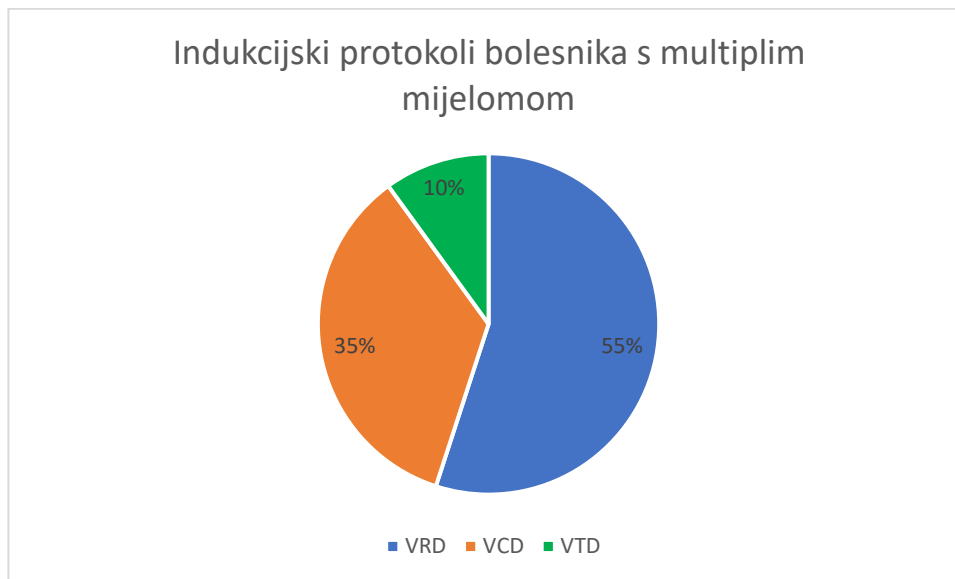


**Slika 7.** Raspodjela ispitanika po prognostičkom indeksu ISS (bolesnici s mijelomom) i stupnju proširenosti bolesti prema Ann Arbor (bolesnici s limfomom).

Medijan vremena od dijagnoze do autoTKS iznosio je 7,5 mjeseci (raspon od 5 do 175 mjeseci). U grupi s mijelomom medijan vremena od dijagnoze do autoTKS iznosi 6,5 mjeseci, dok u grupi s limfomom isti iznosi 12 mjeseci.

## 4.2. Protokoli indukcije i mobilizacijski protokol

U skupini bolesnika s multiplim mijelomom 11 (55%) bolesnika je primilo VRD induksijski protokol, dok ih je 7 (35%) primilo VCD protokol, a 2 (10%) VTD protokol. Većina ispitanika (70%) primila je 4 ili 5 ciklusa induksijskog protokola. Uz induksijski protokol 40% ispitanika liječeno je i radioterapijom (RT) zahvaćenog područja. Na Slici 8 prikazana je razdioba bolesnika s multiplim mijelomom prema induksijskom protokolu.



**Slika 8.** Razdioba bolesnika s multiplom mijelomom prema induksijskom protokolu.

U dva bolesnika s multiplim mijelomom nije postignut adekvatan odgovor na induksijsku terapiju te je u drugoj liniji primijenjen DRd protokol (4 ciklusa u jednog bolesnika, a 8 ciklusa u drugog) nakon čega je učinjena autologna transplantacija.

U skupini bolesnika s limfom 4 bolesnika (57,1%) je transplantirano u drugoj remisiji bolesti (nakon dvije linije liječenja), jedan bolesnik s Hodgkinovim limfomom nakon treće linije liječenja, a dva bolesnika s limfomom plaštene zone transplantirani su u prvoj remisiji bolesti. Linije liječenja, terapijski protokoli i broj ciklusa prije autoTKS u skupini bolesnika s limfomom prikazani su u Tablici 3.



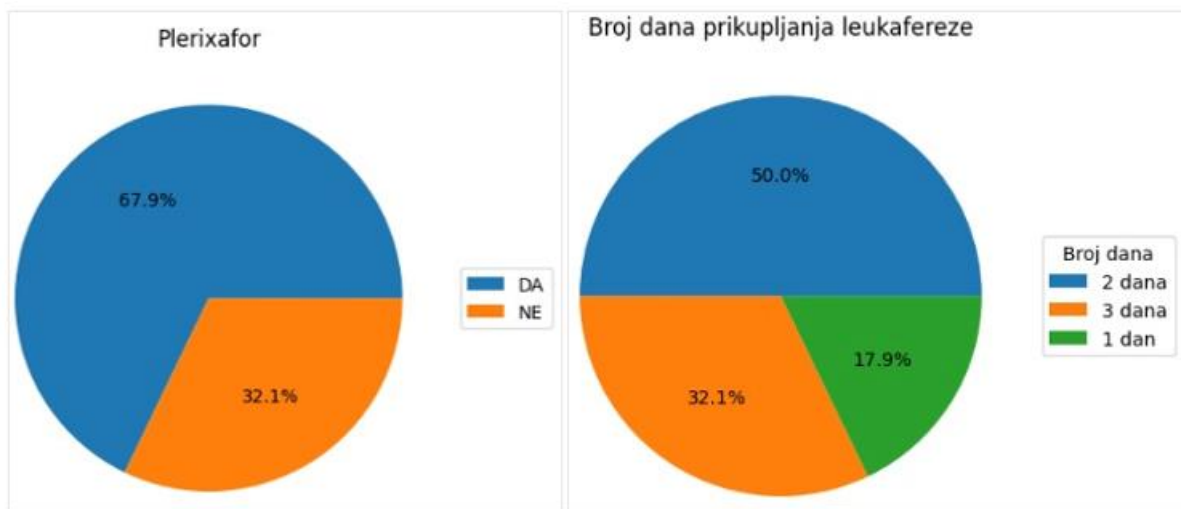
**Tablica 3.** Prikaz linija liječenja i broja ciklusa u oboljelih od limfoma prije liječenja autoTKS.

<b>Dijagnoza (N=7)</b>	<b>1. linija liječenja</b>	<b>2. linija liječenja</b>	<b>3. linija liječenja</b>
<b>NHL-DLBCL</b>	6 ciklusa R-DA-EPOCH	2 ciklusa DHAP	
<b>NHL-DLBCL</b>	6 ciklusa R-CHOP + RT	2 ciklusa ICE	
<b>HL</b>	6 ciklusa eBEACOPP	3 ciklus DHAP	
<b>HL</b>	6 ciklusa ABVD	6 ciklusa R- CHOP	2 ciklusa DHAP
<b>MCL</b>	5 ciklusa R-CHOP/ DHAP		
<b>HL</b>	6 ciklusa escBEACOPP + RT	3 ciklusa ICE + BV	
<b>MCL</b>	6 ciklusa R-CHOP/ DHAP + 2 ciklusa rituksimab		

Svi bolesnici s multiplim mijelomom primili su standardni mobilizacijski protokol ciklofosfamidom te kondicioniranje s melfalanom.

Mobilizacijski protokoli u skupini bolesnika s limfomom bili su DHAP u 5 bolesnika i ICE u 2 bolesnika.

Zbog nedovoljne mobilizacije filgrastimom plerixafor je ordiniran u ukupno 19 (67,9%) bolesnika liječenih autoTKS, a dva bolesnika primila su po dvije doze. Samo u 5 (17,9%) bolesnika prikupljen je dovoljan broj matičnih hematopoetskih stanica nakon jednog dana leukafereze, u 14 (50%) bolesnika leukafereza se provodila dva dana, a u 9 (32,1%) bolesnika se leukafereza provodila tri dana. Raspodjela ispitanika prema primjeni plerixafora i broju dana leukafereze prikazana je na Slici 9.



**Slika 9.** Raspodjela ispitanika prema primjeni plerixafora i broju dana leukafereze.

Medijan prikupljenih CD34+ stanica iznosio je  $5,42 \times 10^6/\text{kg}$  tjelesne mase (u rasponu od  $2,4$  do  $18,6 \times 10^6/\text{kg}$  tjelesne mase).

### 4.3. Terapija održavanja i ishodi

Konsolidacijsku terapiju primilo je 13 (65%) bolesnika oboljelih od mijeloma. Svi bolesnici s mijelomom nastavili su s terapijom održavanja, 13 (65%) lenalidomidom, dok je bortezomib primijenjen u 6 (30%) bolesnika. Jedan ispitanik, koji je transplantiran iz druge linije, nastavio je s protokolom DRd kao terapijom održavanja.

Prva evaluacija terapijskog odgovora nakon autoTKS rađena je nakon 2 mjeseca. Kompletnu remisiju (CR) postiglo je 17 (60,7%) ispitanika. U jednog bolesnika evaluacija terapijskog odgovora je u tijeku. U skupini bolesnika oboljelih od multiplog mijeloma njih 15 (75%) postiglo je CR nakon autoTKS, dok je u skupini oboljelih od limfoma stopa kompletnih remisija iznosila 28,6%. Tablica 4 prikazuje ishode liječenja autoTKS.

**Tablica 4.** Ishodi liječenja autoTKS u svih ispitanika i po grupama dijagnoza.

<b>Odgovor na autoTKS</b>	<b>Ukupno (N=28)</b>	<b>Skupina mijelom (N=20)</b>	<b>Skupina limfom (N=7)</b>	<b>POEMS (N=1)</b>
<b>CR</b>	17 (60,7%)	15 (75%)	2 (28,6%)	
<b>VGPR</b>	4 (14,2%)	4 (20%)		
<b>PR</b>	4 (14,2%)	1 (5%)	2 (28,6%)	1 (100%)
<b>SD</b>	1 (3,6%)		1 (14,3%)	
<b>PD</b>	1 (3,6%)		1 (14,3%)	
<b>Evaluacija u tijeku</b>	1 (3,6%)		1 (14,3%)	

Hi-kvadrat testom dokazana je statistički značajno viša stopa CR u bolesnika s multiplim mijelomom u odnosu na bolesnike s limfomom ( $P = 0,019$ ).

Važno je naglasiti da je u dva ispitanika naknadno postignuta CR. Jedan bolesnik s multiplim mijelomom u kojeg je u fazi praćenja nakon VGPR postignuta CR. Drugi bolesnik s Hodgkinovim limfomom je nakon transplantacije bio u PR, ali je nakon provedenog liječenja brentuksimabom postignuta CR. U troje bolesnika koji su pokazali terapijski odgovor prilikom evaluacije, kasnije je došlo do progresije bolesti.

Progresija bolesti nakon transplantacije zabilježena je u samo 4 (14,3%) bolesnika, a tri od njih su imali dijagnozu limfoma. U svih se i provela nova linija liječenja nakon progresije. Podaci o ispitanicima s progresijom bolesti prikazani su u Tablici 5.

**Tablica 5.** Podaci o četiri ispitanika koja su progredirala nakon autoTKS.

<b>Dijagnoza (N=4)</b>	<b>Spol (N=4)</b>	<b>Dob u trenutku autoTKS</b>	<b>Stadij bolesti</b>	<b>Status bolesti prije autoTKS</b>	<b>Odgovor na autoTKS</b>	<b>PFS (mj.)</b>	<b>Terapija nakon progresije</b>
<b>MM</b>	Ž	61	ISS III	VGPR	VGPR	12	10 x DRd + KRd
<b>NHL- DLBCL</b>	M	61	IVA	PR	PR	6	RT
<b>NHL- DLCL</b>	Ž	63	IVA	CR	SD	3	RT, PBR, CAR-T
<b>HL</b>	M	38	IIB	CR	PD	2	BV-B, planira se aloTKS

Dokazana je statistički značajna razlika u pojavi progresije bolesti nakon transplantacije u oboljelih od limfoma u odnosu na oboljele od mijeloma ( $P = 0,043$ ).

#### 4.4. Hematološki oporavak i sigurnosni profil

Medijan vremena hospitalizacije iznosio je 23 dana (raspon od 17 do 34 dana). Podjednak je u obje skupine bolesnika, u bolesnika s multiplim mijelomom iznosio je 22 dana (raspon od 17 do 31), a u bolesnika s limfomom 23 dana (raspon od 18 do 31).

Hematološki oporavak procijenjen je medijanom i rasponom vremena oporavka leukocita, granulocita i trombocita:

- Medijan oporavka broja leukocita ( $L > 1 \times 10^9/L$ ) iznosio je 12 dana (raspon od 10 do 18 dana).
- Medijan oporavka broja granulocita ( $ANC > 0,5 \times 10^9/L$ ) iznosio je 13 dana (raspon od 11 do 33 dana).
- Medijan oporavka broja trombocita  $> 20 \times 10^9/L$  iznosio je 21 dan (raspon od 9 do 48 dana).
- Medijan oporavka broja trombocita ( $> 50 \times 10^9/L$ ) iznosio je 26 dana (raspon od 17 do 48 dana).

Podaci o oporavku broja trombocita jednog politretiranog bolesnika oboljelog od limfoma nisu uzeti u obračun medijana zbog nedostatka oporavka megakariocitopoeze tijekom razdoblja od 2 mjeseca. Bolesniku je iz istog razloga ordiniran trombopoetinski agonist romiplostin.

Transfuzijsku potporu koncentrata trombocita primili su svi ispitanici, a 60% ih je primilo transfuzijsku potporu koncentrata eritrocita. Prosječan broj dana potrebe za primjenom koncentrata trombocita iznosio je 5,3 dana, a eritrocita 1,8 dana.

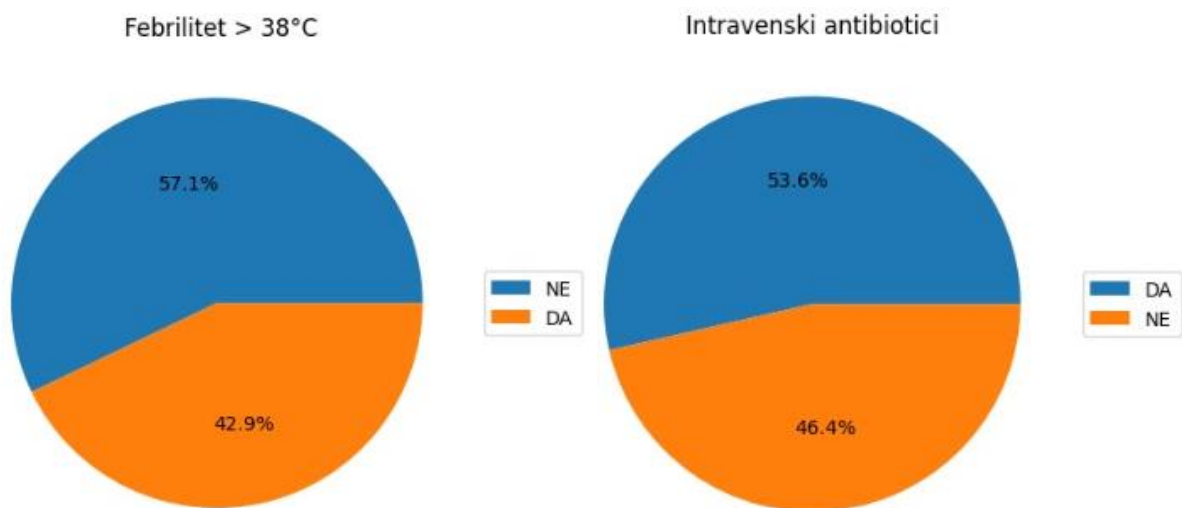
Prolongiranu citopeniju tj. ovisnost o transfuzijama u razdoblju dužem od mjesec dana imalo je 32,1% bolesnika liječenih autoTKS.

Nehematološke nuspojave nakon autoTKS zabilježene su u 16 (57,1%) ispitanika, 12 u skupini bolesnika s multiplim mijelomom, 3 u skupini bolesnika s limfomom te jedan bolesnik s POEMS/Castelmanovom bolesti. Najčešće nuspojave bile su proljev, cistitis i mukozitis zabilježene u 11 (39,3%) ispitanika te febrilna neutropenija u 6 bolesnika (21,4%). Od ostalih rjeđih komplikacija evidentiran je akutni pankreatitis (1 bolesnica s MM), fibrilacija atrijska (1 bolesnik s NHL), parotitis (1 bolesnik s HL), srčano popuštanje (2 bolesnice s MM), odinofagija (1 bolesnik s MM) te kratkotrajne krize svijesti (1 bolesnik s MM). Mikrobiološki dokazanu

infekciju imalo je ukupno 14 (50%) ispitanika, od toga 9 su ispitanici s multiplim mijelomom. Najčešći dokazani uzročnici infekcija bili su *Escherchia coli* (5 bolesnika), *Clostridium difficile* (3 bolesnika) i *Klebsiella pneumoniae* (2 bolesnika). U jednog ispitanika oboljelog od multiplog mijeloma s infekcijom nepoznatog podrijetla, utvrđeno je prisustvo MRSA u hemokulturi.

Jedna bolesnica razvila je „engraftment“ sindrom, a jedna nehemolitičku transfuzijsku reakciju (obje s dijagnozom multiplog mijeloma).

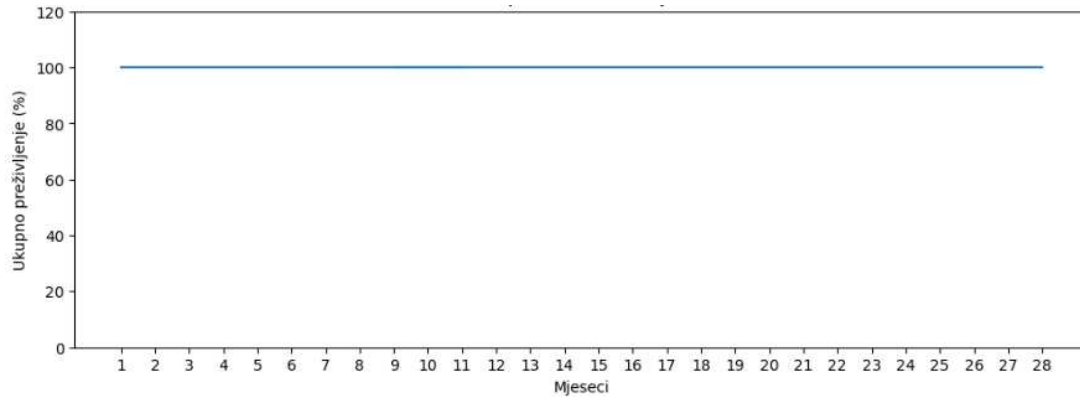
Febrilitet veći od 38°C stupnja razvilo je ukupno 12 (42,9%) ispitanika (7 bolesnika s multiplim mijelomom, 4 s limfomom i 1 s Castelmanovom bolesti), a uzročnik infekcije mikrobiološki nije dokazan samo u jednog bolesnika. Od ukupnog broja ispitanika 15 (53,6%) je primilo intravensku antibiotsku terapiju u posttransplantacijskom razdoblju. Intravensku antifungalnu terapiju primila je samo jedna bolesnica s multiplim mijelomom. Na Slici 13 prikazan je udio ispitanika s febrilitetom i primljenom intravenskom antibiotskom terapijom.



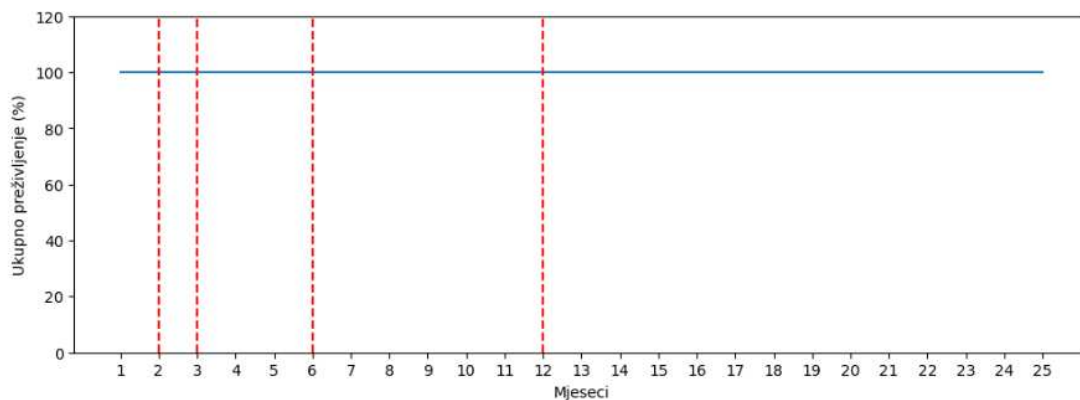
**Slika 13.** Raspodjela ispitanika s obzirom na febrilitet i primjenu intravenskih antibiotika.

## 4.5. Analize preživljenja

Medijan praćenja bolesnika iznosio je 12,5 mjeseci (raspon od 1 do 28 mjeseci). Nakon 28 mjeseci praćenja stopa ukupnog preživljenja (OS) iznosila je 100% (Slika 14.).

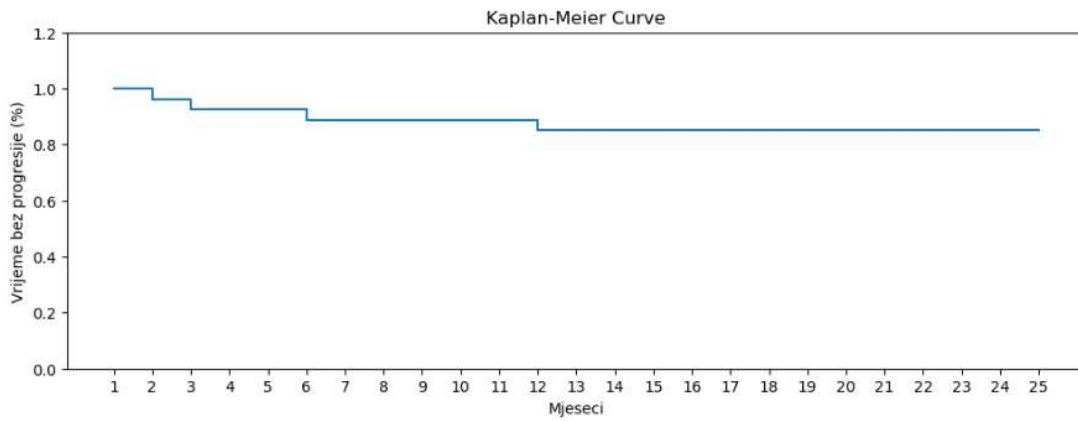


**Slika 14.** Stopa ukupnog preživljenja bolesnika (OS).



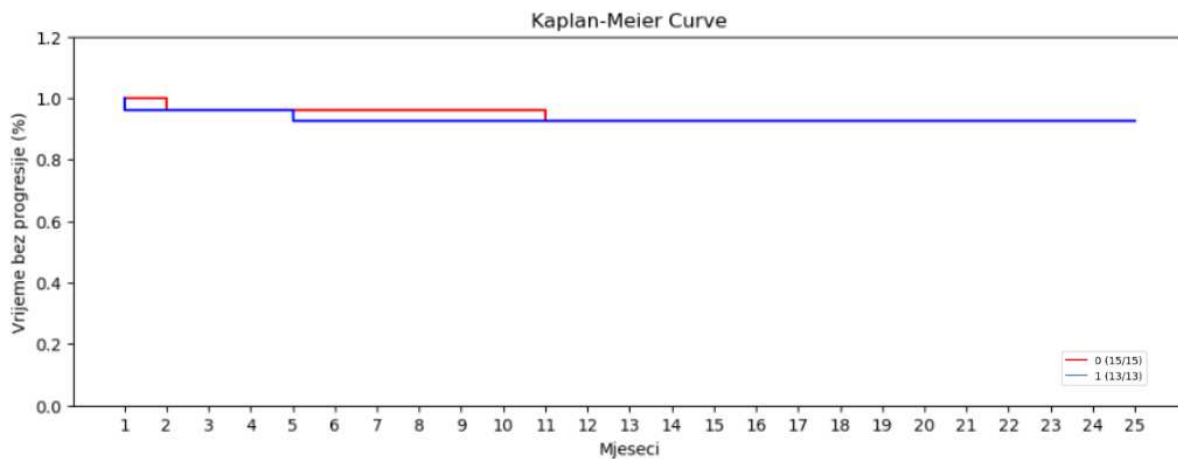
**Slika 15.** Ukupno preživljenje bolesnika (plava crta) i vrijeme zabilježene progresije za 4 bolesnika (isprekidana crvena crta).

Na slici 15. prikazano je ukupno preživljenje bolesnika (stopa OS iznosi 100%) i vrijeme zabilježene progresije za 4 (14,3%) bolesnika (isprekidana crvena crta). Progresija bolesti dogodila se nakon 2, 3, 6 i 12 mjeseci od autologne transplantacije matičnih hematopoetskih stanica.



**Slika 16.** Preživljenje bez progresije (PFS).

Slika 16. prikazuje Kaplan-Meier krivulju ukupnog preživljenja bez progresije (PFS). Medijan PFS nije dosegnut, a stopa PFS nakon 24 mjeseca iznosi 85,2%.



**Slika 17.** Ukupno preživljenje bez progresije (PFS) nakon razdiobe prema spolu (crvena crta – žene; plava crta – muškarci).

Na Slici 17 prikazano je preživljenje bez progresije za oba spola. Nije bilo statistički značajne razlike u stopi PFS između muškaraca i žena ( $P = 1.0$ ).



## **5. RASPRAVA**

Provedeno retrospektivno istraživanje imalo je za cilj prikazati početno iskustvo Zavoda za hematologiju Kliničkog bolničkog centra Split u liječenju hematoloških bolesnika autolognom transplantacijom matičnih hematopoetskih stanica (autoTKS). Ova studija obuhvatila je 28 ispitanika koji su podvrgnuti autolognoj transplantaciji u razdoblju od veljače 2021. do lipnja 2023. Odabir kandidata za liječenje transplantacijom na temelju dijagnoze bolesti i kliničkih osobitosti bolesnika, u našoj kohorti provedeni su u skladu sa smjericama (21, 82).

Najveći broj ispitanika (20) u ovoj studiji činili su oboljeli od multiplog mijeloma. Multipli mijelom smatra se neizlječivom hematološkom bolešću, no u posljednjem desetljeću bilježi se značajan napredak u kliničkim ishodima i kvaliteti života bolesnika zahvaljujući primjeni novih lijekova i autoTKS (83). Unatoč napretku medicine i stalnom preispitivanju uloge autologne transplantacije, ona i dalje ostaje standardni pristup u liječenju osoba koje su kandidati za transplantaciju (84). Nedavna metaanaliza Lina i suradnika iz 2023. dokazala je benefit visokodozne kemoterapije u kombinaciji s autoTKS u postizanju kompletne remisije (CR), duljem vremenu preživljenja bez progresije (PFS) i ukupnom preživljenju (OS) (85). U gotovo svih naših ispitanika s mijelomom (18/20) transplantacija je provedena nakon indukcijske terapije, a medijan vremena od dijagnoze do transplantacije iznosio je 6,5 mjeseci. Upravo je primjena rane autoTKS unutar 12 mjeseci od dijagnoze povezana s duljim vremenom bez progresije bolesti (PFS) (86). Nadalje, dokazan je negativan utjecaj prisutnosti citogenetskih abnormalnosti visokog rizika (del 17p, 1q i t(4;14)) kao i visokog prognostičkog indeksa ISS i R-ISS na PFS i OS (87, 88). U našem istraživanju, visokorizične citogenetske abnormalnosti zabilježene su u malom broju ispitanika s MM, a najveći udio ispitanika imao je prognostički indeks ISS stadij III te stoga nije bila moguća analiza podgrupa. Potrebno je dulje praćenje ispitanika i veći uzorak kako bi se analizirali ishodi između različitih skupina bolesnika stratificiranih prema citogenetskim promjenama i prognostičkim indeksima.

Nakon provedenog transplantacijskog liječenja u ovom istraživanju svi ispitanici s multiplim mijelomom nastavili su s terapijom održavanja lenalidomidom ili bortezomibom što je u skladu sa suvremenim smjericama liječenja bolesnika s multiplim mijelomom. U retrospektivnoj analizi GMMG studije nije bilo razlike u ukupnom preživljenju (OS) između održavanja lenalidomidom ili bortezomibom tijekom dvije godine, a superiornost lenalidomida dokazana je u stopama PFS (89).

U našoj kohorti 75% ispitanika s multiplim mijelomom postiglo je potpuni odgovor (CR) nakon transplantacije, što je usporedivo s kliničkim studijama koje su uključivale znatno veći broj ispitanika (90, 91). Potpuna remisija smatra se važnim prediktorom dugoročnog preživljenja kod pacijenata s multiplim mijelomom (83).

Nakon medijana praćenja od 12,5 mjeseci, ukupna stopa odgovora na liječenje autolognom transplantacijom iznosila 89,3%, a svi bolesnici su bili živi u promatranom periodu. Progresija bolesti zabilježena je u samo 4 bolesnika (14,3%). Očekivano, odgovor na transplantaciju bio je lošiji u bolesnika s limfomom budući da se radi o agresivnim bolestima refraktornim na prvu liniju liječenja. Suprotno tomu, ishodi u bolesnika s multiplim mijelomom u našoj kohorti su izvrsni, ali za detaljniju procjenu uspješnosti liječenja svakako je potrebno dulje vrijeme praćenja.

U ovom istraživanju proučavali smo i duljinu hematološkog oporavka leukocita, neutrofila i trombocita kako bi procijenili trajanje faze aplazije nakon transplantacije i rizik od infekcija. Naši rezultati pokazuju da je vrijeme oporavaka hematopoeze bilo slično ili čak kraće u usporedbi s drugim relevantnim studijama (92, 93).

Na temelju našeg iskustva, autoTKS siguran je terapijski postupak u hematološkoj kliničkoj praksi. Stopa periproceduralne smrti u našoj kohorti iznosila je 0%, dok je u studiji Attala i suradnika iz 2015. iznosila 1.4% (94). Usporediv je i sigurnosni profil autoTKS bolesnika iz naše kohorte s drugim studijama (93, 95, 96). Općenito, najčešće zabilježene nuspojave u velikim studijama su infektivne i gastrointestinalne komplikacije te mukozitis, što se preklapa s rezultatima naše studije. Nadalje, u našem istraživanju, kao i u studiji Amera i suradnika iz 2022., većinu ranih infekcija među pacijentima koji su podvrgnuti autoTKS činili su slučajevi bakterijskih infekcija uzrokovanih gram-pozitivnim i gram-negativnim bakterijama (95). *Escherichia coli* i *Clostridium difficile* bili su najčešći izolirani uzročnici. Također, primijetili smo sličnost u vrlo rijetkoj pojavi gljivičnih infekcija između navedene studije i naše. S druge strane, uočili smo da je broj ispitanika s febrilitetom bio znatno manji u našoj studiji te je kod gotovo svih bolesnika uspješno utvrđen mikrobiološki uzročnik, za razliku od studije Amera i suradnika (95). Od drugih neželjenih reakcija zabilježen je tzv. „*engraftment*“ sindrom i nehemolitička transfuzijska reakcija. Važno je naglasiti da mnogobrojni čimbenici utječu na razvoj komplikacija, kao što su režim kondicioniranja, status bolesti prije transplantacije i komorbiditeti bolesnika te ih treba uzeti u obzir prilikom uspoređivanja rezultata (97).

Unatoč izvrsnim rezultatima naše studije, važno je istaknuti njezina ograničenja. Prvenstveno, radi se o retrospektivnom dizajnu istraživanja. Također, uzorak ispitanika je malen, a period praćenja kratak. Zbog toga za sada nije moguće učiniti dugoročnu procjenu PFS i OS naših ispitanika. Bilo bi zanimljivo nastaviti praćenje ovih bolesnika te proširiti novim transplantiranim bolesnicima čime će se moći adekvatnije usporediti rezultati iz stvarne kliničke prakse između različitih transplantacijskih centara. Početni rezultati Transplantacijskog centra KBC Split svakako su izvrsni i predstavljaju veliki iskorak u liječenju hematoloških bolesnika izvan Zagreba.

## **6. ZAKLJUČCI**

1. Autologna transplantacija matičnih hematopoetskih stanica pokazala se učinkovitim modalitetom u liječenju bolesnika s multiplim mijelomom s visokim stopom odgovora na terapiju (CR + VGPR = 95%).
2. Sigurnosni profil autologne transplantacije matičnih hematopoetskih stanica je prihvatljiv.
3. Autologna transplantacija matičnih hematopoetskih stanica pokazala se učinkovitijom u liječenju bolesnika s multiplim mijelomom u usporedbi s bolesnicima s refraktornim limfomom.
4. Potrebno je dulje praćenje ispitanika čime bi se adekvatnije usporedili rezultati iz stvarne kliničke prakse između različitih transplantacijskih centara.
5. Početni rezultati Transplantacijskog centra KBC Split su izvrsni i predstavljaju veliki iskorak u liječenju hematoloških bolesnika izvan Zagreba.

## **7. POPIS CITIRANE LITERATURE**

1. Labar B, Hauptmann E. Hematologija. Zagreb: Školska knjiga; 2017.
2. Kaushansky K, Lichtman MA, Prchal JT, Levi MM, Press OW, Burns LJ i sur. Williams Hematology, 9e. New York: McGraw Hill; 2015.
3. Kandarakov O, Belyavsky A, Semenova E. Bone Marrow Niches of Hematopoietic Stem and Progenitor Cells. *Int J Mol Sci.* 2022;23(8).
4. Wei Q, Frenette PS. Niches for Hematopoietic Stem Cells and Their Progeny. *Immunity.* 2018;48(4):632-48.
5. Lucas D. Structural organization of the bone marrow and its role in hematopoiesis. *Curr Opin Hematol.* 2021;28(1):36-42.
6. Wu Q, Zhang J, Lucas D. Anatomy of Hematopoiesis and Local Microenvironments in the Bone Marrow. Where to? *Front Immunol.* 2021;12:768439.
7. Levesque JP, Helwani FM, Winkler IG. The endosteal 'osteoblastic' niche and its role in hematopoietic stem cell homing and mobilization. *Leukemia.* 2010;24(12):1979-92.
8. Ratajczak M. Stem Cell: Therapeutic Applications [Internet]. Cham: Springer; 2019. Dostupno na: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-31206-0>
9. Winkler IG, Wiercinska E, Barbier V, Nowlan B, Bonig H, Levesque JP. Mobilization of hematopoietic stem cells with highest self-renewal by G-CSF precedes clonogenic cell mobilization peak. *Exp Hematol.* 2016;44(4):303-14 e1.
10. Greenbaum AM, Link DC. Mechanisms of G-CSF-mediated hematopoietic stem and progenitor mobilization. *Leukemia.* 2011;25(2):211-7.
11. Zhang Y, Gao S, Xia J, Liu F. Hematopoietic Hierarchy - An Updated Roadmap. *Trends Cell Biol.* 2018;28(12):976-86.
12. Yang L, Bryder D, Adolfsson J, Nygren J, Mansson R, Sigvardsson M, i sur. Identification of Lin(-)Sca1(+)kit(+)CD34(+)Flt3- short-term hematopoietic stem cells capable of rapidly reconstituting and rescuing myeloablated transplant recipients. *Blood.* 2005;105(7):2717-23.
13. Kondo M, Weissman IL, Akashi K. Identification of clonogenic common lymphoid progenitors in mouse bone marrow. *Cell.* 1997;91(5):661-72.
14. Morrison SJ, Wandycz AM, Hemmati HD, Wright DE, Weissman IL. Identification of a lineage of multipotent hematopoietic progenitors. *Development.* 1997;124(10):1929-39.
15. Manz MG, Miyamoto T, Akashi K, Weissman IL. Prospective isolation of human clonogenic common myeloid progenitors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(18):11872-7.



16. Velten L, Haas SF, Raffel S, Blaszkiewicz S, Islam S, Hennig BP, i sur. Human haematopoietic stem cell lineage commitment is a continuous process. *Nat Cell Biol.* 2017;19(4):271-81.
17. Cheng H, Zheng Z, Cheng T. New paradigms on hematopoietic stem cell differentiation. *Protein Cell.* 2020;11(1):34-44.
18. Wilson A, Laurenti E, Oser G, van der Wath RC, Blanco-Bose W, Jaworski M, i sur. Hematopoietic stem cells reversibly switch from dormancy to self-renewal during homeostasis and repair. *Cell.* 2008;135(6):1118-29.
19. Pietras EM, Reynaud D, Kang YA, Carlin D, Calero-Nieto FJ, Leavitt AD, i sur. Functionally Distinct Subsets of Lineage-Biased Multipotent Progenitors Control Blood Production in Normal and Regenerative Conditions. *Cell Stem Cell.* 2015;17(1):35-46.
20. Carrelha J, Meng Y, Kettle LM, Luis TC, Norfo R, Alcolea V, i sur. Hierarchically related lineage-restricted fates of multipotent haematopoietic stem cells. *Nature.* 2018;554(7690):106-11.
21. Balassa K, Danby R, Rocha V. Haematopoietic stem cell transplants: principles and indications. *Br J Hosp Med (Lond).* 2019;80(1):33-9.
22. Khaddour K, Hana CK, Mewawalla P. Hematopoietic Stem Cell Transplantation [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 - [ažurirano 06.05.2023.]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536951/>
23. Jansen J, Hanks S, Thompson JM, Dugan MJ, Akard LP. Transplantation of hematopoietic stem cells from the peripheral blood. *J Cell Mol Med.* 2005;9(1):37-50.
24. Anasetti C, Logan BR, Lee SJ, Waller EK, Weisdorf DJ, Wingard JR, i sur. Peripheral-blood stem cells versus bone marrow from unrelated donors. *N Engl J Med.* 2012;367(16):1487-96.
25. Maedler-Kron C, Marcus VA, Michel RP. Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Pathology of Transplantation.* 2016;401–49. doi: 10.1007/978-3-319-29683-8\_10.
26. Labar B, Nemet D. Stanice života. Zagreb: Medicinska naklada; 2023.
27. Little MT, Storb R. History of haematopoietic stem-cell transplantation. *Nat Rev Cancer.* 2002;2(3):231-8.
28. Thomas ED, Lochte HL, Jr., Lu WC, Ferrebee JW. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N Engl J Med.* 1957;257(11):491-6.
29. Hansen JA, Clift RA, Thomas ED, Buckner CD, Storb R, Giblett ER. Transplantation of marrow from an unrelated donor to a patient with acute leukemia. *N Engl J Med.* 1980;303(10):565-7.

30. Gragert L, Eapen M, Williams E, Freeman J, Spellman S, Baitty R, i sur. HLA match likelihoods for hematopoietic stem-cell grafts in the U.S. registry. *N Engl J Med.* 2014;371(4):339-48.
31. Worldwide Network for Blood & Marrow Transplantation (WBMT)[citirano 3. lipnja 2014.]. Dostupno na: <http://www.wbmt.org/en/general-information-bylaws-presentations>.
32. Thomas ED, Buckner CD, Clift RA, Fefer A, Johnson FL, Neiman PE, i sur. Marrow transplantation for acute nonlymphoblastic leukemia in first remission. *N Engl J Med.* 1979;301(11):597-9.
33. Treleaven J. Introduction. In: Treleaven J, Barrett AJ, editors. *Hematopoietic stem cell transplantation in clinical practice*. Edinburgh: Churchill Livingstone/Elsevier; 2009. pp. 3-8.
34. Dicke KA, Zander A, Spitzer G, Verma DS, Peters L, Vellekoop L, i sur. Autologous bone-marrow transplantation in relapsed adult acute leukaemia. *Lancet.* 1979;1(8115):514-7.
35. McCredie KB, Hersh EM, Freireich EJ. Cells capable of colony formation in the peripheral blood of man. *Science.* 1971;171(3968):293-4.
36. Kessinger A, Armitage JO, Landmark JD, Weisenburger DD. Reconstitution of human hematopoietic function with autologous cryopreserved circulating stem cells. *Exp Hematol.* 1986;14(3):192-6.
37. Kessinger A, Armitage JO, Landmark JD, Smith DM, Weisenburger DD. Autologous peripheral hematopoietic stem cell transplantation restores hematopoietic function following marrow ablative therapy. *Blood.* 1988;71(3):723-7.
38. Gianni AM, Siena S, Bregni M, Tarella C, Stern AC, Pileri A, i sur. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor to harvest circulating haemopoietic stem cells for autotransplantation. *Lancet.* 1989;2(8663):580-5.
39. Civin CI, Strauss LC, Brovall C, Fackler MJ, Schwartz JF, Shaper JH. Antigenic analysis of hematopoiesis. III. A hematopoietic progenitor cell surface antigen defined by a monoclonal antibody raised against KG-1a cells. *J Immunol.* 1984;133(1):157-65.
40. Labar B. Hematopoietic stem cell transplantation in Zagreb: the first 40 years. *Croat Med J.* 2023;64(2):123-34.
41. Silobrcic V, Vitale B, Susnjic M, Tomazic V, Basic I. Acute graft-versus-host reaction in mice. 3. Organ distribution of injected 51 chromium labeled lymphocytes. *Exp Hematol.* 1976;4(2):103-13.
42. Vitale B, Jaksic B, Matosic M, Silobrcic V, Tomazic V. Acute graft-versus-host reaction in mice. I. Cellular events. *Transplantation.* 1976;21(6):502-10.
43. Boranic M. Rescue from graft-versus-host disease. *Transplantation.* 1975;20(1):75-6.

44. Boranic M, Tonkovic I. Time pattern of the antileukemic effect of graft-versus-host reaction in mice. *Cancer Res.* 1971;31(8):1140-7.
45. Boranić M. Transient graft versus host reaction in the treatment of leukemia in mice. *J Natl Cancer Inst.* 1968;41:421–37.
46. Bogdanic V, Nemet D, Kastelan A, Latin V, Petroveckii M, Brkljacic-Surlakovic L, i sur. Umbilical cord blood transplantation in a patient with Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia. *Transplantation.* 1993;56(2):477-9.
47. Nemet D, Labar B, Bogdanić V, Kolevska T, Mrsić M, Pavletić Z, i sur. Liječenje neoplastičnih hematoloških bolesti intenzivnom radiokemoterapijom i transplantacijom kriokonzervirane autologne koštane srži. *Lije. Vjesn.* 1989; 111 :348-53.
48. Zaklada Ana Rukavina. Dostupno na: <https://zaklada-ana-rukavina.hr/>.
49. Snowden JA, Sanchez-Ortega I, Corbacioglu S, Basak GW, Chabannon C, de la Camara R, i sur. Indications for haematopoietic cell transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2022. *Bone Marrow Transplant.* 2022;57(8):1217-39.
50. Hoffman R, Benz EJ, Silberstein LE, Heslop HE, Weitz JI, Anastasi J i sur. *Hematology: Basic Principles and Practice.* Elsevier Inc., 2017. 2374 p. doi: 10.1016/C2013-0-23355-9
51. Bazinet A, Popradi G. A general practitioner's guide to hematopoietic stem-cell transplantation. *Curr Oncol.* 2019;26(3):187-91.
52. Gratwohl A. The EBMT risk score. *Bone Marrow Transplant.* 2012;47(6):749-56.
53. Sorrow ML, Storb RF, Sandmaier BM, Maziarz RT, Pulsipher MA, Maris MB, i sur. Comorbidity-age index: a clinical measure of biologic age before allogeneic hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol.* 2014;32(29):3249-56.
54. Kumar SK, Dingli D, Lacy MQ, Dispenzieri A, Hayman SR, Buadi FK, i sur. Autologous stem cell transplantation in patients of 70 years and older with multiple myeloma: Results from a matched pair analysis. *Am J Hematol.* 2008;83(8):614-7.
55. Parrondo RD, Ailawadhi S, Sher T, Chanan-Khan AA, Roy V. Autologous Stem-Cell Transplantation for Multiple Myeloma in the Era of Novel Therapies. *JCO Oncol Pract.* 2020;16(2):56-66.
56. Attal M, Lauwers-Cances V, Hulin C, Leleu X, Caillot D, Escoffre M, i sur. Lenalidomide, Bortezomib, and Dexamethasone with Transplantation for Myeloma. *N Engl J Med.* 2017;376(14):1311-20.

57. Hrvatske smjernica za liječenje MM. Krohem. 2021. Dostupno na: [https://www.krohem.hr/wp-content/uploads/2021/09/Hrvatske\\_smjernice\\_za\\_lije%C4%8Denje\\_MM\\_2021\\_kona%C4%8Dna\\_verzija.pdf](https://www.krohem.hr/wp-content/uploads/2021/09/Hrvatske_smjernice_za_lije%C4%8Denje_MM_2021_kona%C4%8Dna_verzija.pdf).
58. Johnsrud A, Ladha A, Muffly L, Shiraz P, Goldstein G, Osgood V, i sur. Stem Cell Mobilization in Multiple Myeloma: Comparing Safety and Efficacy of Cyclophosphamide +/- Plerixafor versus Granulocyte Colony-Stimulating Factor +/- Plerixafor in the Lenalidomide Era. *Transplant Cell Ther.* 2021;27(7):590 e1- e8.
59. Klaus J, Herrmann D, Breikreutz I, Hegenbart U, Mazitschek U, Egerer G, i sur. Effect of CD34 cell dose on hematopoietic reconstitution and outcome in 508 patients with multiple myeloma undergoing autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Eur J Haematol.* 2007;78(1):21-8.
60. Giralt S, Costa L, Schriber J, Dipersio J, Maziarz R, McCarty J, i sur. Optimizing autologous stem cell mobilization strategies to improve patient outcomes: consensus guidelines and recommendations. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014;20(3):295-308.
61. Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kröger N. *The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies* [Internet]. 7. izdanje. Cham (CH): Springer; 2019. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553942/>
62. Devine SM, Flomenberg N, Vesole DH, Liesveld J, Weisdorf D, Badel K, i sur. Rapid mobilization of CD34+ cells following administration of the CXCR4 antagonist AMD3100 to patients with multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol.* 2004;22(6):1095-102.
63. Harvey RD, Kaufman JL, Johnson HR, Nooka A, Vaughn L, Flowers CR, i sur. Temporal changes in plerixafor administration and hematopoietic stem cell mobilization efficacy: results of a prospective clinical trial in multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2013;19(9):1393-5.
64. Sung AD, Grima DT, Bernard LM, Brown S, Carrum G, Holmberg L, i sur. Outcomes and costs of autologous stem cell mobilization with chemotherapy plus G-CSF vs G-CSF alone. *Bone Marrow Transplant.* 2013;48(11):1444-9.
65. Mohty M, Hubel K, Kroger N, Aljurf M, Apperley J, Basak GW, i sur. Autologous haematopoietic stem cell mobilisation in multiple myeloma and lymphoma patients: a position statement from the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2014;49(7):865-72.

66. Abrahamsen JF, Stamnesfet S, Liseth K, Hervig T, Bruserud O. Large-volume leukapheresis yields more viable CD34+ cells and colony-forming units than normal-volume leukapheresis, especially in patients who mobilize low numbers of CD34+ cells. *Transfusion*. 2005;45(2):248-53.
67. Cassens U, Barth IM, Baumann C, Fischer RJ, Kienast J, Vormoor J, i sur. Factors affecting the efficacy of peripheral blood progenitor cells collections by large-volume leukaphereses with standardized processing volumes. *Transfusion*. 2004;44(11):1593-602.
68. Transplantacija krvotvornih matičnih stanica u KBC-u Split. Kbsplit; 2021. Dostupno na: <https://www.kbsplit.hr/novosti/detalj/transplantacija-krvotvornih-maticnih-stanica-u-kbc-u-split>.
69. Autologous Transplant Guide: Blood Counts & Transfusions. Ucsf Health. Dostupno na: <https://www.ucsfhealth.org/education/autologous-transplant-guide-blood-counts-and-transfusions>.
70. Christopheit M, Schmidt-Hieber M, Sprute R, Buchheidt D, Hentrich M, Karthaus M, i sur. Prophylaxis, diagnosis and therapy of infections in patients undergoing high-dose chemotherapy and autologous haematopoietic stem cell transplantation. 2020 update of the recommendations of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Medical Oncology (DGHO). *Ann Hematol*. 2021;100(2):321-36.
71. Linch DC, Milligan DW, Winfield DA, Kelsey SM, Johnson SA, Littlewood TJ, i sur. G-CSF after peripheral blood stem cell transplantation in lymphoma patients significantly accelerated neutrophil recovery and shortened time in hospital: results of a randomized BNLI trial. *Br J Haematol*. 1997;99(4):933-8.
72. Schmitz N, Ljungman P, Cordonnier C, Kempf C, Linkesch W, Alegre A, i sur. Lenograstim after autologous peripheral blood progenitor cell transplantation: results of a double-blind, randomized trial. *Bone Marrow Transplant*. 2004;34(11):955-62.
73. Nevo S, Fuller AK, Zahurak ML, Hartley E, Borinsky ME, Vogelsang GB. Profound thrombocytopenia and survival of hematopoietic stem cell transplant patients without clinically significant bleeding, using prophylactic platelet transfusion triggers of  $10 \times 10^9$  or  $20 \times 10^9$  per L. *Transfusion*. 2007;47(9):1700-9.
74. Gajewski JL, Johnson VV, Sandler SG, Sayegh A, Klumpp TR. A review of transfusion practice before, during, and after hematopoietic progenitor cell transplantation. *Blood*. 2008;112(8):3036-47.

75. Ege H, Gertz MA, Markovic SN, Lacy MQ, Dispenzieri A, Hayman SR, i sur. Prediction of survival using absolute lymphocyte count for newly diagnosed patients with multiple myeloma: a retrospective study. *Br J Haematol.* 2008;141(6):792-8.
76. Jantunen E, Varmavuo V, Pelkonen J, Valtola J. Importance of early immune recovery after autologous hematopoietic cell transplantation in lymphoma patients. *Leuk Lymphoma.* 2019;60(9):2115-21.
77. Cubillas D, Quesada Sanchez M, Martinez Sanchez P, Calbacho Robles M, Sanchez Pina M, Baumann T. P1328: Successful treatment of graft failure in autologous stem cell transplantation with cyclosporine. *Hemasphere.* 2022. 1213-1214.
78. El-Cheikh J, Crocchiolo R, Vai A, Furst S, Bramanti S, Sarina B, i sur. Comparison of Three Distinct Prophylactic Agents Against Invasive Fungal Infections in Patients Undergoing Haplo-identical Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Post-transplant Cyclophosphamide. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2015;7(1):e2015048.
79. Young JA, Pallas CR, Knovich MA. Transplant-associated thrombotic microangiopathy: theoretical considerations and a practical approach to an unrefined diagnosis. *Bone Marrow Transplant.* 2021;56(8):1805-17.
80. Majhail NS. Old and new cancers after hematopoietic-cell transplantation. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2008:142-9.
81. Niederwieser D, Baldomero H, Bazuaye N, Bupp C, Chaudhri N, Corbacioglu S, i sur. One and a half million hematopoietic stem cell transplants: continuous and differential improvement in worldwide access with the use of non-identical family donors. *Haematologica.* 2022;107(5):1045-53.
82. National Marrow Donor Program/Be The Match and the American Society for Blood and Marrow Transplantation. Transplant referral timing guidelines [Internet:skaa stranica] Minneapolis, MN: National Marrow Donor Program; 2019. [citirano 19. siječnja 2019]. Dostupno na: <https://bethematchclinical.org/transplant-indications-and-outcomes/referral-timing-guidelines>.
83. Usmani SZ, Hoering A, Cavo M, Miguel JS, Goldschmidt H, Hajek R, i sur. Clinical predictors of long-term survival in newly diagnosed transplant eligible multiple myeloma - an IMWG Research Project. *Blood Cancer J.* 2018;8(12):123.
84. Pinto V, Bergantim R, Caires HR, Seca H, Guimaraes JE, Vasconcelos MH. Multiple Myeloma: Available Therapies and Causes of Drug Resistance. *Cancers (Basel).* 2020;12(2).

85. Lin CM, Chang LC, Shau WY, Chen CL, Yao CY, Tien FM. Treatment benefit of upfront autologous stem cell transplantation for newly diagnosed multiple myeloma: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer*. 2023;23(1):446.
86. Jain T, Sonbol MB, Firwana B, Kolla KR, Almader-Douglas D, Palmer J, i sur. High-Dose Chemotherapy with Early Autologous Stem Cell Transplantation Compared to Standard Dose Chemotherapy or Delayed Transplantation in Patients with Newly Diagnosed Multiple Myeloma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019;25(2):239-47.
87. Jian Y, Chen X, Zhou H, Zhu W, Liu N, Geng C, i sur. Prognostic Impact of Cytogenetic Abnormalities in Multiple Myeloma: A Retrospective Analysis of 229 Patients. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(19):e3521.
88. Abdallah NH, Binder M, Rajkumar SV, Greipp PT, Kapoor P, Dispenzieri A, i sur. A simple additive staging system for newly diagnosed multiple myeloma. *Blood Cancer J*. 2022;12(1):21.
89. Baertsch MA, Mai EK, Hielscher T, Bertsch U, Salwender HJ, Munder M, i sur. Lenalidomide versus bortezomib maintenance after frontline autologous stem cell transplantation for multiple myeloma. *Blood Cancer J*. 2021;11(1):1.
90. Zhang BL, Zhou J, Lin QD, Liu YZ, Zhang YL, Gui RR, i sur. Retrospective analysis of the efficacy and influencing factors of autologous hematopoietic stem cell transplantation for multiple myeloma. *Artif Organs*. 2019;43(10):1028-34.
91. Li J, Zhu Y. Survival analysis of multiple myeloma patients after autologous stem cell transplantation. *Stem Cell Investig*. 2019;6:42.
92. Al-Anazi KA, Alshami A, Mutahar E, Abduljalil O, Kanfer S, i sur. Outcome of Outpatient Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Patients with Multiple Myeloma and Relapsed and Refractory Hodgkin Lymphoma. The Experience of King Fahad Specialist Hospital in Dammam, Saudi Arabia. *J Stem Cell Ther Transplant*. 2023; 7: 003-015.
93. Ali N, Adil SN, Shaikh MU. Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation-10 Years of Data From a Developing Country. *Stem Cells Transl Med*. 2015;4(8):873-7.
94. Attal M, Lauwers-Cances V, Hulin C, Facon T, Caillot D, Escoffre M i sur. Autologous Transplantation for Multiple Myeloma in the Era of New Drugs: A Phase III Study of the Intergroupe Francophone Du Myelome (IFM/DFCI 2009 Trial). *Blood*. Volume 126, Issue 23. 2015. Str. 391. ISSN 0006-4971.
95. Amer R, Salameh H, Mosleh S, Abu-Taha A, Hamayel H, Enaya A, i sur. Epidemiology of early infections and predictors of mortality after autologous hematopoietic stem-cell

transplantation among multiple myeloma, Hodgkin, and non-Hodgkin lymphoma: the first experience from Palestine. *BMC Infect Dis.* 2022;22(1):725.

96. Waszczuk-Gajda A, Penack O, Sbianchi G, Koster L, Blaise D, Remenyi P, i sur. Complications of Autologous Stem Cell Transplantation in Multiple Myeloma: Results from the CALM Study. *J Clin Med.* 2022;11(12).

97. Gassas RS, Absi AN, Alghamdi AA, Alsaeed AS, Alamoudi SM, Hemaidei IY, i sur. Early infection in post-autologous hematopoietic stem cell transplant patients: Princess Noorah Oncology Center experience. *Saudi Med J.* 2021;42(8):847-52.



## **8. SAŽETAK**

**Cilj istraživanja:** Cilj ovog istraživanja bio je prikazati učinkovitost i sigurnost liječenja autolognom transplantacijom matičnih hematopoetskih stanica u stvarnoj kliničkoj praksi.

**Ispitanici i metode:** Provedeno je retrospektivno istraživanje u kojem su prikupljeni i analizirani medicinski podaci svih 28 ispitanika liječenih autolognom transplantacijom matičnih hematopoetskih stanica u Zavodu za hematologiju KBC Split u periodu od veljače 2021. do lipnja 2023.

**Rezultati:** Od ukupnog broja ispitanika, 20 ih je bilo s dijagnozom multiplog mijeloma, 7 s limfomom i 1 bolesnik s POEMS/Castelmanovom bolesti. Medijan praćenja bolesnika iznosio je 12,5 mjeseci. Ukupna stopa odgovora na terapiju iznosila je 89,3%. Kompletna remisija (CR) ili vrlo dobra parcijalna remisija (VGPR) postignuta je u 95% bolesnika s multiplim mijelomom. Progresija bolesti zabilježena je u 4 (14,3%) ispitanika. Svi transplantirani bolesnici su u periodu provođenja istraživanja živi (stopa OS = 100%). Medijan preživljenja bez progresije (PFS) nije dosegnut, a stopa PFS nakon 24 mjeseca iznosi 85,21%. Komplikacije su se javile u ukupno 16 ispitanika (57,1%), a febrilitet u njih 12 (42,9%). Medijan oporavka neutrofila iznosio je 13 dana, a trombocita 21 dan. Transfuzijsku potporu koncentrata trombocita primili su svi ispitanici, a 60% ih je primilo transfuzijsku potporu koncentrata eritrocita.

**Zaključak:** Autologna transplantacija matičnih hematopoetskih stanica učinkovit je modalitet u liječenju hematoloških bolesnika, osobito u oboljelih od multiplog mijeloma. Sigurnosni profil ovog postupka je prihvatljiv. Početni rezultati Transplantacijskog centra KBC Split su izvrsni i predstavljaju veliki iskorak u liječenju hematoloških bolesnika izvan Zagreba. Potrebno je dulje praćenje ispitanika čime bi se adekvatnije usporedili rezultati iz stvarne kliničke prakse između različitih transplantacijskih centara.

## **9. SUMMARY**

**Diploma thesis: Treatment with autologous hematopoietic stem cell transplantation - experience of the Department of Hematology, University Hospital of Split**

**Objectives:** The aim of this study was to demonstrate the effectiveness and safety of autologous hematopoietic stem cell transplantation in real-world clinical practice.

**Participants and methods:** A retrospective study was conducted, collecting and analyzing medical data of all 28 participants who underwent autologous hematopoietic stem cell transplantation at the Department of Hematology, University Hospital of Split, from February 2021 to June 2023.

**Results:** From the total number of participants, 20 had a diagnosis of multiple myeloma, 7 had lymphoma, and 1 patient had POEMS/Castelman's disease. The median follow-up period was 12.5 months. The overall response rate to therapy was 89.3%. Complete remission (CR) or very good partial remission (VGPR) was achieved in 95% of patients with multiple myeloma. Disease progression was observed in 4 (14.3%) participants. All transplanted patients were alive during the study period (OS rate = 100%). The median progression-free survival (PFS) was not reached, and the PFS rate after 24 months was 85.21%. Complications occurred in a total of 16 participants (57.1%), and febrile episodes were reported in 12 of them (42.9%). The median recovery time for neutrophils and platelets were 13 and 21 days respectively. All participants received platelet transfusion support, and 60% of them received red blood cell transfusion support.

**Conclusion:** Autologous hematopoietic stem cell transplantation is an effective modality in the treatment of hematological patients, particularly those with multiple myeloma. The safety profile of this procedure is acceptable. The initial results of the Transplantation Center at University Hospital of Split are excellent and represent a significant advancement in the treatment of hematological patients outside Zagreb. Longer follow-up of participants is needed to provide a more comprehensive comparison of results in real-world clinical practice across different transplantation centers.

## **10. ŽIVOTOPIS**

## OPĆI PODATCI

Ime i prezime: [REDACTED]

Datum rođenja: [REDACTED]

Mjesto rođenja: [REDACTED]

Državljanstvo: [REDACTED]

Adresa stanovanja: [REDACTED]

## ŠKOLOVANJE:

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

## JEZICI

[REDACTED]

## ZNANJA I VJEŠTINE

[REDACTED]

[REDACTED]