

Immunogenetyczny dobór dawcy allogenicznych krwiotwórczych komórek macierzystych

Immunogenetic donor-recipient matching for allogeneic stem cell transplantation

Anna Marosz-Rudnicka, Renata Mika-Witkowska, Elżbieta Graczyk-Pol,
 Agnieszka Długokęcka, Marta Rogatko-Koroś, Jacek Nowak

Zakład Immunogenetyki, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

Streszczenie

Allogeniczne przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych jest poprzedzone procedurą doboru rodzinnego lub niespokrewnionego dawcy. Dobór niespokrewnionego dawcy jest złożoną procedurą medyczną wykonywaną przez wyspecjalizowany ośrodek doboru dawców, wymagającą koordynacji badań i przepływu informacji między ośrodkiem leczącym chorego, ośrodkiem transplantacyjnym, rejestrami i ośrodkami dawców szpiku, laboratoriami oraz krajowym rejestrem centralnym. Sprawny i stale nadzorowany przepływ informacji umożliwia obecnie dobranie optymalnego pod względem immunogenetycznym i biologicznym dawcy dla około 85% potrzebujących chorych. Immunogenetyczna zgodność dawcy z biorcą jest warunkowana sekwencją aminokwasów w cząsteczkach ludzkich antygenów leukocytarnych (HLA) mającą swe odzwierciedlenie w genotypach dawcy i biorcy badanych na poziomie DNA. Najistotniejszym wskaźnikiem oceny przebiegu potransplantacyjnego jest całkowity czas przeżycia chorych, który zależy od stopnia zgodności HLA, jak również od cech biologicznych dawcy (wiek, płeć, liczba ciąż i przetoczeń preparatów krwiopochodnych, status CMV itp.) i liczby przeszczepionych komórek krwiotwórczych. Istotnym wyznacznikiem sukcesu transplantacji jest wykonanie przeszczepienia w remisji choroby, na co wpływają rozpoznanie choroby, termin podjęcia decyzji o wszczęciu procedury transplantacyjnej, dostępność zgodnego dawcy i sprawność przeprowadzenia procedury doboru, a także znajomość mocnych stron i ograniczeń systemu doboru dawcy. W pracy przedstawiono aktualne immunogenetyczne, biologiczne i organizacyjne uwarunkowania doboru dawcy komórek krwiotwórczych do transplantacji.

Słowa kluczowe: dobór dawcy, ludzkie antygeny leukocytarne, allogeniczne przeszczepienie, krwiotwórcze komórki macierzyste, dawca niespokrewniony, dawca rodzinny, rejestr dawców szpiku

Hematologia 2012; 3, 3: 211–220

Abstract

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is dependent on successful search and matching of family or unrelated donor. The search is a complex medical procedure, performed by dedicated search centers. For successful matching, fluent generation of tests' results and

perfect information flow is crucial and it must be strictly coordinated between the patient, transplant center, donor registries, donor centers, laboratories and a national hub. Efficient and persistently managed donor search procedure can be currently successful for as much as 85% of patients. Immunogenetic match is depended on amino acid sequence of human leukocyte antigens (HLA) molecules (phenotype) being in turn determined by the donor and recipient genotypes at DNA level. Chief measure of transplant outcome is overall survival of transplanted patients that is influenced by the level of HLA match and some biological features of the donor, such as age, sex, number of transfusions and pregnancies, CMV infection status, and a number of transplanted stem cells, between else. Transplantation in remission of disease is also highly relevant measure of transplant success and it is strongly dependent on the diagnosis, timing of the initial transplantation decision, availability of suitable donor, efficiency of donor matching, and recognition of weak and strong points of donor-recipient matching system. In this article current immunogenetics, biology and organization determinants and requirements of stem cell donor-recipient matching system have been presented.

Key words: donor-recipient matching, human leucocyte antigens, allogeneic transplantation, hematopoietic stem cells, unrelated donor, family donor, bone marrow donor registry

Hematologia 2012; 3, 3: 211–220

Wprowadzenie

Dobór rodzinnego lub niespokrewnionego dawcy allogenicznych krwiotwórczych komórek macierzystych (HSC, *hematopoietic stem cells*) jest dokonywany wyłącznie dla pacjentów, w przypadku których istnieją medyczne wskazania do zabiegu przeszczepienia takich komórek [1]. Podstawą immunogenetycznego doboru dawcy rodzinnego jest ścisła współpraca między ośrodkiem transplantacji komórek krwiotwórczych a laboratorium zgodności tkankowej i w około 30% przypadków obejmuje wykazanie pełnej zgodności co do ludzkich antygenów leukocytarnych (HLA, *human leukocyte antigens*) między biorcą a rodzinnym dawcą w zakresie *loci* A, B, C i DRB1 na poziomie antygenowym. Rodzinny dawca o takim stopniu zgodności jest uważany za optymalnego dawcę HSC.

W przypadkach braku rodzinnego dawcy o akceptowalnym stopniu zgodności immunogenetycznej chory jest kierowany na poszukiwanie i dobór niespokrewnionego dawcy, pod warunkiem istnienia wskazań do transplantacji od takiego dawcy. Dobór dawcy niespokrewnionego jest procedurą znacznie bardziej złożoną i oprócz lekarzy transplantologów i diagnostów doświadczonych w zakresie zgodności tkankowej wymaga również zaangażowania krajowego lub zagranicznych rejestrów niespokrewnionych dawców szpiku i/lub banków krwi pępowinowej, a także ośrodków dawców szpiku bezpośrednio kontaktujących się z potencjalnym dawcą i lokalnymi laboratoriami wykonującymi badania HLA, markerów chorób zakaźnych i serologii krwinki czerwonej.

W końcowej fazie doboru dawcy HSC istotna rola przypada ośrodkowi pobierającemu komórki krwiotwórcze do przeszczepienia, a także lekarzowi niezwiązanemu z zespołem transplantacyjnym, który ocenia przydatność zdrowotną i bezpieczeństwo dawcy. Przepływ informacji i próbek do badań koordynuje w tym przypadku wyspecjalizowany ośrodek doboru dawcy współpracujący bezpośrednio z ośrodkiem przeszczepowym, w czym niezwykle pomocny może być jednolity system informacyjny EMDIS (*European Marrow Donor Information System*) [2]. Nadrzędnym celem działania ośrodka doboru dawcy jest możliwie sprawny dobór niespokrewnionego dawcy, optymalnego pod względami immunogenetycznym i biologicznym.

Zgodne i niezgodne cząsteczki HLA

O funkcjonalnej zgodności HLA między dawcą a biorcą decyduje sekwencja aminokwasów cząsteczki białkowej (antygeny) HLA, która może być rozpoznana podczas odpowiedzi odpornościowej. Oznacza to, że wersje genetyczne tego samego *locus* (allele), kodujące tę samą sekwencję białkową, są fenotypowo zgodne również w przypadku różnicy sekwencji nukleotydów (niezgodności genotypowej) obejmującej substytucje synonimowe (tj. gdy różne triplety nukleotydów kodują ten sam aminokwas) i mimo różnej numeracji alleli [3]. Zakłada się również fenotypową zgodność cząsteczek HLA różniących się sekwencją aminokwasów, ale wyłącznie poza miejscem rozpoznania antygenowego (ARS, *antigen recognition site*). Miejsce to podlega interak-

cji z prezentowanym antygenem i receptorem komórki T (TCR, *T-cell receptor*) i ma największy wpływ na rozpoznanie immunologiczne. W praktyce dopuszcza się substytucje aminokwasów poza sekwencjami białkowymi kodowanymi w eksonach 2–3 genu klasy I i w eksonie 2 genu klasy II. Przykładem mogą być allele A*25:01:01/A*25:01:02/A*25:01:03/A*25:01:04/A*25:01:05/A*25:07 kodujące tę samą cząsteczkę białkową HLA w obszarze ARS. Fakt kodowania tej samej cząsteczki białkowej HLA bywa zapisywany poprzez dodanie litery P (*protein*) do symbolu allelu kodującego dane białko o najniższym numerze, na przykład A*25:01P dla podanej wyżej przykładowej grupy alleli.

Fenotypowa zgodność HLA, mimo różnic numerycznego zapisu wyników HLA i różnic sekwencji aminokwasów poza obszarem ARS między dawcą a biorcą, powinna być uwzględniona podczas akceptacji dawcy jako zgodność HLA [4].

Wskaźniki przebiegu potransplantacyjnego

Najistotniejszym wskaźnikiem oceny przebiegu potransplantacyjnego jest całkowity czas przeżycia (OS, *overall survival*) chorego. Pod uwagę bierze się również częstość występowania i stopień ciężkości ostrej i przewlekłej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (aGvHD/cGvHD, *acute/chronic graft-versus-host-disease*), a także śmiertelność związaną z leczeniem transplantacyjnym (TRM, *transplant-related mortality*) i ryzyko odrzucenia przeszczepu lub wznowy choroby podstawowej [5]. Zarówno OS, jak i pozostałe wskaźniki przebiegu potransplantacyjnego bardzo silnie zależą od stopnia zgodności HLA między biorcą a dawcą. Współzależność ta jest wykorzystywana do ustalenia strategii optymalnego leczenia pacjenta z uwzględnieniem ryzyka transplantacji HSC od najlepszego dostępnego dawcy w porównaniu z ryzykiem alternatywnego leczenia dostępnego dla pacjenta [6–8], w tym coraz szerzej dostępnej terapii celowanej [9].

Znaczenie kryteriów minimalnego akceptowalnego poziomu doboru dawcy

Kryteria minimalnego, akceptowalnego poziomu doboru dawcy HSC są wypracowywane przez ośrodki transplantacyjny adekwatnie do posiadanego doświadczenia w zakresie wykonywania trudnych przeszczepień, zwłaszcza o podwyższonym stopniu niezgodności HLA [5]. Kryteria te są brane pod uwagę przez ośrodek doboru dawców w celu ustalenia momentu wstrzymania kosztownej proce-

dury selekcji dawcy w przypadku wykazania braku zarówno optymalnego, jak i akceptowalnego, częściowo niezgodnego dawcy, tj. na etapie wykazania braku dawcy zgodnego na minimalnym akceptowalnym poziomie. Minimalne kryteria powinny być sformułowane przez ośrodek transplantacyjny możliwie liberalnie, lecz bez przekroczenia posiadanych kompetencji odnośnie do zapobiegania i leczenia powikłań nasilających się wraz ze stopniem niezgodności dawcy, w postaci ciężkiej aGvHD, rozległej cGvHD, powikłań infekcyjnych oraz odrzucania przeszczepu.

Zakres typowania HLA pary dawca–biorca jest zawsze uwarunkowany metodologicznie [10]. W latach 80. XX wieku wykonywano typowanie serologiczne (na poziomie antygenowym) w zakresie *loci* A, B i DR, a na przełomie lat 80. i 90. ubiegłego wieku upowszechniła się metoda genotypowania *locus* DRB1 na poziomie niskiej rozdzielczości. Typowano wówczas łącznie sześć swoistości w zakresie trzech *loci*, a minimalne kryterium stanowiło pięć zgodnych na sześć typowanych (5/6) swoistości A, B i DRB1. W miarę rozwoju technik genotypowania HLA i nabywania wiedzy odnośnie do oddziaływania niezgodności HLA uzupełniono zalecany zakres badań o *locus* C i DQB1, podjęto badania *locus* DPB1, a także zwiększono wymagania odnośnie do rozdzielczości z niskiej (poziom antygenowy) do wysokiej (poziom alleli). Początkowo badania o wysokiej rozdzielczości dotyczyły *loci* klasy II (DRB1 i DQB1), a następnie również klasy I (A, B oraz C). Najbardziej aktualne badania jednoznacznie wskazują, że przebieg potransplantacyjny może być lepszy dzięki zastosowaniu strategii doboru pary dawca–biorca o zwiększonym zakresie zgodności HLA, tj. powyżej pierwotnie przyjmowanego minimum z zastosowaniem doboru na wysokim poziomie rozdzielczości, doboru w zakresie HLA-C, DQB1, DPB1 i haplotypów HLA.

Kryteria minimalnego, akceptowalnego poziomu doboru dawcy HSC nie są wskazówką dla ośrodka doboru dawców sugerującą dobieranie dawcy o stopniu zgodności niższym od optymalnego. Przeciwnie, każdy ośrodek doboru dawców ma obowiązek dobierania dawcy o najwyższym możliwym stopniu zgodności, przy czym odsetek doborów zgodnych w zakresie dziesięciu spośród dziesięciu swoistości HLA (zgodność 10/10) w zakresie pięciu najważniejszych *loci* (A, B, C, DRB1 i DQB1) powinien być jak najwyższy.

Odsetek chorych, dla których dobierani są dawcy o stopniu zgodności 10/10, może stanowić kryterium efektywności ośrodka doboru dawców. Na podstawie danych zawartych w Biuletynie Poltran-

Tabela 1. Skuteczność doboru w pełni zgodnego dawcy komórek krwiotwórczych w latach 2007–2010 w ośrodkach kontraktowanych przez Poltransplant (metaanaliza na podstawie [11–14])**Table 1.** Efficacy of fully matched donor 10/10 search by Polish search centers in 2007–2010 (metaanalysis based on [11–14])

Ośrodek	n	10/10	≤ 9/10	%	OR	p	2007	2008	2009	2010
IHT	233	187	46	80,3	–	–	75%	76%	86%	83%
DCTK	290	202	88	69,7	1,77	0,0061	58%	67%	78%	69%
Medigen	394	238	156	60,4	2,66	0,00000045	54%	56%	61%	65%
CSK WUM	90	67	23	74,4	1,40	ns	2/4	74%	76%	76%

Różnicę w stosunku do ośrodka doboru dawców o najwyższym odsetku doborów 10/10 uznano za istotną statystycznie przy wartości $p < 0,05$; IHT — Instytut Hematologii i Transfuzjologii; DCTK — Dolnośląskie Centrum Transplantacji Komórkowych; CSK WUM — Centralny Szpital Kliniczny Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego; OR (*odds ratio*) — iloraz szans; ns — różnica nieznamienista

splantu z lat 2007–2010 można ocenić, że w ciągu ostatnich 5 lat odsetek ten wzrósł z 48–75% do 63–86% w różnych ośrodkach doboru dawców kontraktowanych przez Poltransplant (tab. 1). Obserwowane różnice między ośrodkami są spowodowane, z jednej strony, różną wartością wypracowanych szczegółowych procedur doboru, a z drugiej — zróżnicowanym poziomem wymagań ze strony ośrodków transplantacyjnych odnośnie do ostatecznego stopnia niezgodności immunogenetycznej akceptowanego w indywidualnych przypadkach.

W aktualnych wytycznych Europejskiej Grupy Przeszczepiania Krwi i Szpiku (EBMT, *European Group for Blood and Marrow Transplantation*) przyjęto, że mimo kumulacyjnego wpływu liczby niezgodności HLA zgodność w zakresie 9/10 swoistości jest równie akceptowalna, jak pełna zgodność wszystkich dziesięciu swoistości. Za pełną zgodność HLA uważa się zarówno 10/10, jak i 9/10 antygenów lub alleli z wyjątkiem *locus* DRB1, w odniesieniu do którego zaleca się, aby niezgodność nie przekraczała poziomu allelu [15, 16].

Z punktu widzenia skuteczności leczenia metodą allogenicznego przeszczepienia HSC (allo-HSCT, *allogeneic HSC transplantation*) istotny jest również odsetek pacjentów, dla których możliwe jest dobranie akceptowalnego dawcy (niezależnie od stopnia zgodności), a także czas trwania doboru i odsetek zaakceptowanych dawców pochodzących z rejestrów najbliższych etnicznie i geograficznie w stosunku do bardziej odległych.

Odsetek pacjentów, dla których dobrano dawcę zaakceptowanego przez lekarzy z ośrodków transplantacyjnych współpracujących z Instytutem Hematologii i Transfuzjologii w latach 2001–2006, wynosił 70% [17], a w latach 2009–2011 — 86%. W tym samym czasie, tj. między rokiem 2006 a 2011, liczebność dawców wytypowanych w za-

kresie A, B i DRB1 przynajmniej na niskim poziomie rozdzielczości w polskich rejestrach wzrosła z 18 do 261 tysięcy, a w Światowym Rejestrze Dawców Krwiotwórczych Komórek Macierzystych (BMDW, *Bone Marrow Donor Worldwide*), odpowiednio, z 7 do 16 milionów. Zatem, dzięki większej liczbie potencjalnych dawców w rejestrach oraz poprawie skuteczności doboru, liczba pacjentów, u których mimo istnienia wskazań do transplantacji komórek krwiotwórczych takiego leczenia nie można było zastosować z powodu braku niespokrewnionego dawcy, zmalała z 33% w 2005 roku do 11% w 2011 roku.

Czas trwania doboru, od otrzymania zlecenia do przedstawienia dobranego dawcy do akceptacji ośrodka transplantacyjnego, jest kolejnym czynnikiem wpływającym na skuteczność allo-HSCT. W trakcie trwania doboru może dojść do progresji choroby zasadniczej i wykonanie transplantacji w tym okresie pogarsza rokowanie [18]. Brakuje na ten temat aktualnych opracowań, tym niemniej w 2005 roku mediana czasu trwania doborów zakończonych akceptacją dawcy w Polsce wynosiła 30–32 dni (informacje ustne). W tym samym czasie zdecydowana większość doborów była finalizowana w ciągu 2–4 miesięcy, lecz niektóre doборы trwały ponad rok, w związku z niedostateczną liczebnością polskich i europejskich rejestrów niespokrewnionych dawców szpiku i częstym brakiem dawcy o stopniu zgodności 10/10 oraz wysokimi kryteriami akceptowalności dawcy w niektórych ośrodkach. Obecnie zdecydowana większość procedur doboru trwa krócej niż miesiąc. Wskaźniki te poprawiły się dzięki znacznie większej puli potencjalnych dawców dostępnych w polskich i międzynarodowych rejestrach.

Dobranie niespokrewnionego dawcy z rejestru polskiego dla chorego o pochodzeniu polskim lub europejskim jest korzystne z punktu widzenia im-

munogenetycznego i logistycznego. Rozpoznanie immunologiczne w układzie allogenicznym nie tylko polega na detekcji przez TCR allogenicznej cząsteczki HLA, ale również zależy od peptydu prezentowanego w kontekście HLA. Prezentowane peptydy są najczęściej fragmentami białek wewnątrzkomórkowych o najsilniejszej ekspresji i w przypadku polimorfizmu sekwencji białek mogą zostać rozpoznane przez TCR jako tak zwana swoistość pobocznych antygenów zgodności tkankowej (mHA, *minor histocompatibility antigens*), wzbudzając odpowiedź allogeniczną. Wyniki badań szerokiej sekwencji haplotypów głównego kompleksu zgodności tkankowej (MHC, *major histocompatibility complex*) potwierdzają, że w allogenicznym układzie, w którym dawca różni się od biorcy pochodzeniem etnicznym, istnieje większy polimorfizm wielu białek o silnej ekspresji tkankowej, co zwiększa ryzyko ich udziału w indukcji odpornościowej odpowiedzi allogenicznej.

Pośrednim potwierdzeniem znaczenia międzyetnicznego polimorfizmu prezentowanych białek jest skrócenie całkowitego przeżycia biorców HSC od dawców zgodnych w zakresie 10/10 alleli, ale z niezgodnymi haplotypami MHC [19] oraz fakt silnej współzależności między występowaniem swoistych haplotypów HLA a pochodzeniem etnicznym. W związku z tym dobranie polskiego dawcy dla chorego o tym samym pochodzeniu etnicznym może mieć korzystny wpływ na wynik transplantacji w porównaniu z doбором dawcy z rejestrów o większym dystansie genetycznym i geograficznym [20, 21].

Odsetek pacjentów, dla których w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii dobrano dawcę krajowego w latach 2001–2006, wynosił 21% [17], a w latach 2009–2011 wzrósł do średnio 42%, w tym w 2011 roku osiągnął 56%. Oprócz poprawy przebiegu potransplantacyjnego znacznie poprawiło to logistykę prowadzonych doborów i zabiegów transplantacji, zwłaszcza w przypadkach powikłanych odrzuceniem przeszczepu wymagającym leczenia z zastosowaniem infuzji limfocytów dawcy (DLI, *donor lymphocyte infusion*). Dobranie krajowego dawcy poprawia również istotnie ekonomikę procedury allo-HSCT.

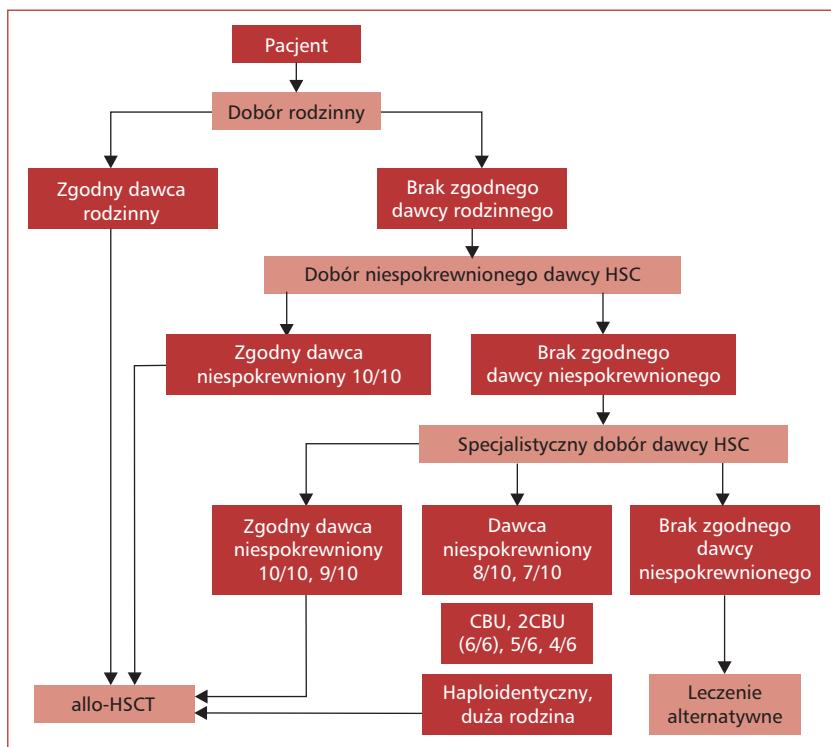
Procedura doboru allogenicznego dawcy

Krwiotwórcze komórki macierzyste do transplantacji mogą pochodzić od rodzeństwa pacjenta, niespokrewnionego dawcy, z krwi pępownikowo-łożyskowej lub od innego członka rodziny chorego. Stosowane obecnie algorytmy doboru dawcy są ukierunkowane na dobór dawcy o jak najwyższej zgodności HLA w połączeniu z jak najlepszymi cechami biologicznymi i wysoką dostępnością dawców.

Wstępnym etapem jest określenie występowania u chorego wskazania do allo-HSCT [1, 7–8], które powinno być uzupełnione wstępnym rodzinnym badaniem HLA chorego, jego rodzeństwa i rodziców w zakresie *loci* A, B i DRB1 na poziomie niskiej rozdzielczości. Badanie to jest refundowane przez Narodowy Fundusz Zdrowia (NFZ). Wynik badania może wykazać zgodność z chorym któregoś z członków rodziny w zakresie wszystkich sześciu badanych swoistości genotypu HLA (6/6). Najczęściej dotyczy to rodzeństwa. W takim przypadku konieczne jest wykonanie genotypowania potwierdzającego zgodność wyselekcjonowanej pary dawca–biorca w nowych próbkach krwi, w celu uniknięcia pomyłki administracyjnej. Konieczne jest jednoczesne rozszerzenie genotypowania obu osób przynajmniej o *locus* C (w niektórych krajach zaleca się również badanie *locus* DQB1) w celu potwierdzenia zgodności haplotypów HLA. Potwierdzenie zgodności czterech *loci* HLA (8/8 swoistości) jest równoznaczne z dobraniem optymalnego dawcy rodzinnego, a chory powinien zostać wtedy skierowany do przeprowadzenia allo-HSCT w wyspecjalizowanym ośrodku (ryc. 1). W przypadku braku zgodnego dawcy rodzinnego oraz istnienia wskazań do transplantacji HSC, również od dawcy niespokrewnionego, procedura doboru powinna być kontynuowana bez zbędnej zwłoki.

W przypadku braku całkowicie zgodnego dawcy rodzinnego zaleca się poszukiwanie niespokrewnionego dawcy zgodnego w 10/10 swoistości HLA w zakresie *loci* A, B, C, DRB1 i DQB1 na poziomie wysokiej rozdzielczości [22]. Niespokrewniony dawca o stopniu zgodności 10/10 powinien być preferowany w stosunku do dawców rodzinnych z jakąkolwiek niezgodnością HLA [23]. Pacjent powinien zostać skierowany do ośrodka posiadającego akredytację ministra zdrowia i kontrakt z NFZ na przeprowadzenie allo-HSCT od dawców niespokrewnionych w celu kwalifikacji do zabiegu i skierowania na poszukiwanie niespokrewnionego dawcy za pośrednictwem Centrum Organizacyjno-Koordynacyjnego ds. Transplantacji Poltransplant. Poltransplant zleca procedurę doboru niespokrewnionego dawcy zakontraktowanemu, wyspecjalizowanemu ośrodkowi doboru dawców (tab. 1), który działa w ścisłej współpracy z ośrodkiem transplantacyjnym, raportując kluczowe ustalenia w trakcie doboru.

Po otrzymaniu zlecenia doboru z Poltransplantu ośrodek doboru przeszukuje BMDW, ustala strategię i ocenia szansę dobrania zgodnego dawcy, a także sprowadza próbkę krwi chorego, by przeprowadzić genotypowanie potwierdzające i zleca rozszerzenie badania pięciu *loci* HLA do wysokiej rozdzielczości.



Rycina 1. Algorytm doboru dawcy krwiotwórczych komórek macierzystych (HSC); CBU — jednostka krwi pępowino-łożyskowej; allo-HSCT — allogeniczne przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych

Figure 1. Hematopoietic stem cell (HSC) donor-recipient matching algorithm; CBU — cord blood unit; allo-HSCT — allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

Porównanie wyników przeszukania bazy BMDW przed i po uwzględnieniu wysokiej rozdzielczości pozwala na wykazanie polimorfizmu HLA potencjalnych dawców na poziomie alleli, a także na określenie rejestrów, które posiadają potencjalnych dawców i ukierunkowuje dalsze badania. Istotne są również informacje otrzymywane bezpośrednio z rejestrów, gdyż zawierają identyfikator dawcy, jego wiek, płeć, a niekiedy również grupę krwi i status wirusa cytomegalii (CMV, *cytomegalovirus*). Dlatego ważne jest skrupulatne wyszczególnienie powyższych danych biologicznych chorego na zleceniu doboru. Dane chorego umożliwiają porównawcze wykorzystanie danych rejestrowych i wstępną selekcję potencjalnych dawców w zakresie niektórych cech biologicznych, takich jak status CMV czy grupa krwi, przed wykonaniem czasochłonnych i kosztownych badań. Badania rozszerzające mogą dotyczyć jednego, kilku lub wielu dawców oraz obejmować jedno lub kilka *loci* HLA. Ich celem jest wyjaśnienie polimorfizmu dawców lub poszukiwanie u dawców charakterystycznych dla chorego rzadkich sprzężeń haplotypowych między *loci* B-C, DRB1-DQB1 i innymi. Zjawisko silnej nierównowagi

sprzężeń między wszystkimi *loci* HLA sprawia, że etap rozszerzającego typowania wybranych *loci* HLA może być kluczowy dla znalezienia w pełni zgodnego dawcy.

Po zgromadzeniu wystarczających informacji (w najprostszycch przypadkach wystarczy przegląd bazy BMDW i raport z rejestru dawcy, powiązany z analizą danych populacyjnych) zleca się nadesłanie próbki krwi wybranego dawcy, w celu przeprowadzenia ostatecznego typowania potwierdzającego. Co istotne, równolegle z przesłaniem próbki od wyselekcjonowanego dawcy, w jego macierzystym ośrodku wykonuje się badania markerów chorób zakaźnych (wirus zapalenia wątroby typu B [HBV, *hepatitis B virus*], ludzki wirus niedoboru odporności [HIV, *human immunodeficiency virus*], wirus zapalenia wątroby typu C [HCV, *hepatitis C virus*], CMV, kiła), grupy krwi oraz zbierany jest aktualny wstępny wywiad odnośnie do zasadniczych kryteriów dyskwalifikujących i stanu immunizacji dawcy (liczba ciąż, przetoczenia krwi, itp.). Istotne informacje wraz z wynikami typowania potwierdzającego na poziomie wysokiej rozdzielczości dawcy i chorego są raportowane do ośrodka transplantacji szpiku

z propozycją akceptacji dawcy w przypadku zgodności 10/10.

Innym wynikiem pierwszej fazy doboru niespokrewnionego dawcy może być wykazanie braku pełnej zgodności wyselekcjonowanego dawcy. Przeprowadza się wówczas powtórny analizę dostępnych danych HLA potencjalnych dawców, obejmującą globalną bazę BMDW i szczegółowe raporty rejestrów krajowych w celu określenia szansy dobrania dawcy 10/10, a w przypadku braku potencjału — określenia szansy dobrania akceptowalnego częściowo niezgodnego niespokrewnionego [24] lub rodzinnego dawcy albo jednostek krwi pępowinowej zgodnych w zakresie sześciu, pięciu lub czterech spośród sześciu swoistości HLA-A, B i DRB1 (ryc. 1). Szczegółowy algorytm doboru dawcy z permisyczną niezgodnością HLA przekracza ramy niniejszego opracowania, ale należy stwierdzić, że próba dobrania każdego kolejnego akceptowalnego dawcy jest coraz mniej skuteczna i coraz bardziej czasochłonna. Z danych ośrodka doboru dawców Instytutu Hematologii i Transfuzjologii wynika, że o ile pierwszy dawca badany w trybie typowania potwierdzającego jest dobierany w 56% przypadków, o tyle drugi, trzeci i czwarty dawca zostaje zaakceptowany w, odpowiednio, 19%, 8% i 3% przypadków. Jak wspomniano, obecnie dla około 14% chorych nie udaje się dobrać akceptowalnego dawcy.

Czas upływający między rozpoznaniem choroby a wykonaniem transplantacji powinien być możliwie krótki w związku ze znacznie pogarszającymi się wynikami w przypadku wykonania transplantacji w nieoptymalnej fazie choroby [18]. Przedłużający się czas trwania doboru po niepowodzeniu jego pierwszej fazy wynika z konieczności badania najczęściej wielu dawców, u których nieznanie, a po zbadaniu najczęściej niezgodne z chorym, są niektóre swoistości HLA o wysokiej rozdzielczości. Może to oznaczać, że pacjent posiada unikatowe sprzężenia swoistości genetycznych niektórych *loci* lub unikatowy genotyp HLA na poziomie alleli. Racjonalnym postępowaniem jest wówczas zbadanie w zakresie wątpliwych *loci* (typowanie uzupełniające) reprezentatywnej próby, na przykład 10–25 spośród 100 lub więcej potencjalnych, słabo wytypowanych dawców raportowanych w BMDW oraz wzmocnienie informatywności badania poprzez określenie proporcji dawców niezgodnych do niezbadanych w zakresie alleli wątpliwego *locus*. Badanie reprezentatywnej próby potencjalnych dawców w trybie typowania uzupełniającego powinno być wykonane możliwie sprawnie, tj. w całej grupie jednocześnie, a w przypadku pacjentów z pilnym wskazaniem do przeprowadzenia transplantacji sprowadzenie

próbki i wykonanie ostatecznego typowania potwierdzającego powinno dotyczyć dwóch lub więcej wyselekcjonowanych dawców jednocześnie [5]. Liczne przykłady potwierdzają możliwość selekcji dawcy 10/10 lub 9/10 w reprezentatywnej grupie oraz brak skuteczności uporczywego badania dodatkowych dawców powyżej reprezentatywnej próby w przypadkach unikatowego genotypu HLA chorego [25].

Stopień wytypowania dawców zgromadzonych w rejestrach należy określić jako „wstępny”, obejmujący najczęściej tylko trzy *loci* HLA (A, B i DRB1) na niskim, antygenowym poziomie rozdzielczości. W ponad połowie procedur doboru informacje te nie wystarczają do selekcji dawcy do dalszych badań z powodu polimorfizmu niezbadanych *loci* i allelicznego polimorfizmu *loci* zbadanych na poziomie antygenowym. W sposób naturalny do dalszych badań preferowani są dawcy zbadani w zakresie dodatkowych *loci* i na podwyższonym poziomie rozdzielczości, co skraca czas i obniża koszty doboru. Jednak nie zawsze pozwala to na uwzględnienie cech biologicznych dawcy, takich jak wiek, płeć, liczba ciąży czy transfuzji. W przypadkach, gdy „słabiej” wytypowani dawcy wykazują lepsze cechy biologiczne, może się to stać przyczyną dobrania dawcy zgodnego, ale nieoptymalnego pod względem biologicznym. W tych przypadkach istotne jest określenie, czy względy kliniczne pozwalają na wykonanie dodatkowych badań dawców o lepszych cechach biologicznych przed przejściem choroby w nieoptymalną fazę.

W przypadkach braku potencjalnych dawców wytypowanych w zakresie HLA-A, -B i -DRB1 istnieje bardzo mała szansa na zgodność dawcy wytypowanego tylko w zakresie genów klasy I, tj. A i B. Obecnie rejestry raportujące do BMDW obejmują około 3 mln takich dawców. Szansa na pełną zgodność któregoś z dawców HLA-A, -B wzrasta około 8-krotnie ($p = 0,006$), gdy zgodne są również antygeny HLA-C [26].

W przypadku braku zgodnego dawcy w światowej bazie BMDW nie jest racjonalnym oczekiwaniem na zrekrutowanie odpowiedniego nowego dawcy w ramach bieżącej rekrutacji stale prowadzonej przez rejestry lub poprzez przedsięwzięcie nowej akcji rekrutacyjnej. Wiąże się to z faktem, że w BMDW dotychczas zgromadzono dane ponad 19 mln potencjalnych dawców szpiku, a w każdym miesiącu przybywa około 60 tysięcy nowych dawców. W związku z dotychczasowym brakiem odpowiedniego dawcy rekrutacja osoby o tak unikatowych cechach immunogenetycznych w przewidywalnym czasie jest niesłychanie mało prawdopodobna [5].

Tabela 2. Dane rejestrowe i wynik genotypowania potwierdzającego dawcy o stopniu zgodności 9/10 dobranego haplotypowo**Table 2.** Preliminary registry data and final confirmatory typing result of 9/10 allelic and haplotypically matched Italian donor

Pacjent/dawca	Nr próbki	Hp	A*	B*	C*	DRB1*	DQB1*
Dane rejestrowe							
F.D. (chora)	965K	a	02:01	39:06	12:03	16:01	05:02
		b	31:01	51:01	05:01	11:01	03:01
PR01-4173	Rejestr włoski	n	02	39	05	11	03
		a	32	51	12	16	05
Wynik doboru haplotypowego							
F.D. (chora)	965K	a	02:01	39:06	12:03	16:01	05:02
		b	31:01	51:01	05:01	11:01	03:01
PR01-4173	48M	a	02:01	39:06	12:03	16:01	05:02
		c	32:01	51:01	05:01	11:01	03:01

Hp (*haplotype assignment*) — literowe oznaczenia haplotypów; a, b, c (*haplotype codes*) — kody haplotypów; n.a. (*not assigned*) — nie oznaczono

W przypadku wykazania unikatowego genotypu HLA chorego i wyczerpania możliwości doboru dawcy o stopniu zgodności 10/10 i 9/10 możliwe bywa wykorzystanie wielkiego populacyjnego potencjału BMDW i próba przeprowadzenia haplotypowego doboru dawcy o stopniu zgodności 9/10 [27]. Podstawą takiego doboru jest obserwacja, zgodnie z którą pojedyncza niezgodność swoistości jednego z dystalnych *loci* haplotypu HLA (tj. A lub DQB1) jest mniej szkodliwa niż niezgodność swoistości centralnych *loci* haplotypu HLA [18]. Poniżej przedstawiono jeden ze sposobów haplotypowego doboru dawcy na przykładzie chorej z ostrą białaczką limfoblastyczną w drugiej całkowitej remisji.

U tej chorej, po przeszukaniu bazy BMDW (16 mln potencjalnych dawców wytypowanych w zakresie A, B i DRB1) oraz wykonaniu uzupełniającego genotypowania HLA-B o wysokiej rozdzielczości i C na poziomie antygenowym, wśród wszystkich 6 potencjalnie zgodnych dawców wykazano brak całkowicie zgodnego dawcy i obecność wyłącznie dawców o stopniu zgodności 8/10 i 7/10, przy czym wszyscy potencjalni dawcy posiadali niezgodny z chora haplotyp B*39:01-C*05. Po wykazaniu braku dawcy 10/10 i 9/10 przeszukano bazę BMDW z założeniem znalezienia dawcy z niezgodnością pojedynczego allelu/antygeny *locus* A lub DQB1 i zgodności wszystkich pozostałych swoistości. Ponieważ liczba dawców z jedną niezgodnością w *locus* A była bardzo duża, to możliwe było ujawnienie dawców zbadanych w zakresie pięciu *loci* na poziomie niskiej rozdzielczości. Przeprowadzono analizę haplotypową pacjenta przy użyciu oprogramowania PHASE KEY 1.0. Wybrano dawcę z zachowaną

częścią centralną haplotypu C-B-DRB1. Drugi haplotyp był potencjalnie całkowicie zgodny w zakresie pięciu *loci*. W tabeli 2 przedstawiono wstępne dane rejestrowe i ostateczny wynik genotypowania potwierdzającego na poziomie wysokiej rozdzielczości chorej i potencjalnego dawcy z Włoch dobranego haplotypowo, o stopniu zgodności 9/10.

Dobór haplotypowy jest ułatwiony po zastosowaniu populacyjnej analizy haplotypowej chorego przy użyciu oprogramowania PHASE KEY v. 1.0, opracowanego w Zakładzie Immunogenetyki Instytutu Hematologii i Transfuzjologii (oprogramowanie wraz z instrukcją obsługi dostępne u autorów). Ostatecznie u dawcy PR01-4173 wykazano niezgodność jednego wąskiego antygeny w *locus* A i zgodność wszystkich pozostałych alleli. Wynik wskazywał na zgodność jednego haplotypu w całości, jak również całej pozostałej części haplotypu niezgodnego w *locus* A. W ten sposób dobrano dawcę o stopniu zgodności 9/10, pochodzącego z puli dawców częściowo niezgodnych, nie zaś spośród dawców potencjalnie w pełni zgodnych.

W przytoczonym przykładzie przeprowadzona dodatkowo analiza sekwencji aminokwasów niezgodnych cząsteczek HLA *locus* A wykazała korzystną niezgodność KIR (*killer cell immunoglobulin-like receptor*) w kierunku przeszczepu przeciw gospodarzowi GvH (*graft-versus-host*) oraz nieobecność substytucji aminokwasów w pozycji 116 — okoliczności te niektórzy badacze uznają za korzystne dla biorcy z punktu widzenia przebiegu przeszczepu [28–30]. Modyfikacje doboru częściowo niezgodnych dawców pod względem zakresu ligacji KIR i substytucji aminokwasowych nie są

obecnie wymagane w związku z niejednoznaczny-
mi wynikami dotychczasowych badań klinicznych
w tym zakresie.

Innymi sposobami pokonywania trudności zwią-
zanych z brakiem zarówno optymalnego rodzinnego,
jak i niespokrewnionego dawcy komórek krwiotwór-
czych jest transplantacja jednej lub dwóch jednostek
krwi pępowinowej lub przeszczepienie haploidenty-
czne od członka rodziny chorego (*patrz* ryc. 1).

Transplantacja krwi pępowinowej łączy się
przeważnie z niezgodnością jednej lub dwóch spo-
śród sześciu cząsteczek HLA-A, B, DRB1 (zgod-
ność 5/6 lub 4/6), lecz niezgodności te są stosunko-
wo dobrze tolerowane z powodu niedojrzałości
i większej plastyczności immunologicznej w porów-
naniu z komórkami pochodzącymi od dorosłego
dawcy. Rekomendowanym poziomem zgodności
w przypadkach przeszczepień krwi pępowinowej
jest zgodność 6/6, 5/6 lub 4/6 swoistości zbadanych
w zakresie HLA-A i -B na poziomie antygenowym
oraz -DRB1 na poziomie allelicznym. Jednocześnie
zaleca się wykonanie badania A, B, C, DRB1 i DQB1
na poziomie alleli w celu umożliwienia racjonalnej
oceny zagrożenia aGvHD i odrzuceniem przeszczepu
[31]. W przypadkach transplantacji krwi pępo-
winowo-łożyskowej zasadniczym problemem czę-
sto staje się zbyt mała dawka komórek CD34+
w pojedynczej jednostce, wpływająca na brak wszcze-
pienia lub odrzucenie przeszczepu, zwłaszcza
u dorosłych biorców. Zalecaną obecnie minimalną
dawką jest $2,5\text{--}3 \times 10^7$ komórek jądrzastych na ki-
logram masy ciała biorcy, przy pomiarze przed za-
mrożeniem [31]. Niedobór dawki HSC działa syner-
gistycznie ze wzrostem liczby niezgodnych cząste-
czek HLA w przeszczepionej jednostce krwi
pępowinowej [32]. W celu pokonania trudności zwią-
zanych ze zbyt małą dawką komórek CD34+ wyko-
nuje się równoczesną transplantację dwóch jedno-
stek krwi pępowinowej, z których ostatecznie tylko
jedna odtwarza układ krwiotwórczy u biorcy. Rolą
drugiej jednostki jest prawdopodobnie współdziałanie
we wzbudzeniu tolerancji immunologicznej [33, 34].

Podsumowanie

Istotny wzrost liczebności zarejestrowanych
polskich dawców szpiku, który zaowocował możli-
wością dobrania akceptowalnego dawcy dla ponad
85% polskich pacjentów oczekujących na allo-HSCT,
jest niewątpliwym wspólnym sukcesem programów
finansowania rekrutacji dawców i ośrodków rekru-
tujących polskich dawców szpiku. Immunogene-
tyczny dobór dawcy allogenicznego HSC jest zło-
żoną procedurą medyczną, która oprócz dostępno-

ści dawców wymaga niezakłóconego przepływu in-
formacji immunogenetycznych i medycznych o pa-
cjencie i potencjalnych dawcach między wszystki-
mi podmiotami zaangażowanymi w poszukiwanie
i dobór dawcy oraz transplantację. Wysoką skutecz-
nością w zakresie jakości przepływu informacji ce-
chuje się zastosowanie informatycznego systemu
EMDIS oraz określenie indywidualnej odpowie-
dzialności za procedurę prowadzoną na rzecz dane-
go chorego koordynatorów po stronie ośrodka do-
bierającego, rejestru dawcy oraz ośrodka transplan-
tacyjnego i leczącego.

Selekcja optymalnego dawcy powinna być pro-
wadzona z uwzględnieniem hierarchii zgodności
HLA na równi z dostępnością i przydatnością bio-
logiczną dawców. Podstawą kryteriów akceptowal-
nego poziomu doboru dawcy powinny być zarówno
dane z piśmiennictwa na temat doświadczalnie
stwierdzonych wskaźników potransplantacyjnego
przebiegu w badaniach typu *case-control*, jak i wła-
sne doświadczenie ośrodków transplantacyjnych
w zakresie wykonywania przeszczepień trudnych,
zwłaszcza o podwyższonym stopniu niezgodności
HLA. Permisywność stopnia niezgodności immuno-
genetycznej między dawcą a biorcą HSC zależy rów-
nież od fazy choroby, w której wykonywana jest
transplantacja. W nieoptymalnej fazie choroby czę-
sto następuje znaczne skrócenie przeżycia chorych,
niezależnie od stopnia niezgodności immunogene-
tycznej. Sugeruje to konieczność położenia zasad-
niczego nacisku na wykonanie transplantacji w opty-
malnej fazie choroby zasadniczej, w stosunku do
uporczywego dążenia do doboru całkowicie zgodne-
go dawcy. Jest to szczególnie istotne w przypadku
rzadkiego genotypu HLA pacjenta i choroby o spo-
dziewanym wysokim ryzyku progresji.

Źródła finansowania

Praca była częściowo finansowana przez Naro-
dowe Centrum Nauki ze środków przeznaczonych
na naukę w ramach projektu N N402 351138.

Piśmiennictwo

1. Jędrzejczak W.W. Aktualne wskazania do przeszczepiania
krwiotwórczych komórek macierzystych. *Acta Haematol. Pol.*
2009; 40: 305–311.
2. Nowak J. Oczekiwania związane z ogólnopolską implementacją
systemu EMDIS. *Acta Haematol. Pol.* 2011; 42: 181.
3. Marsh S.G.E., Albert E.D., Bodmer W.F. i wsp. Nomenclature
for factors of the HLA system, 2010. *Tissue Antigens* 2010; 75:
291–455.
4. Bochtler W. WMDA Association framework for the implementa-
tion of HLA matching programs in hematopoietic stem cell do-

- nor registries and cord blood banks. *Bone Marrow Transplant.* 2010; 44: 1–6.
5. Bray R.A., Hurley C.K., Kamani N.R. i wsp. National Marrow Donor Program HLA matching guidelines for unrelated adult donor hematopoietic cell transplants. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2008; 14: 45–53.
 6. Koreth J., Schlenk R., Kopecky K.J. i wsp. Allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission: systematic review and meta-analysis of prospective clinical trials. *JAMA* 2009; 301: 2349–2361.
 7. Giebel S., Kružel T. Przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych w leczeniu ostrej białaczki limfoblastycznej u dorosłych. *Hematologia* 2012; 3: 40–48.
 8. Czerw T. Znaczenie allogenicznego przeszczepienia krwiotwórczych komórek macierzystych w leczeniu chłoniaki. *Hematologia* 2012; 3: 49–57.
 9. Deininger M., Schleuning M., Greinix H. i wsp.; for the European Blood and Marrow Transplantation Group (EBMT). The effect of prior exposure to imatinib on transplant-related mortality. *Haematologica* 2006; 91: 452–459.
 10. Nowak J., Mika-Witkowska R., Graczyk-Pol E. Genetic methods of HLA typing. W: Witt M., Dawidowska M., Szczepanski T. (red.). *Molecular aspects of hematologic malignancies*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg 2012: 325–339.
 11. Żalikowska-Hołoweńko J., Dudkiewicz M., Długokęcka A. Dobór niespokrewnionych dawców szpiku. *Biuletyn Informacyjny, Poltransplant* 2008; 16: 54–57.
 12. Żalikowska-Hołoweńko J. Dobór niespokrewnionych dawców szpiku. *Biuletyn Informacyjny, Poltransplant* 2009; 17: 64–68.
 13. Żalikowska-Hołoweńko J., Dudkiewicz M. Dobór niespokrewnionych dawców szpiku. *Biuletyn Informacyjny, Poltransplant* 2010; 18: 48–52.
 14. Dudkiewicz M., Perenc L., Żalikowska-Hołoweńko J. Dobór niespokrewnionych dawców szpiku. *Biuletyn Informacyjny, Poltransplant* 2011; 19: 38–42.
 15. Ljungman P., Urbano-Ispizua A., Cavazzana-Calvo M. i wsp. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: definitions and current practice in Europe. *Bone Marrow Transplant.* 2006; 37: 439–449.
 16. Nowak J., Wachowiak J. Genetic basis of donor-recipient matching in allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells. W: Witt M., Dawidowska M., Szczepanski T. (red.). *Molecular aspects of hematologic malignancies*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg 2012: 237–254.
 17. Nowak J., Graczyk-Pol E., Mika-Witkowska R., Zajko M., Rogatko-Koroś M., Sak-Budzisz J. Skuteczność poszukiwania przez Ośrodek Instytutu Hematologii i Transfuzjologii niespokrewnionych dawców komórek krwiotwórczych w krajowych i zagranicznych rejestrach w latach 2001–2006 dla pacjentów z ostrymi i przewlekłymi białaczkami. *Post. Nauk Med.* 2007; 20: 298–303.
 18. Petersdorf E.W., Gooley T., Malkki M., Horowitz M. Clinical significance of donor-recipient HLA matching on survival after myeloablative hematopoietic cell transplantation from unrelated donors. *Tissue Antigens* 2007; 69 (supl. 1): 25–30.
 19. Petersdorf E.W., Malkki M., Gooley T.A., Martin P.J., Guo Z. MHC haplotype matching for unrelated hematopoietic cell transplantation. *PLoS Med.* 2007; 4: e8.
 20. Nowak J., Mika-Witkowska R., Polak M. i wsp. Road-like pattern of HLA-ABDR-based genetic distances between populations. *Central Eur. J. Immunol.* 2008; 33: 114–119.
 21. Nowak J., Mika-Witkowska R., Polak M. i wsp. Allele and extended haplotype polymorphism of HLA-A, C, B, DRB1 and DQB1 loci in Polish population and genetic affinities to other populations. *Tissue Antigens* 2008; 71: 193–205.
 22. Nowak J. Rola niezgodności HLA w transplantacjach komórek krwiotwórczych. *Hematologia* 2010; 1: 49–58.
 23. Kanda J., Saji H., Fukuda T. i wsp. Related transplantation with HLA-1Ag mismatch in the GvH direction and HLA-8/8 allele-matched unrelated transplantation: a nationwide retrospective study. *Blood* 2012; 119: 2409–2416.
 24. Nowak J. Role of HLA in hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 42: 71–76.
 25. Tiercy J.M., Nicoloso G., Passweg J. i wsp. The probability of identifying a 10/10 HLA allele-matched unrelated donor is highly predictable. *Bone Marrow Transplant.* 2007; 40: 515–522.
 26. Nowak J., Mika-Witkowska R., Zajko M., Łopacz P. Reliability of HLA-Cw data collected in unrelated bone marrow registry and their usefulness for preliminary donor selection. *Int. J. Immunogen.* 2005; 32: 319–322.
 27. Nowak J. Dobór dawców komórek krwiotwórczych. W: Nowak J., Fabijańska-Mitek J. (red.). *Podstawy immunogenetyki transplantacyjnej*. Pro Pharmacia Futura, Warszawa 2012: 82–91.
 28. Ferrara G.B., Bacigalupo A., Lamparelli T. i wsp. Bone marrow transplantation from unrelated donors: the impact of mismatches with substitutions at position 116 of the human leukocyte antigen class I heavy chain. *Blood* 2001; 98: 3150–3155.
 29. 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.
 30. Ruggeri L., Mancusi A., Capanni M. i wsp. Donor natural killer cell allorecognition of missing self in haploidentical hematopoietic transplantation for acute myeloid leukemia: challenging its predictive value. *Blood* 2007; 110: 433–440.
 31. Kamani N., Spellman S., Hurley C.K. i wsp. HLA matching and outcome of unrelated donor umbilical cord blood transplants. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2008; 14: 1–6.
 32. Barker J.N., Scaradavou A., Stevens C.E. Combined effect of total nucleated cell dose and HLA match on transplantation outcome in 1061 cord blood recipients with hematologic malignancies. *Blood* 2010; 115: 1843–1849.
 33. Rocha V., Crotta A., Ruggeri A. i wsp. Double cord blood transplantation: extending the use of unrelated umbilical cord blood cells for patients with hematological diseases. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 2010; 23: 223–229.