

Allogeniczne przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych w leczeniu chorych z ostrą białaczką szpikową

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation
in treatment of patients with acute myeloid leukemia

Lidia Gil

Katedra i Klinika Hematologii i Chorób Rozrostowych Układu Krwiotwórczego,
Uniwersytet Medyczny, Poznań

Streszczenie

Postęp w leczeniu ostrych białaczek szpikowych (AML), obserwowany w ostatnich latach, wiąże się z lepszym rozumieniem biologii choroby i coraz bardziej precyzyjną stratyfikacją rokowniczą chorych, pozwalającą na zastosowanie różnych form leczenia poremisyjnego zapobiegającego wznowie. Zastosowanie allogenicznego przeszczepienia krwiotwórczych komórek macierzystych (allo-HSCT) wpłynęło w sposób najbardziej widoczny na wyniki leczenia chorych z grup ryzyka, określonych na podstawie czynników cytogenetyczno-molekularnych. Poprawa skuteczności leczenia jest także efektem postępu w zakresie technik transplantacyjnych, leczenia wspomagającego, doboru par dawca–biorca i dostępności dawców. W pracy przedstawiono aktualne wskazania do allo-HSCT od zgodnych i niezgodnych dawców rodzinnych, dawców niespokrewnionych i z krwi pępowinowej w leczeniu chorych z AML. Omówiono metody przeprowadzania procedury przeszczepiania, uwzględniając sposoby leczenia przygotowującego i źródło pozyskiwania komórek krwiotwórczych. Przedstawiono także nowoczesne metody zapobiegania i leczenia nawrotów choroby.

Słowa kluczowe: ostra białaczka szpikowa, reakcja „przeszczep przeciw białaczkę”,
allogeniczne przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych

Hematologia 2011; 2, 3: 266–275

Abstract

Progress in understanding the biology of acute myeloid leukemia (AML) has contributed to better risk stratification of AML patients and application of various post remission therapies to prevent relapse of the disease in recent years. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) significantly influenced the outcome of high risk patients, defined on cytogenetic-molecular level. Additionally, advances in transplant techniques, better selection and availability of donors and better supportive care have improved safety and access of transplantation. In this review current indication for allo-HSCT from family and unrelated donors, as well as cord blood transplants, are discussed. Different conditioning methods, stem cells source and their impact on allo-HSCT outcome are also presented, as well as modern methods for prevention and treatment of relapse.

Key words: acute myeloid leukemia, graft versus leukemia effect, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

Hematologia 2011; 2, 3: 266–275

Wprowadzenie

Ostre białaczki szpikowe (AML, *acute myeloid leukemia*) stanowią heterogenną pod względem klinicznym i genetycznym grupę chorób, charakteryzujących się niekontrolowaną klonalną proliferacją nowotworowych prekursorów hematopoezy i zaburzonym wytwarzaniem prawidłowych komórek krwi. Choroba występuje u pacjentów w każdym wieku, ze średnią 69 lat według statystyk europejskich i amerykańskich [1, 2]. Powodzenie leczenia AML zależy od uzyskania remisji choroby i skutecznej terapii poremisyjnej zapobiegającej wznowie. Dziś leczenie to, zwłaszcza poremisyjne, jest zdefiniowane wieloma czynnikami, spośród których do najważniejszych należą wiek i stan ogólny chorego oraz cytogenetyczno-molekularna charakterystyka klonu białaczkowego. Postęp, jaki się w ostatnich latach dokonał w diagnostyce cytogenetyczno-molekularnej, doprowadził nie tylko do lepszego zrozumienia biologii białaczki, ale także do coraz bardziej precyzyjnej identyfikacji chorych kwalifikujących się do różnych form terapii — standardowej chemioterapii, leczenia celowanego lub allogenicznego przeszczepienia krwiotwórczych komórek macierzystych (allo-HSCT, *allogeneic stem cell transplantation*) i innych form immunoterapii.

Wprowadzenie allo-HSCT do terapii AML w sposób najbardziej znaczący wpłynęło na wyniki

leczenia, zwłaszcza u chorych w wieku poniżej 55–60 lat, mających zgodnego w układzie zgodności tkankowej (HLA, *human leucocyte antigen*) dawcę rodzinnego. Postęp w zakresie technik transplantacyjnych, leczenia wspomagającego, doboru par dawca–biorca i dostępności dawców umożliwia obecnie przeprowadzenie allotransplantacji od dawcy niespokrewnionego (MUD, *matched unrelated donor*), nie w pełni zgodnego dawcy rodzinnego lub przeszczepienia z krwi pępowinowej (UCB, *unrelated cord blood*) u znacznej liczby chorych. Przedmiotem poniższej pracy jest analiza aktualnych wskazań do allo-HSCT w AML (tab. 1) — zarówno od zgodnych dawców rodzinnych, jak i dawców alternatywnych. Ponadto dokonano przeglądu sposobów przeprowadzania procedury przeszczepienia oraz leczenia nawrotów po transplantacji.

Allogeniczne przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych w AML

Ostra białaczka szpikowa stanowi obecnie główne wskazanie do allo-HSCT. Według rejestrów EBMT (*European Group for Blood and Marrow Transplantation*) i CIBMTR (*Center for International Blood and Marrow Transplant Research*) rocznie w leczeniu chorych z AML przeprowadza się ponad 3000 allo-HSCT w Europie oraz około 2500

Tabela 1. Wskazania do allogenicznego przeszczepienia krwiotwórczych komórek macierzystych u chorych z ostrą białaczką szpikową (AML) (źródło: [3])

Table 1. Indications for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with acute myeloid leukemia (AML) (source: [3])

Grupa rokownicza AML	MSD	MUD	UCB	Haplo
AML w CR1				
Niskie ryzyko — korzystne zmiany cytogenetyczne:				
• APL (MRD–)	Nie	Nie	Nie	Nie
• CBF z <i>mKIT</i>	Tak ²	Tak ²	Tak ²	Tak ²
• CBF bez <i>mKIT</i>	Nie	Nie	Nie	Nie
Pośrednie ryzyko — prawidłowy kariotyp ¹ :	Tak	Tak ²	Tak ²	Tak ²
• <i>mNPM1</i> bez <i>FLT3/ITD</i>	Nie	Nie	Nie	Nie
• <i>mCBPA</i>	Nie	Nie	Nie	Nie
Inne niż powyższe	Tak	Tak ²	Tak ²	Tak ²
Pośrednie ryzyko — niekorzystne zmiany cytogenetyczne	Tak	Tak ²	Tak ²	Tak ²
Wysokie ryzyko — niekorzystne zmiany cytogenetyczne	Tak	Tak	Tak	Tak
AML w CR2	Tak	Tak	Tak	Tak
AML bez remisji	Tak	Tak	BD	BD

¹W przypadku braku badań molekularnych; ²brak badań kontrolowanych w dużych grupach chorych; MSD (*matched sibling donor*) — zgodny dawca rodzinny; MUD (*matched unrelated donor*) — zgodny dawca niespokrewniony; UCB (*umbilical cord blood*) — krew pępowinowa; Haplo — dawca haploidentyczny; CR — całkowita remisja; MRD (*minimal residual disease*) — minimalna choroba resztkowa; APL (*acute promyelocytic leukemia*) — ostra białaczka promielocytowa; CBF — *core binding factor*; BD — brak danych

takich procedur w Stanach Zjednoczonych [3]. Systematycznie zwiększa się liczba przeszczepień od dawców alternatywnych i coraz częściej do leczenia z zastosowaniem allo-HSCT kwalifikuje się pacjentów w starszym wieku. Skuteczność allo-HSCT w odniesieniu do AML jest wypadkową intensywności leczenia przygotowującego, określanego pojęciem kondycjonowania (*conditioning*), oraz reakcji biologicznej „przeszczep przeciw białaczce” (GvL, *graft versus leukemia*).

Efekt przeciwbiałaczkowy GvL w AML udokumentowano w wielu obserwacjach klinicznych, w tym: niższe ryzyko nawrotu białaczki u chorych, u których wystąpiła ostra, a zwłaszcza przewlekła reakcja „przeszczep przeciw gospodarzowi” (GvHD, *graft versus host disease*), znacząco wyższe ryzyko nawrotu po transplantacji od jednojajowego bliźniaka w porównaniu z przeszczepieniem od innego zgodnego dawcy czy skuteczność infuzji limfocytów T dawcy w leczeniu wznowy AML po allo-HSCT [4–6]. Reakcja GvL mediowana przez komórki immunokompetentne dawcy, głównie limfocyty T i komórki naturalnej cytotoxyczności (NK, *natural killer*), z udziałem makrofagów, komórek dendrytycznych i licznych cytokin, prowadzi do supresji lub eliminacji rezydualnych komórek białaczkowych [7]. Limfocyty T wykazują zdolność rozpoznawania na powierzchni komórek nowotworowych antygenów białaczkowych specyficznych (WT1, *Wilms tumor-1*) i towarzyszących (PR1 *peptide*) oraz antygenów mniejszych zgodności tkankowej (HA-2) [8–10]. Zaangażowanie komórek NK zależne od zgodności antygenów KIR-HLA między dawcą i biorcą wydaje się mieć podstawowe znaczenie w generowaniu procesu GvL w białaczkach szpikowych [11, 12].

Znajomość powyższych zjawisk, podobnie jak mechanizmów kontroli immunologicznej rozwoju białaczki, umożliwiła postęp w zakresie immunoterapii po przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych [13]. Celem immunoterapii jest intensyfikacja zjawiska GvL bez nasilania reakcji GvHD, należącej do głównych powikłań po allo-HSCT. Poznanie mechanizmów GvL przyczyniło się do wprowadzenia do praktyki klinicznej metody allotransplantacji z kondycjonowaniem o zredukowanej intensywności (RIC, *reduced intensity conditioning*) lub niemieloablacyjnym (NMA, *nonmyeloablative*), których filozofia opiera się na biologicznym efekcie komórek immunokompetentnych dawcy.

Do najważniejszych przyczyn niepowodzenia leczenia AML za pomocą allo-HSCT należą wznowa białaczki, obecność GvHD oraz powikłania toksyczne i infekcyjne. Postęp, jaki się dokonał w ostatnich latach w zakresie leczenia wspomagającego,

oraz wprowadzenie allo-HSCT-RIC i allo-HSCT-NMA wpłynęły na zmniejszenie śmiertelności okołotransplantacyjnej (TRM, *treatment related mortality*), zwłaszcza z powodu zakażeń i toksyczności narządowej. Toksyczność terapii ablacyjnej nadal jednak ogranicza możliwość jej stosowania do pacjentów w wieku poniżej 50–55 lat. Ryzyko transplantacyjne pozwalają określić skala EBMT Gratwohla oraz skala Sorrora [14, 15]. Obecne wysiłki badaczy skupiają się przede wszystkim na obniżeniu ryzyka nawrotu AML po allo-HSCT oraz zapobieganiu i leczeniu GvHD.

Wskazania do allo-HSCT w AML

Zabieg allo-HSCT od identycznego w układzie HLA rodzeństwa w pierwszej całkowitej remisji AML

Zabieg allo-HSCT od rodzeństwa identycznego w układzie HLA (MSD, *matched sibling donor*) jest standardowym postępowaniem w leczeniu AML w pierwszej całkowitej remisji (CR1) w grupie pośredniego i wysokiego ryzyka wznowy opartego na stratyfikacji cytogenetycznej. Skuteczność takiej terapii potwierdzają analizy retrospektywne i badania kliniczne. Metaanaliza badań prospektywnych, obejmująca 3638 chorych poddanych allo-HSCT od HLA-identycznego dawcy rodzinnego w CR1, wskazuje na statystycznie znamienne wydłużenie przeżycia całkowitego (OS, *overall survival*) i przeżycia wolnego od nawrotu białaczki (LFS, *leukemia-free survival*) w tych grupach chorych, w porównaniu z leczeniem konwencjonalnym i autologicznym przeszczepieniem krwiotwórczych komórek macierzystych (auto-HSCT, *autologous hematopoietic stem cell transplantation*) [16]. Określone na podstawie tej analizy prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia po allo-HSCT wśród chorych obciążonych pośrednim i wysokim ryzykiem nawrotu w porównaniu z chemioterapią standardową wynosi odpowiednio 52% i 31% *versus* 45% i 20%.

Niewątpliwie najmniej kontrowersji wzbudziło leczenie z zastosowaniem allo-HSCT u chorych na AML z niekorzystnymi aberracjami cytogenetycznymi. W tej grupie do nawrotu białaczki dochodzi najczęściej w ciągu roku od rozpoznania, szanse osiągnięcia drugiej CR (CR2) są małe, a 3-letnie przeżycie dotyczy mniej niż 20% chorych [17]. Natomiast grupa pośredniego ryzyka, stanowiąca 40–50% chorych na AML, jest najbardziej heterogenną pod względem rokowniczym populacją pacjentów. Na podstawie badań molekularnych wśród chorych z prawidłowym kariotypem można dziś wyodrębnić zarówno pacjentów, u których rokowanie jest ko-

rzystne, jak i takich, których należy kwalifikować do allo-HSCT już w CR1.

Spośród wielu badanych genów obecnie największe znaczenie kliniczne wydają się mieć mutacje *NPM1*, *CEBPA*, *FLT3* i ich kombinacje. Udowodniono niekorzystne rokowanie w odniesieniu do OS i ryzyka nawrotu AML w przypadku obecności mutacji *FLT3*-ITD, zwłaszcza z wysokim mianem zmutowanego genu (rokownicze znaczenie mutacji *FLT3*-TKD jest niejednoznaczne) [18]. Analizy kliniczne wskazują na korzystne znaczenie rokownicze mutacji *NPM1* oraz mutacji *CEBPA* [19, 20]. Przeważa pogląd, że spośród pacjentów z prawidłowym kariotypem do allo-HSCT należy kwalifikować wszystkich chorych z wyjątkiem tych, u których stwierdza się obecność mutacji *CEBPA* lub *NPM1* bez *FLT3*-ITD [21].

Obecnie diagnostyka molekularna umożliwia także dokładną charakterystykę rokowniczą dobrze rokujących chorych na AML. Dotyczy to zwłaszcza pacjentów z białaczką CBF (*core binding factor*) z aberracjami cytogenetycznymi t(8;21), inv(16) lub t(16;16). W przypadku tych białaczek wieloletnie przeżycie obserwuje się u około 50% chorych leczonych konwencjonalnie dużymi dawkami cytarabiny [22]. Wykazano, że obecność mutacji *KIT* w tej grupie chorych leczonych zachowawczo wiąże się ze zwiększonym ryzykiem nawrotu, zbliżonym do ryzyka obserwowanego w grupie obciążonej złym rokowaniem [23]. Trzeba zatem rozważyć przeprowadzenie allo-HSCT u chorych z AML-CBF z mutacją *KIT* w CR1, choć brakuje badań w tym zakresie przeprowadzonych w dużej grupie pacjentów.

Dobre wyniki leczenia ostrej białaczki promielocytowej (APL, *acute promyelocytic leukemia*) kwasem trans-retinowym (ATRA, *all-trans retinoic acid*) lub trójtlenkiem arsenu, z wieloletnim przeżyciem na poziomie 80–90%, uzasadniają prowadzenie terapii zachowawczej w tej grupie chorych, a allo-HSCT należy zarezerwować dla opornych i nawrotowych postaci choroby [24].

W ostatnim czasie dynamicznie poszukuje się nowych markerów prognostycznych w AML. Kierunki badań obejmują analizę profilu ekspresji genów, profilu metylacji DNA, analizę mikroRNA i proteomikę [25].

Zabieg allo-HSCT od identycznego w układzie HLA rodzeństwa w nawrocie AML

Wyniki leczenia zachowawczego chorych z nawrotem AML są niezadowolające w odniesieniu do możliwości uzyskania trwałej remisji choroby [26]. Nie ma jednak prospektywnych badań, w których oceniono by skuteczność allo-HSCT w tej grupie

chorych. Na podstawie badań retrospektywnych wyodrębniono następujące czynniki prognostyczne, określające prawdopodobieństwo przeżycia pacjentów ze wznową: czas od CR1 do nawrotu, obecność zmian cytogenetycznych w momencie rozpoznania, wiek oraz przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych przed nawrotem [27]. Wykazano, że kluczowe dla wydłużenia OS u chorych w okresie pierwszego nawrotu AML jest uzyskanie CR2 i przeprowadzenie allo-HSCT. Jako terapia ratunkowa zabieg ten umożliwia uzyskanie 3-letniego OS na poziomie 44% w porównaniu z 14% obserwowanymi po leczeniu zachowawczym ($p < 0,001$). Szanse 3-letniego przeżycia pacjentów po przeszczepieniu w CR2 są znamienne większe niż pacjentów z aktywną chorobą i wynoszą odpowiednio 59% i 21% ($p < 0,001$) [17].

Procedura allo-HSCT u osób z aktywną chorobą pozostaje trudnym i kontrowersyjnym zagadnieniem. Problem dotyczy zarówno chorych z pierwotną opornością, jak i wczesnym nawrotem, oporną wznową lub drugą i kolejną wznową choroby. Analiza CIBMTR, obejmująca 1678 chorych po przeszczepieniu bez remisji, wskazuje na 3-letnie przeżycie na poziomie 19% [28]. Wśród niekorzystnych czynników wpływających na OS po allo-HSCT w tej grupie wymienia się czas trwania remisji krótszy niż 6 miesięcy, obecność blastów we krwi obwodowej, przeszczepienie od dawcy alternatywnego, stan ogólny według Karnofskiego poniżej 90, cytogenetycznie niekorzystne aberracje chromosomalne [28]. Zastosowanie terapii sekwencyjnej, obejmującej chemioterapię w celu zmniejszenia masy guza z następową allo-HSCT, wydaje się poprawiać wyniki przeszczepienia u wybranych chorych z aktywną białaczką. Wykazano to w wielośrodkowym badaniu europejskim, w którym zaproponowane leczenie pozwoliło osiągnąć 3-letnie OS u około 30% chorych [29]. Podejmowane są też próby zastosowania gemtuzumabu lub przeciwciał anty-CD45 sprzężonych z radioaktywnym jodem w kondycjonowaniu u chorych bez remisji przed allo-HSCT [30, 31].

Zabieg allo-HSCT od dawcy alternatywnego

W ostatnich latach obserwuje się wzrost liczby transplantacji od zgodnych i niezgodnych dawców niespokrewnionych, niezgodnych dawców rodzinnych (pojedyncze niezgodności, haploidentyczne) oraz przeszczepień z zastosowaniem UCB. Dziś stanowią one około połowę wszystkich allo-HSCT przeprowadzanych w leczeniu AML na świecie. Wyniki tych zabiegów systematycznie się poprawiają, zbliżając się do uzyskiwanych po allo-HSCT od dawców rodzinnych.

Obecnie zaleca się przeprowadzenie allo-HSCT od zgodnego w układzie HLA dawcy niespokrewnionego u chorych z AML w CR1 obciążonych niekorzystnymi czynnikami cytogenetyczno-molekularnymi oraz w przypadku CR2, niezależnie od czynników rokowniczych. Retrospektywna analiza CIBMTR oraz europejskie badania prospektywne dowodzą wyższej skuteczności allo-HSCT-MUD w porównaniu ze standardową chemioterapią u takich chorych [32, 33]. Przeszczepienie od zgodnego dawcy niespokrewnionego i od dawcy rodzinnego umożliwia uzyskanie 3-letniego przeżycia wolnego od choroby na podobnym poziomie (34% v. 42%; $p = 0,08$) [34]. Zbliżone wyniki allo-HSCT-MUD i allo-HSCT od dawcy rodzinnego obserwuje się również wśród chorych z grupy pośredniego ryzyka, zwłaszcza z mutacją *FLT3-ITD*, choć dostępne analizy dotyczą nielicznych grup pacjentów [35].

Najwyższą skuteczność allo-HSCT-MUD w odniesieniu do OS uzyskuje się w przypadku pełnej zgodności antygenów HLA (HLA-A, -B, -C, -DRB1) między dawcą i biorcą, ocenianych metodą wysokiej rozdzielczości [36]. W przypadku pojedynczych niezgodności obserwuje się zwiększone ryzyko śmiertelności okołotransplantacyjnej i wystąpienia ostrej reakcji GvHD. Pojedyncze niezgodności między dawcą rodzinnym i biorcą pozwalają na uzyskanie podobnych wyników leczenia, jak obserwowane po allo-HSCT-MUD [37].

Zarówno brak optymalnego dawcy, jak i czas potrzebny do identyfikacji dawcy, stanowią najistotniejsze ograniczenia omawianej metody. Zaleca się poszukiwanie dawcy dla chorych z wszystkich grup ryzyka. W przypadku braku dawcy rodzinnego lub optymalnego dawcy niespokrewnionego u chorych źle rokujących należy rozważyć przeszczepienie z UCB lub transplantację od dawcy haploidentycznego.

Liczba transplantacji z zastosowaniem UCB zwiększa się w ostatnich latach zarówno u dzieci, jak i dorosłych, co jest związane przede wszystkim z dostępnością materiału transplantacyjnego w ciągu kilku–kilkunastu dni oraz jego niewielką immunogennością. W analizach grup europejskich i amerykańskich wykazano, że w leczeniu chorych na AML w CR1 skuteczność allo-HSCT-UCB i allo-HSCT-MUD jest zbliżona w odniesieniu do OS i LFS [38, 39]. Zwiększona śmiertelność okołotransplantacyjna po allo-HSCT-UCB, raportowana w niektórych ośrodkach, wiąże się przede wszystkim z opóźnieniem rekonstrukcji krwiotworzenia i odnowy immunologicznej [40]. Największym ograniczeniem metody jest mała liczba komórek krwiotwórczych w jednostce krwi pępowinowej, często niewystarczająca dla osoby dorosłej ($< 3 \times 10^7$ komórek jednojądrzastych/kg mc.)

[38]. Przełamaniu tej bariery służą skutecznie próby zastosowania 2 jednostek krwi pępowinowej, dożylkowe podawanie komórek oraz zastosowanie komórek mezenchymalnych i inne metody [41–43].

Transplantacja od haploidentycznego dawcy rodzinnego jest kolejną opcją terapeutyczną w przypadku braku optymalnego dawcy rodzinnego lub niespokrewnionego u chorych na AML z grupy wysokiego ryzyka. Wyniki leczenia tych pacjentów są porównywalne z uzyskiwanymi po allo-HSCT-UCB, choć opierają się na analizach małych grup chorych; 2-letnie LFS obserwuje się u 48% chorych w CR1 [44]. Deplecja limfocytów T z materiału transplantacyjnego lub zastosowanie cyklofosfamid po przeszczepieniu, przeprowadzane jako strategię zapobiegania GvHD, prowadzą do opóźnienia rekonstrukcji immunologicznej i zwiększonego ryzyka powikłań infekcyjnych, a przede wszystkim — zwiększonego ryzyka wznowy [45, 46]. Badane są techniki selektywnego usuwania frakcji limfocytów T w celu zapewnienia sprawnej odnowy immunologicznej; doskonała jest immunoterapia adoptywna zapobiegająca nawrotom choroby i zakażeniom (infuzja specyficznych limfocytów T i/lub komórek NK) [47, 48]. Wydaje się, że zabiegi przeszczepiania UCB i haploidentyczne powinny być przeprowadzane w ośrodkach o dużym doświadczeniu, przygotowanych do stosowania immunoterapii i leczenia powikłań o charakterze immunologicznym.

Szczególne wskazania do allo-HSCT w AML

Allogeniczne przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych w leczeniu wtórnej, polekowej AML (t-AML, *therapy-related AML*), której częstość wzrasta w ostatnich latach, rokuje gorzej co do trwałego wyleczenia w porównaniu z postacią *de novo* choroby. Wyższą skuteczność allo-HSCT w stosunku do leczenia konwencjonalnego wykazano w badaniach retrospektywnych u chorych w młodszym wieku (< 35 lat), bez niekorzystnych zmian cytogenetycznych, w remisji choroby w okresie transplantacji, mających MSD lub MUD [49]. Pięcioletnie OS uzyskuje się u około 50% chorych z tej grupy, w porównaniu z 4% u pacjentów obciążonych niekorzystnymi czynnikami. Mimo że niektóre obserwacje wskazują na porównywalne rokowanie chorych z t-AML i chorobą *de novo* z obecnością korzystnych zmian cytogenetycznych, w szczególności *inv(16)*, to wydaje się, że przeprowadzenie allo-HSCT należy rozważyć u wszystkich chorych w CR1 t-AML mających zgodnego dawcę, szczególnie rodzinnego [50].

Retrospektywne analizy wskazują, że allo-HSCT u chorych na AML powyżej 60. roku życia w CR1 zwiększa szansę 3-letniego LFS w porównaniu z leczeniem konwencjonalnym (32% v. 15%; $p = 0,006$), nie wpływa jednak na OS (37% v. 25%; $p = 0,08$), co jest głównie związane ze zwiększonym odsetkiem TRM (22% v. 3%; $p < 0,001$). W badaniach obejmujących różne grupy wiekowe nie wykazano wpływu wieku na OS po allo-HSCT z przygotowaniem o zredukowanej intensywności [51]. Podobne wyniki w odniesieniu do przeżycia uzyskuje się po allo-HSCT od MSD i MUD. Zwykle do transplantacji kwalifikuje się chorych nie starszych niż 70-letnich, a standardem pozostaje zastosowanie allo-HSCT-RIC, choć trudno wskazać optymalny protokół leczniczy.

Metody kondycjonowania i źródło pozyskiwania krwiotwórczych komórek macierzystych

W terapii przygotowującej przed przeszczepieniem krwiotwórczych komórek macierzystych stosuje się protokoły o różnej intensywności, zdefiniowane przez międzynarodowe grupy [52]. W leczeniu AML zwykle jest stosowana terapia ablacyjna lub ze zredukowaną intensywnością; kondycjonowanie NMA wiąże się ze znacznym odsetkiem nawrotów w porównaniu z wcześniej wymienionymi [53, 54].

Standardowym postępowaniem jest leczenie mieloablacyjne oparte na chemioterapii busulfanem i cyklofosfamidem (BuCy2) lub radioterapii całego ciała (TBI, *total body irradiation*) w połączeniu z cyklofosfamidem (TBI/Cy). Analiza badań porównujących obie metody leczenia wskazuje na lepsze wyniki w odniesieniu do przeżycia, niższe ryzyko nawrotu i mniejszą śmiertelność okołoprzeszczepową po TBI/Cy, brakuje jednak dobrej oceny odległych efektów badanych schematów leczenia [55]. Dostępny obecnie busulfan dożylny charakteryzuje się lepszymi, w porównaniu z postacią doustną, biodostępnością i tolerancją, mniejszą toksycznością, zwłaszcza wątrobową, oraz podobną skutecznością [56]. Proponowane obecnie modyfikacje schematu BuCy2, polegające na skojarzeniu busulfanu w pełnej ablacyjnej dawce z fludarabiną, charakteryzują się wysoką efektywnością i bezpieczeństwem stosowania, z korzystnym profilem toksyczności. Podejmowane są także próby podawania busulfanu dożylnego w jednej dawce dobowej, co nie wpływa na farmakokinetykę leku ani na jego skuteczność [57–59].

Niewątpliwie interesującą propozycją jest włączenie klofarabiny do protokołów kondycjonowania w AML. Klofarabina jest lekiem przeciwbia-

łaczkowym, wykazującym także działanie immunosupresyjne. W badaniach *in vitro* i w analizach klinicznych udokumentowano synergistyczne działanie klofarabiny w połączeniu z busulfanem i fludarabiną oraz wykazano bezpieczeństwo takiego skojarzenia [60, 61].

W ostatnich latach w niektórych ośrodkach transplantacyjnych zamiast busulfanu stosuje się jego mniej toksyczną pochodną — treosulfan. Wykazano, że zastosowanie treosulfanu obniża ryzyko wystąpienia powikłań infekcyjnych, uszkodzenia śluzówek i toksyczności narządowej. Skuteczność leku potwierdzono w badaniach prospektywnych w AML, choć dotyczą one małej grupy chorych [62].

Jak wynika z analizy rejestrów międzynarodowych, w ostatnich latach coraz częściej w leczeniu AML stosuje się terapię o zredukowanej intensywności, pozwalającą kwalifikować do allo-HSCT pacjentów powyżej 55.–60. roku życia oraz z poważnymi schorzeniami współistniejącymi. Leczenie wiąże się z niższym ryzykiem powikłań toksycznych, w tym wczesnej śmiertelności okołotransplantacyjnej w porównaniu z terapią ablacyjną [53, 63]. Analiza badań retrospektywnych, w których porównywano skuteczność RIC i leczenia ablacyjnego w odniesieniu do LFS, OS i odsetka GvHD wśród chorych w CR1, zasadniczo nie wykazała statystycznie znamiennych różnic między grupami [64]. Obserwuje się jednak wyższe ryzyko wznowy choroby po RIC w porównaniu z terapią ablacyjną, zwłaszcza wśród chorych poniżej 50. roku życia [65]. Mieloablacja o zredukowanej intensywności jest także mniej skuteczna niż leczenie ablacyjne, jeśli transplantację przeprowadza się w chorobie aktywnej [63]. Udokumentowano natomiast wyższą efektywność allo-HSCT-RIC w porównaniu z leczeniem konwencjonalnym w CR1, w grupie obciążonej niekorzystnym rokowaniem [66]. Schematy RIC stosowane przez poszczególne grupy badawcze w leczeniu AML są różne i trudno dziś rekomendować jeden konkretny, głównie ze względu na brak prospektywnych analiz. Do najczęściej stosowanych schematów należą: busulfan/fludarabina i melfalan/fludarabina, ponadto miniTBI/fludarabina, cyklofosfamid/fludarabina, treosulfan/fludarabina.

Wciąż poszukuje się nowych metod leczenia, charakteryzujących się niewielką toksycznością i wysoką skutecznością w odniesieniu do LFS i OS, również dla pacjentów z zaawansowaną postacią choroby. Pewne nadzieje wiąże się ze wspomnianą klofarabiną, przeciwciałami monoklonalnymi i innymi technikami [30, 31, 60].

Źródłem komórek do allo-HSCT są szpik (BM, *bone marrow*), krew obwodowa (PB, *peripheral blood*)

i UCB. Z międzynarodowych baz danych wynika, że obecnie coraz częściej do przeszczepienia wykorzystuje się krwiotwórcze komórki macierzyste z PB pozyskane od dawcy po mobilizacji granulocytarnym czynnikiem wzrostu. Na wzrost liczby tych przeszczepień wpłynęły niewątpliwie doświadczenia z zakresu transplantacji autologicznych, a także zwiększenie liczby wykonywanych allo-HSCT-RIC, w których rekomenduje się wykorzystanie PB. Odległe analizy wskazują, że przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych z PB wiąże się z szybszą rekonstrukcją hematopoezy w porównaniu z komórkami pozyskanymi z BM, ale też z wyższym ryzykiem wystąpienia przewlekłej reakcji GvHD. Nie wykazano wpływu źródła pozyskiwania krwiotwórczych komórek macierzystych (PB *v.* BM) na czas przeżycia chorych z AML [67]. Jak wyżej wspomniano, wyniki uzyskiwane po przeszczepieniu komórek UCB są zbliżone do uzyskiwanych po transplantacji komórek z PB lub BM od dawców rodzinnych i niespokrewnionych, z mniejszym odsetkiem GvHD po przeszczepieniu UCB [39].

Leczenie wznowy AML po allo-HSCT

Wznowa białaczki jest główną przyczyną niepowodzenia leczenia AML. Do nawrotu choroby dochodzi u około 30% pacjentów leczonych z zastosowaniem allo-HSCT, najczęściej w czasie pierwszych 6–12 miesięcy po zabiegu. Obecne metody leczenia nawrotu obejmują drugi zabieg allo-HSCT, chemioterapię, immunoterapię z zastosowaniem infuzji limfocytów dawcy (DLI, *donor lymphocytes infusion*) lub leczenie objawowe. Wybór sposobu postępowania zależy od wielu czynników, wśród których do najważniejszych należą: czas od pierwszego przeszczepienia do nawrotu choroby, wiek pacjenta i jego stan ogólny, występowanie GvHD, dostępność dawcy i wreszcie wola chorego.

Ponowną allo-HSCT można rozważyć u pacjentów, u których do nawrotu AML doszło w okresie ponad 6–12 miesięcy po pierwszym przeszczepieniu, nie obserwowano nasilonej reakcji GvHD i uzyskano kolejną CR za pomocą reindukcji [68]. Nie ma rekomendacji dotyczących wyboru chemioterapii reindukującej. Większość chorych ze wznową po przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych jest kwalifikowana do allo-HSCT-RIC.

Skuteczność DLI w leczeniu wznowy AML oceniano w badaniach prospektywnych i retrospektywnych. Odpowiedź na leczenie uzyskuje się u 26–40% pacjentów [69, 70]. Wydaje się, że korzyści z DLI są największe, gdy jest proponowana chorem

bez niekorzystnych zmian cytogenetycznych, z małą masą guza w okresie nawrotu i z remisją utrzymującą się w okresie DLI. W ostatnim czasie proponuje się zastosowanie azacytydyny, w skojarzeniu lub bez DLI. Azacytydyna indukuje różnicowanie komórek białaczkowych oraz zwiększa ekspresję antygenów HLA-DR i prawdopodobnie innych antygenów białaczkowych, co może nasilać efekt GvL. Wstępne obserwacje w małych grupach chorych są zachęcające, a strategię tę można także wykorzystać w zapobieganiu wznowie białaczki [71].

Wiele nadziei wiąże się z nowymi metodami immunoterapii, takimi jak: infuzja adoptywna cytotoksycznych limfocytów T dawcy skierowanych przeciw antygenom związanym z komórkami białaczkowymi, infuzja komórek NK, zastosowanie cytokin i przeciwciał monoklonalnych, generacja szczepionek przeciwbiałaczkowych. Te i inne nowatorskie metody mogą znaleźć zastosowanie zarówno w leczeniu nawrotów białaczki, jak i zapobieganiu im. Istotne znaczenie ma w tym przypadku monitorowanie minimalnej choroby resztkowej, chimerizmu molekularnego i odpowiedzi immunologicznej wobec białaczki [13, 72].

Podsumowanie

Postęp, jaki się dokonał w rozumieniu biologii AML, pozwala na coraz bardziej precyzyjną stratyfikację rokowniczą i terapeutyczną chorych. Dotyczy to zwłaszcza kwalifikacji do allo-HSCT, która jest obecnie optymalną metodą leczenia pacjentów z grupy cechującej się niekorzystnym rokowaniem. Obserwuje się stały wzrost liczby transplantacji w tym wskazaniu i coraz większą dostępność procedury, a dzięki postępowi w zakresie techniki transplantacyjnej i leczenia wspomagającego poprawiają się również wyniki samego zabiegu przeszczepienia. Dąży się do opracowania terapii mało toksycznej, a skutecznej u pacjentów w starszym wieku i z zaawansowaną postacią choroby. Wiele nadziei budzi rozwijająca się dziedzina immunoterapii okołotransplantacyjnej, której głównym celem jest zapobieganie nawrotom choroby i leczenie ich.

Piśmiennictwo

1. Howlader N., Noone A.M., Krapcho M. i wsp. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2008. National Cancer Institute, Bethesda 2010.
2. Juliusson G., Antunovic P., Derolf A. i wsp. Age and acute myeloid leukemia: real world data on decision to treat and outcomes from the Swedish Acute Leukemia Registry. *Blood* 2009; 113: 4179–4187.

3. Gupta V., Tallman M.S., Weisdorf D.J. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for adults with acute myeloid leukemia: myths, controversies, and unknowns. *Blood* 2010; 117: 2307–2318.
4. Horowitz M.M., Gale R.P., Sondel P.M. i wsp. Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood* 1990; 75: 555–562.
5. Baron F., Maris M.B., Sandmaier B.M. wsp. Graft-versus-tumor effects after allogeneic hematopoietic cell transplantation with non-myeloablative conditioning. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 1993–2003.
6. Kolb H.J. Graft-versus-leukemia effects of transplantation and donor lymphocytes. *Blood* 2008; 112: 4371–4383.
7. Barrett A.J. Understanding and harnessing the graft-versus-leukaemia effect. *Br. J. Haematol.* 2008; 142: 877–888.
8. Falkenburg J.H., Marijt W.A., Heemskerk M.H., Willemze R. Minor histocompatibility antigens as targets of graft-versus-leukemia reactions. *Curr. Opin. Hematol.* 2002; 9: 497–502.
9. Stauss H.J., Thomas S., Cesco-Gaspere M. i wsp. WT1-specific T cell receptor gene therapy: improving TCR function in transduced T cells. *Blood Cells Mol. Dis.* 2008; 40: 113–116.
10. Rezvani K. PR1 vaccination in myeloid malignancies. *Expert Rev. Vaccines* 2008; 7: 867–875.
11. Davies S.M., Ruggieri L., DeFor T. i wsp. Evaluation of KIR ligand incompatibility in mismatched unrelated donor hematopoietic transplants. Killer immunoglobulin-like receptor. *Blood* 2002; 100: 3825–3827.
12. Giebel S., Locatelli F., Lamparelli T. i wsp. Survival advantage with KIR ligand incompatibility in hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors. *Blood* 2003; 102: 814–819.
13. Barrett A.J., Le Blanc K. Immunotherapy prospects for acute myeloid leukaemia. *Clin. Exp. Immunol.* 2010; 161: 223–232.
14. Gratwohl A., Stern M., Brand R. i wsp. Risk score for outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective analysis. *Cancer* 2009; 115: 4715–4726.
15. Sorror M.L., Giralt S., Sandmaier B.M. i wsp. Hematopoietic cell transplantation specific comorbidity index as an outcome predictor for patients with acute myeloid leukemia in first remission: combined FHCRC and MDACC experiences. *Blood* 2007; 110: 4606–4613.
16. Koreth J., Schlenk R., Kopecky K.J. i wsp. Allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission: systematic review and metaanalysis of prospective clinical trials. *JAMA* 2009; 301: 2349–2361.
17. Kurosawa S., Yamaguchi T., Miyawaki S. i wsp. Prognostic factors and outcomes of adult patients with acute myeloid leukemia after first relapse. *Haematologica* 2010; 95: 1857–1864.
18. Yanada M., Matsuo K., Suzuki T., Kiyoi H., Naoe T. Prognostic significance of FLT3 internal tandem duplication and tyrosine kinase domain mutations for acute myeloid leukemia: a meta-analysis. *Leukemia* 2005; 19: 1345–1349.
19. Thiede C., Koch S., Creutzig E. i wsp. Prevalence and prognostic impact of NPM1 mutations in 1485 adult patients with acute myeloid leukemia (AML). *Blood* 2006; 107: 4011–4020.
20. Schlenk R.F., Dohner K., Krauter J. i wsp. Mutations and treatment outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2008; 358: 1909–1918.
21. Green C.L., Koo K.K., Hills R.K., Burnett A.K., Linch D.C., Gale R.E. Prognostic significance of CEBPA mutations in a large cohort of younger adult patients with acute myeloid leukemia: impact of double CEBPA mutations and the interaction with FLT3 and NPM1 mutations. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28: 2739–2747.
22. Marcucci G., Mrozek K., Ruppert A.S. i wsp. Prognostic factors and outcome of core binding factor acute myeloid leukemia patients with t(8;21) differ from those of patients with inv(16): a Cancer and Leukemia Group B study. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 5705–5717.
23. Paschka P., Marcucci G., Ruppert A.S. i wsp. Adverse prognostic significance of KIT mutations in adult acute myeloid leukemia with inv(16) and t(8;21): a Cancer and Leukemia Group B Study. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 3904–3911.
24. Tallman M.S., Altman J.K. How I treat acute promyelocytic leukemia. *Blood* 2009; 114: 5126–5135.
25. Estey E. High cytogenetic or molecular genetic risk acute myeloid leukemia. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2010: 474–480.
26. Leopold L.H., Willemze R. The treatment of acute myeloid leukemia in first relapse: a comprehensive review of the literature. *Leuk. Lymphoma* 2002; 43: 1715–1727.
27. Breems D.A., Van Putten W.L., Huijgens P.C. i wsp. Prognostic index for adult patients with acute myeloid leukemia in first relapse. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 1969–1978.
28. Duval M., Klein J.P., He W. i wsp. Hematopoietic stem-cell transplantation for acute leukemia in relapse or primary induction failure. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28: 3730–3738.
29. Schmid C., Schleuning M., Schwerdtfeger R. i wsp. Long-term survival in refractory acute myeloid leukemia after sequential treatment with chemotherapy and reduced-intensity conditioning for allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2006; 108: 1092–1099.
30. Bornhauser M., Illmer T., Oelschlaegel U. i wsp. Gemtuzumab ozogamicin as part of reduced-intensity conditioning for allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with relapsed acute myeloid leukemia. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14: 5585–5593.
31. Pagel J.M., Appelbaum F.R., Eary J.F. i wsp. 131I-anti-CD45 antibody plus busulfan and cyclophosphamide before allogeneic hematopoietic cell transplantation for treatment of acute myeloid leukemia in first remission. *Blood* 2006; 107: 2184–2191.
32. Schlenk R.F., Dohner K., Mack S. i wsp. Prospective evaluation of allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation from matched related and matched unrelated donors in younger adults with high-risk acute myeloid leukemia: German-Austrian trial AMLHD98A. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28: 4642–4648.
33. Basara N., Schulze A., Wedding U. i wsp. Early related or unrelated haematopoietic cell transplantation results in higher overall survival and leukaemia-free survival compared with conventional chemotherapy in high-risk acute myeloid leukaemia patients in first complete remission. *Leukemia* 2009; 23: 635–640.
34. Gupta V., Tallman M.S., He W. i wsp. Comparable survival after HLA-wellmatched unrelated or matched sibling donor transplantation for acute myeloid leukemia in first remission with unfavorable cytogenetics at diagnosis. *Blood* 2010; 116: 1839–1848.
35. Walter R.B., Pagel J.M., Gooley T.A. i wsp. Comparison of matched unrelated and matched related donor myeloablative hematopoietic cell transplantation for adults with acute myeloid leukemia in first remission. *Leukemia* 2010; 24: 1276–1282.
36. Lee S.J., Klein J., Haagenson M. i wsp. High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. *Blood* 2007; 110: 4576–4583.
37. Szydlo R., Goldman J.M., Klein J.P. i wsp. Results of allogeneic bone marrow transplants for leukemia using donors other than HLA-identical siblings. *J. Clin. Oncol.* 1997; 15: 1767–1777.

38. Rocha V., Labopin M., Sanz G. i wsp. Transplants of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2004; 351: 2276–2285.
39. Eapen M., Rocha V., Sanz G. i wsp. Effect of graft source on unrelated donor haemopoietic stem-cell transplantation in adults with acute leukaemia: a retrospective analysis. *Lancet Oncol.* 2010; 11: 653–660.
40. Atsuta Y., Suzuki R., Nagamura-Inoue T. i wsp. Disease-specific analyses of unrelated cord blood transplantation compared with unrelated bone marrow transplantation in adult patients with acute leukemia. *Blood* 2009; 113: 1631–1638.
41. Frassoni F., Gualandi F., Podesta M. i wsp. Direct intrabone transplant of unrelated cord-blood cells in acute leukaemia: a phase I/II study. *Lancet Oncol.* 2008; 9: 831–839.
42. Caimi P.F., Reese J., Lee Z., Lazarus H.M. Emerging therapeutic approaches for multipotent mesenchymal stromal cells. *Curr. Opin. Hematol.* 2010; 17: 505–513.
43. Ballen K.K., Spitzer T.R., Yeap B.Y. i wsp. Double unrelated reduced-intensity umbilical cord blood transplantation in adults. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2007; 13: 82–89.
44. Ciceri F., Labopin M., Aversa F. i wsp. A survey of fully haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in adults with high-risk acute leukemia: a risk factor analysis of outcomes for patients in remission at transplantation. *Blood* 2008; 112: 3574–3581.
45. Bethge W.A., Haeghele M., Faul C. i wsp. Haploidentical allogeneic hematopoietic cell transplantation in adults with reduced-intensity conditioning and CD3/CD19 depletion: fast engraftment and low toxicity. *Exp. Hematol.* 2006; 34: 1746–1752.
46. Luznik L., O'Donnell P.V., Symons H.J. i wsp. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2008; 14: 641–650.
47. Feuchtinger T., Opher K., Bethge W.A. i wsp. Adoptive transfer of pp65-specific T cells for the treatment of chemorefractory cytomegalovirus disease or reactivation after haploidentical and matched unrelated stem cell transplantation. *Blood* 2010; 116: 4360–4367.
48. Allan S.E., Broady R., Gregori S. i wsp. CD4+ T-regulatory cells: toward therapy for human diseases. *Immunol. Rev.* 2008; 223: 391–421.
49. Litzow M.R., Tarima S., Perez W.S. i wsp. Allogeneic transplantation for therapy-related myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia. *Blood* 2010; 115: 1850–1857.
50. Schoch C., Kern W., Schnittger S., Hiddemann W., Haferlach T. Karyotype is an independent prognostic parameter in therapy-related acute myeloid leukemia (t-AML): an analysis of 93 patients with t-AML in comparison to 1091 patients with de novo AML. *Leukemia* 2004; 18: 120–125.
51. Koreth J., Aldridge J., Kim H.T. i wsp. Reduced-intensity conditioning hematopoietic stem cell transplantation in patients over 60 years: hematologic malignancy outcomes are not impaired in advanced age. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2010; 16: 792–800.
52. Bacigalupo A., Ballen K., Rizzo D. i wsp. Defining the intensity of conditioning regimens: working definitions. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2009; 15: 1628–1633.
53. Aoudjhane M., Labopin M., Gorin N.C. i wsp. Comparative outcome of reduced intensity and myeloablative conditioning regimen in HLA identical sibling allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for patients older than 50 years of age with acute myeloblastic leukaemia: a retrospective survey from the Acute Leukemia Working Party (ALWP) of the European group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Leukemia* 2005; 19: 2304–2312.
54. de Lima M., Anagnostopoulos A., Munsell M. i wsp. Nonablative versus reduced-intensity conditioning regimens in the treatment of acute myeloid leukemia and highrisk myelodysplastic syndrome: dose is relevant for long-term disease control after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2004; 104: 865–872.
55. Ferry C., Socie G. Busulfan-cyclophosphamide versus total body irradiation cyclophosphamide as preparative regimen before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia: what have we learned? *Exp. Hematol.* 2003; 31: 1182–1186.
56. Kashyap A., Wingard J., Cagnoni P. i wsp. Intravenous versus oral busulfan as part of a busulfan/cyclophosphamide preparative regimen for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: decreased incidence of hepatic venoocclusive disease (HVOD), HVOD-related mortality, and overall 100-day mortality. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2002; 8: 493–500.
57. de Lima M., Couriel D., Thall P.F. i wsp. Once-daily intravenous busulfan and fludarabine: clinical and pharmacokinetic results of a myeloablative, reduced-toxicity conditioning regimen for allogeneic stem cell transplantation in AML and MDS. *Blood* 2004; 104: 857–864.
58. Russell J.A., Duan Q., Chaudhry M.A. i wsp. Transplantation from matched siblings using once-daily intravenous busulfan/fludarabine with thymoglobulin: a myeloablative regimen with low nonrelapse mortality in all but older patients with high-risk disease. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2008; 14: 888–895.
59. Andersson B.S., de Lima M., Thall P.F. i wsp. Once daily i.v. busulfan and fludarabine (i.v. Bu-Flu) compares favorably with i.v. busulfan and cyclophosphamide (i.v. BuCy2) as pretransplant conditioning therapy in AML/MDS. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2008; 14: 672–684.
60. Andersson B.S., Valdez B.C., de Lima M. i wsp. Clofarabine +/- Fludarabine with Once Daily i.v. Busulfan as Pretransplant Conditioning Therapy for Advanced Myeloid Leukemia and MDS. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2011; 17: 893–900.
61. Valdez B.C., Li Y., Murray D., Champlin R.E., Andersson B.S. The synergistic cytotoxicity of clofarabine, fludarabine and busulfan in AML cells involves ATM pathway activation and chromatin remodeling. *Biochem. Pharmacol.* 2011; 81: 222–232.
62. Nemecek E.R., Guthrie K.A., Sorror M.L. i wsp. Conditioning with treosulfan and fludarabine followed by allogeneic hematopoietic cell transplantation for high-risk hematologic malignancies. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2011; 17: 341–350.
63. Alyea E.P., Kim H.T., Ho V. i wsp. Impact of conditioning regimen intensity on outcome of allogeneic hematopoietic cell transplantation for advanced acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2006; 12: 1047–1055.
64. Flynn C.M., Hirsch B., Defor T. i wsp. Reduced intensity compared with high dose conditioning for allotransplantation in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome: a comparative clinical analysis. *Am. J. Hematol.* 2007; 82: 867–872.
65. Ringden O., Labopin M., Ehninger G. i wsp. Reduced intensity conditioning compared with myeloablative conditioning using unrelated donor transplants in patients with acute myeloid leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27: 4570–4577.

66. Mohty M., de Lavallade H., Ladaique P. i wsp. The role of reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation in patients with acute myeloid leukemia: a donor vs no donor comparison. *Leukemia* 2005; 19: 916–920.
67. Schmitz N., Eapen M., Horowitz M.M. i wsp. Long-term outcome of patients given transplants of mobilized blood or bone marrow: a report from the International Bone Marrow Transplant Registry and the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood* 2006; 108: 4288–4290.
68. Thakar M.S., Forman S.J. ASH evidence-based guidelines: is there a role for second allogeneic transplant after relapse? *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2009: 414–418.
69. Levine J.E., Braun T., Penza S.L. i wsp. Prospective trial of chemotherapy and donor leukocyte infusions for relapse of advanced myeloid malignancies after allogeneic stem-cell transplantation. *J. Clin. Oncol.* 2002; 20: 405–412.
70. Schmid C., Labopin M., Nagler A. i wsp. Donor lymphocyte infusion in the treatment of first hematological relapse after allogeneic stem-cell transplantation in adults with acute myeloid leukemia: a retrospective risk factors analysis and comparison with other strategies by the EBMT Acute Leukemia Working Party. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25: 4938–4945.
71. Jabbour E., Giral S., Kantarjian H. i wsp. Low-dose azacitidine after allogeneic stem cell transplantation for acute leukemia. *Cancer* 2009; 115: 1899–1905.
72. Parmar S., Fernandez-Vina M., de Lima M. Novel transplant strategies for generating graft-versus-leukemia effect in acute myeloid leukemia. *Curr. Opin. Hematol.* 2011; 18: 98–104.