

# Innovatív módszerek a gyermekkori vérképző őssejt-transzplantációban

Doktori értekezés

**Dr. Kállay Krisztián Miklós**

Semmelweis Egyetem  
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető:

Dr. Kriván Gergely, Ph.D., habilitált egyetemi docens

Hivatalos bírálók:

Dr. Bodó Imre, Ph.D., habilitált egyetemi docens

Dr. Szomor Árpád, Ph.D., klinikai főorvos

Komplex vizsga szakmai bizottság:

Elnök: Dr. Szabó András, MTA doktora, egyetemi tanár

Tagok: Dr. Mikala Gábor, Ph.D., főorvos

Dr. Vannay Ádám, Ph.D., tudományos főmunkatárs

Budapest  
2019

# TARTALOMJEGYZÉK

<b>RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE .....</b>	<b>6</b>
<b>1. BEVEZETÉS .....</b>	<b>8</b>
<b>1.1. Általános bevezetés .....</b>	<b>8</b>
<b>1.2. Leggyakoribb gyermekkori vérképző őssejt-átültetést igénylő csontvelő-     elégtelenségek .....</b>	<b>8</b>
1.2.1. <i>Súlyos aplasticus anemia .....</i>	<i>9</i>
1.2.2. <i>Myelodysplasticus syndromák .....</i>	<i>10</i>
1.2.3. <i>Juvenilis myelomonocyter leukemia .....</i>	<i>11</i>
<b>1.3. A vérképző őssejt-transzplantáció vírusos szövődményei és azok     innovatív kezelési lehetőségei.....</b>	<b>11</b>
1.3.1. <i>Az immunkompromittált állapot főbb jellemzői.....</i>	<i>11</i>
1.3.2. <i>Vírusos szövődmények klinikai jellemzői.....</i>	<i>12</i>
<b>1.4. Az antithymocyt-globulin terápia szerepe gyermekkori hematológiai     betegségekben.....</b>	<b>14</b>
<b>1.5. Köldökzsínórvér eredetű őssejt-transzplantáció veleszületett     betegségekben.....</b>	<b>15</b>
1.5.1. <i>Lesch-Nyhan syndroma .....</i>	<i>15</i>
1.5.2. <i>WHIM syndroma.....</i>	<i>16</i>
<b>2. CÉLKITŰZÉSEK.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1. Szerzett csontvelő-elégtelenséggel járó betegségek gyógyulási     eredményeinek összehasonlítása két időszakban.....</b>	<b>17</b>
<b>2.2. Vírus-specifikus T-sejt kezelésben részesült őssejt-transzplantált     betegek adatainak elemzése .....</b>	<b>17</b>
<b>2.3. Antithymocyt-globulin kezelés kardiológiai mellékhatásainak elemzése     őssejt-transzplantált betegekben .....</b>	<b>18</b>

2.4.	<b>Köldökzsínórvér-transzplantáció eredményességének értékelése experimentális indikációkban.....</b>	<b>18</b>
2.4.1.	<i>Lesch-Nyhan syndroma .....</i>	<i>18</i>
2.4.2.	<i>WHIM syndroma.....</i>	<i>19</i>
3.	<b>MÓDSZEREK.....</b>	<b>20</b>
3.1.	<b>Szerzett csontvelő-elégtelenséggel járó kórképek miatt végzett allogén vérképző őssejt transzplantáción átesett betegcsoport jellemzése .....</b>	<b>20</b>
3.2.	<b>Allogén vérképző őssejt-transzplantáción átesett betegek vírusfertőzéseinek bemutatása és kezelésük leírása .....</b>	<b>27</b>
3.3.	<b>Súlyos aplasticus anemia és graft versus host betegség miatt antithymocyta-globulin kezelést kapott betegcsoport .....</b>	<b>31</b>
3.4.	<b>Experimentális indikációkkal végzett köldökzsínórvér eredetű vérképző őssejt-transzplantációk.....</b>	<b>33</b>
3.4.1.	<i>Köldökvér-transzplantáció Lesch-Nyhan syndromában.....</i>	<i>33</i>
3.4.2.	<i>Köldökvér-transzplantáció WHIM syndromában.....</i>	<i>35</i>
3.5.	<b>Az elemzések során alkalmazott statisztikai módszerek.....</b>	<b>36</b>
3.6.	<b>Etikai megfontolások .....</b>	<b>37</b>
3.7.	<b>Orvosi helyesírás .....</b>	<b>37</b>
4.	<b>EREDMÉNYEK.....</b>	<b>39</b>
4.1.	<b>Szerzett csontvelő-elégtelenséggel járó kórképek miatt végzett allogén vérképző őssejt-transzplantáción átesett betegek túlélése .....</b>	<b>39</b>
4.2.	<b>Vírus-specifikus T-sejt kezelésben részesült betegek túlélési adatainak bemutatása.....</b>	<b>46</b>
4.3.	<b>Az antithymocyta-globulin bradycardiát okozó hatása .....</b>	<b>48</b>
4.4.	<b>Köldökzsínórvér-transzplantációk hosszú távú eredményei veleszületett betegségekben.....</b>	<b>51</b>
4.4.1.	<i>Lesch-Nyhan syndroma .....</i>	<i>51</i>
4.4.2.	<i>WHIM syndroma.....</i>	<i>52</i>

<b>5.</b>	<b>MEGBESZÉLÉS.....</b>	<b>54</b>
5.1.	Paradigmaváltás a gyermekkori szerzett csontvelő-elégtelenséggel járó kórképek kezelésében Magyarországon .....	54
5.2.	A vírus-specifikus T-sejt terápia, mint innovatív és hatékony kezelési lehetőség 56	
5.3.	Antithymocytoglobulin és bradycardia – veszélyes szövődmény? .....	59
5.4.	Köldökszínórvér-transzplantáció, mint megfontolandó lehetőség.....	61
5.4.1.	<i>Lesch-Nyhan syndrome</i> .....	61
5.4.2.	<i>WHIM syndrome</i> .....	62
<b>6.</b>	<b>KÖVETKEZTETÉSEK .....</b>	<b>65</b>
6.1.	Szerzett csontvelő-elégtelenségek .....	65
6.2.	Vírus-specifikus T-sejt terápia .....	65
6.3.	Antithymocytoglobulin és bradycardia .....	65
6.4.	Köldökvér-transzplantáció veleszületett betegségekben.....	66
6.4.1.	<i>Lesch-Nyhan syndrome</i> .....	66
6.4.2.	<i>WHIM syndrome</i> .....	66
<b>7.</b>	<b>ÖSSZEFOGLALÓ.....</b>	<b>67</b>
7.1.	Szerzett csontvelő-elégtelenségek .....	67
7.2.	Vírus-specifikus T-sejt terápia .....	67
7.3.	Antithymocytoglobulin és bradycardia .....	68
7.4.	Köldökvér-transzplantáció veleszületett betegségekben.....	68
7.4.1.	<i>Lesch-Nyhan syndrome</i> .....	68
7.4.1.	<i>WHIM syndrome</i> .....	68
<b>8.</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>69</b>
8.1.	Acquired bone marrow failure syndromes.....	69
8.2.	Virus-specific T-cell therapy.....	69

<b>8.3.</b>	<b>Antithymocyte globulin and bradycardia .....</b>	<b>70</b>
<b>8.4.</b>	<b>Cord blood transplantation in inborn errors.....</b>	<b>70</b>
8.4.1.	<i>Lesch-Nyhan syndrome.....</i>	<i>70</i>
8.4.2.	<i>WHIM syndrome.....</i>	<i>70</i>
<b>9.</b>	<b>IRODALOMJEGYZÉK.....</b>	<b>71</b>
<b>10.</b>	<b>SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE .....</b>	<b>87</b>
10.1.	<b>Az értekezéshez kapcsolódó közlemények.....</b>	<b>87</b>
10.2.	<b>Az értekezéshez nem kapcsolódó közlemények .....</b>	<b>89</b>
<b>11.</b>	<b>KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS .....</b>	<b>91</b>

## RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

- AdV: adenovírus
- ALL: acute lymphoid leukemia - akut lymphoid leukemia
- AML: acute myelogenous leukemia - akut myeloid leukemia
- ANC: absolute neutrophil count - abszolút neutrophil szám
- APRT: adenin foszforibozil-transzferáz
- ATG: antithymocytoglobulin
- AUC: area under the curve – görbe alatti terület
- BM: bone marrow - csontvelő
- CB: cord blood - köldökvér
- CML: chronic myelogenous leukemia - krónikus myeloid leukemia
- CMV: cytomegalovírus
- CNS: central nervous system – központi idegrendszer
- CT: computer tomography – számítógépes röntgenes rétegvizsgálat
- DLI: donor lymphocyte infusion – donor lymphocyt infúzió
- DNS: deoxy-ribonukleinsav
- EBV: Epstein-Barr vírus
- EKG: elektrokardiogram
- EWOG: European Working Group (of MDS and SAA) – európai munkacsoport
- G-CSF: granulocyte-colony stimulating factor -  
granulocyt-kolónia stimuláló faktor
- GVHD: graft versus host disease – graft versus host betegség
- IFN: interferon
- HLA: human leukocyt antigen
- HLA-MM: human leukocyt antigen mismatch – HLA nem-egyezés
- HPRT: hypoxantin foszforibozil-transzferáz
- HPV: human papilloma vírus
- HSCT: hematopoietic stem cell transplantation – vérképző őssejt-transzplantáció
- HSV: herpes simplex vírus
- IgG: immunoglobulin-G
- IVIg: intravenous immune-globuline – intravénás immunoglobulin

JMML: juvenilis myelomonocyter leukemia  
LNS: Lesch-Nyhan syndroma  
MAC: myeloablative conditioning – myeloablátív kondicionálás  
MDS: myelodysplasticus syndroma  
MDS-EB: myelodysplastic syndrome with excesss blast – MDS blast túlsúllyal  
MMF: mikofenolát mofetil  
MP: metilprednizolon  
MSD: matched sibling donor – egyező testvérdonor  
MUD: matched unrelated donor – egyező idegen donor  
PCR: polymerase chain reaction – polimeráz láncreakció  
PNH: paroxysmalis nocturnalis hemoglobinuria  
PBSC: peripheral blood stem cell – perifériás vér őssejt  
PCP: *Pneumocystis jirovecii* pneumonitis  
PID: primary immunodeficiency – primer immundefektus  
PTLD: post-transplantation lymphoproliferative disease  
RCC: refracter cytopenia of childhood – gyermekkori refrakter cytopenia  
RIC: reduced intensity conditioning – csökkentett intenzitású kondicionálás  
RNS: ribonukleinsav  
SAA: súlyos aplasticus anemia  
SLE: szisztémás lupus erythemathosus  
STR: short tandem repeat – rövid ismétlődő szakaszok (DNS vizsgálat)  
TCR: T-cell receptor – T-sejt receptor  
TDM: therapeutic drug monitoring – terápiás gyógyszerszint mérés  
VNTR: variable number tandem repeat – változó hosszúságú ismétlődő szakaszok  
VOD: veno-occlusive disease – veno-okkluzív betegség  
WBC: white blood count - fehérvérsejtszám  
WHIM: warts, hypogammaglobulinemia, infections, myelokathexis syndroma –  
szemölcsök, alacsony immunglobulin-szint, infekciók, myelokathexis  
syndroma  
WHO: World Health Organization – Egészségügyi Világszervezet  
XLP: X-linked lymphoproliferative disorder –  
X-hez kötött lymphoproliferatív betegség

## **1. BEVEZETÉS**

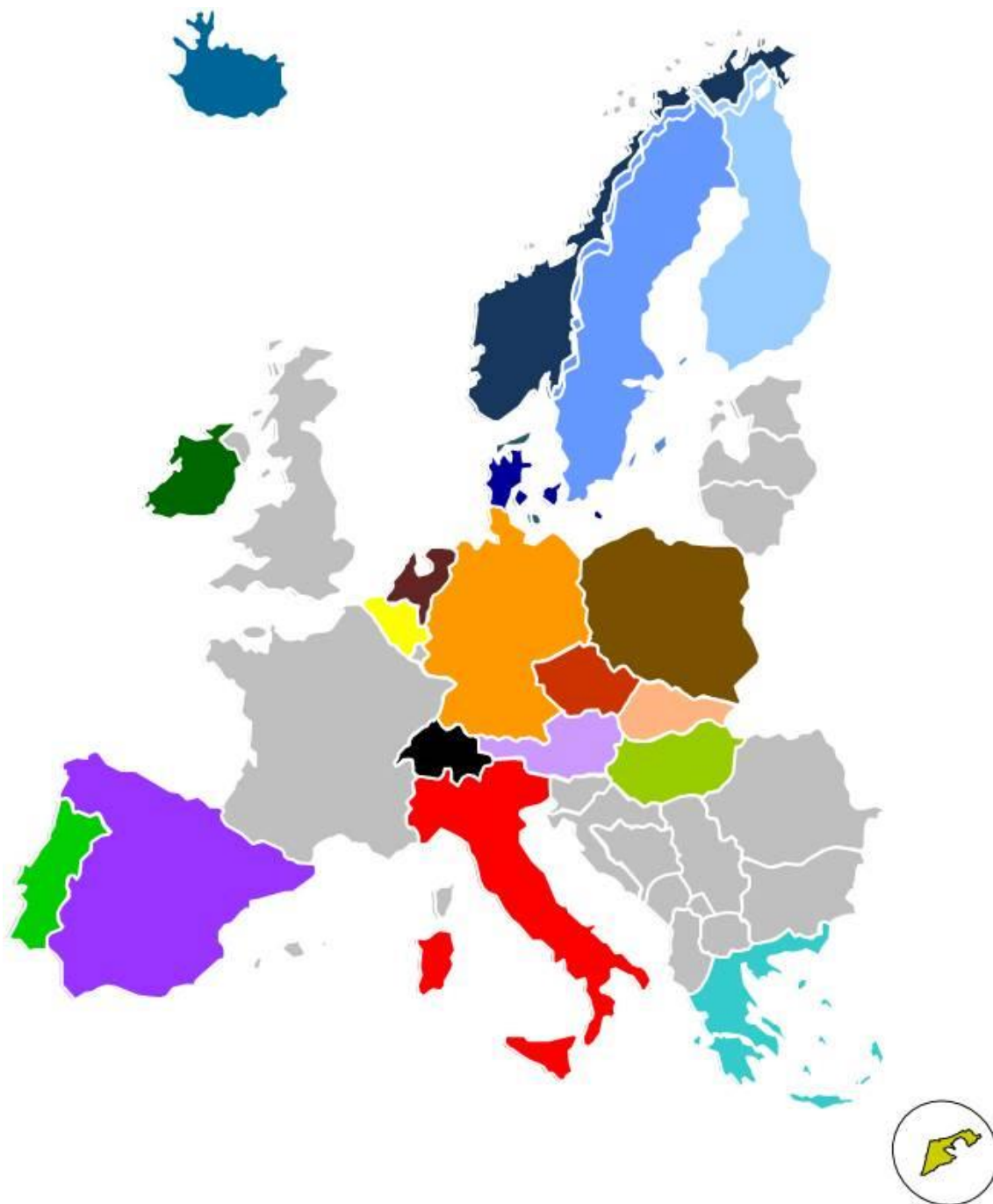
### **1.1. Általános bevezetés**

A vérképző őssejt-transzplantáció számos, kezelés nélkül gyakran halálos gyermekkori hematológiai, onkológiai, immunológiai és anyagcsere-betegség egyetlen hatékony gyógymódja. Az utóbbi években ezen a területen robbanásszerű fejlődés ment végbe, mely drámaian változtatta meg a beavatkozás kimenetelét, ennek következtében indikációit is. Szerző és munkatársai ezen a területen végzett két évtizedes munkásságuk gyümölcseinek eredményét mutatják be jelen tanulmányban.

### **1.2. Leggyakoribb gyermekkori vérképző őssejt-átültetést igénylő csontvelő-elégtelenségek**

A szerzett gyermekkori csontvelő-elégtelenséggel járó kórképek ritka, kezelés nélkül halálos betegségek. Magyarországon az összesített incidenciájuk éppen eléri az évi 10 esetet az ország gyermekpopulációjára vetítve. Ezek a betegségek a didaktikus besorolás alapján rendszerint a hematológiai kézikönyvek eltérő fejezeteiben kerülnek ismertetésre. Patomechanizmusuk, klinikai megjelenésük, diagnosztikájuk és kezelésük azonban sok hasonlóságot mutat (1). Következésképp, e heterogén betegségek diagnosztikáját és terápiáját a hasonló biológiai lefolyásuk okán világszerte erre dedikált munkacsoportok felügyelik. Magyarország jelen disszertáció szerzőjének vezetésével 2013-ban csatlakozott teljes jogú aktív tagként az európai EWOG csoporthoz (European Working Group of Childhood Myelodysplastic Syndromes and Severe Aplastic Anemia, EWOG-MDS és EWOG-SAA, 1. ábra). A Magyar Gyermekonkológiai Hálózat minden központjában bevezettük az egységes referencia diagnosztikát és a betegeket azonos elvek szerint kezeljük. Jelen írásunkban a csatlakozás óta kezelt betegek eredményeit tekintjük át, együtt tárgyalva a leggyakoribb szerzett csontvelő-elégtelenséggel járó kórképeket: a súlyos aplasticus anemiát, a gyermekkori myelodysplasticus szindrómákat és a juvenilis myelomonocyter leukemiát.





1. ábra: Az EWOG európai munkacsoport tagországai (szürkével a nem tag országok láthatók)

### 1.2.1. Súlyos aplasticus anemia

A súlyos aplasticus anemia (severe aplastic anemia, SAA) immunmediált patomechanizmusú kórkép, amelyben a dysregulált immunválasz célpontja a csontvelői vérképző őssejt. Éves incidenciája 0,7-1,5/millió gyermek (2), amely Magyarországon évi 2-3 új beteget jelent. A betegség teljes csontvelői aplasiát, következményes

háromvonalas pancytopeniát jelent, mely hosszútávon az étellel összeegyeztethetetlen (neutropeniás fertőzések, vérzések a hemosubstitutio nehézségei miatt). Standard kezelése HLA-identikus testvérdonor esetén az allogén vérképző őssejt-transzplantáció, alkalmas donor hiányában a kombinált immunsuppressív terápia. Ez utóbbi a ló vagy nyúl eredetű antithymocyt-globulin (ATG), a ciklosporin és a szteroidok alkalmazását jelenti. Ha még létezik csontvelői rezerv a kezelés időpontjában, az autoimmun T-sejt klón apoptosisa után a csontvelő regenerálódhat. Jelenleg első vonalbeli kezelésként - jobb hatékonysága miatt - ló eredetű ATG-t használunk (3, 4). Megfelelő terápiás választ az esetek nagyjából kétharmadában érünk el, azonban gyakori a visszaesés, ez esetben mentő kezelésként idegen donoros őssejt-transzplantáció jön szóba. Nem ritka a klonális evolúció, mely átmenetet jelent a myelodysplasticus syndromákba. A transzplantáció végleges gyógyulást jelenthet; hosszú távú szövődménye a krónikus graft versus host betegség, valamint a kemoterápia okozta másodlagos malignitások.

### *1.2.2. Myelodysplasticus syndromák*

A felnőttkorban domináns „high-grade” vagy „advanced” myelodysplasticus syndromák (MDS) gyermekkorban ritkábban fordulnak elő. Gyermekkorban ritkán előfordul az MDS blast túlsúllyal (excess blast, MDS-EB), ezen belül MDS-EB1 5-9% közötti, MDS-EB2 10-19% közötti csontvelői blasttal (5). Még ritkább a sideroblastos, 5q- MDS, a besorolhatatlan MDS/MPD betegségek és a szekunder MDS. Az időskorban gyakran jellemző palliatív ellátás gyermekkorban nem választható, hanem a gyógyulásra törekedve myeloablatív (a csontvelői vérképzést teljesen elpusztító) kondicionálással előkészített vérképző őssejt-transzplantációt végzünk (6). A myeloablatív kondicionálásban alapszerként alkalmazott alkilálószeres (buszulfán, ciklofoszfamid, melfalán) fokozzák a transzplantációs mortalitást, gyakran okoznak veno-okkluzív betegséget (VOD) vagy transzplantációhoz társult microangiopathiát (7). A kezelést újabban személyre szabott gyógyszeradagolással tesszük tolerálhatóvá (az igen mérgező buszulfán alkilálószer szintmérés és görbe alatti területszámítás utáni adagolásával: therapeutic drug monitoring, TDM).

A nemzetközi eloszlási adatok szerint a myelodysplasticus syndromák összesített incidenciája Magyarországon évi 8-10 gyermekbeteget kell jelentsen (2), ezek többségét nem az „advanced” MDS-ek adják. A súlyos aplasticus anemiától és az előrehaladott MDS-ektől is határozottan megkülönböztethető a gyermekkori hypocellularis

myelodysplasticus syndroma. Aplasticus anemia klinikai képében jelenik meg, sőt sokszor a szövettani kép is arra emlékeztet. Jellemzője a három sejtvonalas csontvelői elégtelenség. A súlyos, gyakran teljes neutropenia miatt bakteriális és gombafertőzések, thrombocyta szubsztitúció refrakter állapot miatt súlyos vérzések, a sorozatos masszív transzfúziók miatt vastúlterhelés fenyegeti a gyermekek életét. Kezelés nélkül heteken, hónapokon belül halálos kórkép. A felnőttkori myeloid malignus betegségektől eltérő patológiai és klinikai jellemzői miatt az EWOG a „refractory cytopenia of childhood” (RCC) provizórikus elnevezést javasolta, mely a WHO 2016-os klasszifikációjában meg is jelent (5, 8). Ez a leggyakoribb entitás gyermekkorban (előfordulása több, mint 50%), korábban mégis súlyos aplasticus anemiaként (immunsuppressio), vagy előrehaladott MDS-ként (myeloblativ transzplantáció) kezelték. Előbbi esetben a szerényebb terápiás válasz miatt a sok infekciós szövődmény, utóbbiban a túlzott kemoterápia okozta toxicitás sok beteg halálához vezetett. A betegség biológiájához illesztett, redukált intenzitású kondicionálással végzett vérképző őssejt-transzplantáció áttörést hozott e gyermekek túlélésében (9).

### *1.2.3. Juvenilis myelomonocyter leukemia*

A juvenilis myelomonocyter leukemia ritka, dominánsan kisdedkorban jelentkező myeloproliferatív betegség. A betegség hátterében az áll, hogy különböző genetikai eltérések miatt (PTPN11, CBL, NRAS, KRAS, NF1) a myeloid progenitorok fokozott érzékenységet mutatnak a granulocyta-macrophag kolóniastimuláló faktor fiziológiás hatásával szemben. Magyarországon évi 1-2 beteg fordul elő (2). Kezelés nélkül halálos myeloproliferatív betegség, egyetlen gyógymódja a myeloablativ kondicionálást követő allogén vérképző őssejt-transzplantáció.

## **1.3. A vérképző őssejt-transzplantáció vírusos szövődményei és azok innovatív kezelési lehetőségei**

### *1.3.1. Az immunkompromittált állapot főbb jellemzői*

Számos gyermekkori hematológiai, immunológiai és anyagcserebetegség egyetlen gyógymódja a vérképző őssejt-transzplantáció. Az utóbbi években innovatív módszerek jelentek meg a mindennapi klinikai gyakorlatban: transzplantáció nem csak HLA-egyező idegen donorral, hanem csak félig egyező, haploidentikus családi donorral,

közösségekben tárolt köldökvérrel, T-sejt receptor (TCR) alfa-béta negatív immunmagnetikus szelekcióval, poszttranszplantációs ciklofoszfamid adásával stb. Ezeknek az eljárásoknak köszönhetően egyre több beteg rendelkezhet megfelelő donorral és válhat alkalmassá a transzplantációra.

A vérképző őssejtek infúzióját követően 2-3 hét múlva bekövetkezik a megtapadás, az engraftment. Ez a neutrophil granulocyták megjelenését jelenti a vérképben, valójában sokkal fontosabb a sejtek elterjedése a szövetekben. A beteg steril izolációját megszüntetjük, bakteriális és gombainfekciókkal szemben kevésbé védtelen, sok esetben otthonába is távozhat. Az ezt követő időszak azonban nem mentes a fertőzésektől. A neutrophil és NK-sejtek viszonylag hamar megjelennek, de az igazi immunreguláló funkciókat ellátó T-sejtek érkezésére hónapokig várni kell. A cytotoxikus CD8+ és a helper CD4+ T-sejtek a 100. napnál hamarabb nagyon ritkán, inkább a 200. nap környékén jelennek meg. Ez az időszak súlyos T-sejt hiányos immunkompromittált állapotot jelent, mely magyarázatul szolgál az erre az időszakra jellemző vírusinfekciókra (10).

### *1.3.2. Vírusos szövődmények klinikai jellemzői*

Korábban lezajlott fertőzések eredményeként cytomegalovírus (CMV), adenovírus (AdV) és Epstein-Barr vírus tartósan perzisztál a szervezetünkben, melyet az immunkompetens egyénben a működő T-sejtes védelem kontrollál. Ennek hiánya esetén a vírus reaktiválódik, és a primer infekcióhoz hasonló, sok esetben súlyosabb kórképet hoz létre. A reaktiváció kimutatására és a vírusbetegség megelőzésére surveillance szűrővizsgálatot végzünk: hetente PCR-vizsgálattal monitorizáljuk a vírusok megjelenését minden rizikóbetegnél. Vírus kópiaszám emelkedésnél antivirális kezelést indítunk (ganciklovirt vagy foszkarnetet CMV esetén és cidofovirt AdV esetén), vagy monoklonális antitest-kezeléssel pusztítjuk el az EBV gazdasejtjeül szolgáló B-sejteket. (11-13). Nem csak reaktiváció, hanem új fertőzés is jelentkezhethet: akár a donor őssejt-graftjával is érkezhethet vírus, de nem lehetetlen új transzmisszió a környezetből sem. Ez utóbbi esetben számolhatunk a legsúlyosabb problémákkal: a donor nem rendelkezik specifikus védelemmel a vírus ellen, és új infekció esetén a legmagasabb a vírus kópiaszáma is. Az ilyen súlyos, progresszív vagy refrakter esetek a hagyományos antivirális terápia kudarcát jelentik, ezek a betegek csak sejterápia segítségével menthetők meg.

Az optimális megoldás az lenne, ha az eredeti őssejt-donortól tudnánk olyan donor lymphocytá infúziót (DLI) adni, ami nagy számban tartalmazza az adott vírus ellen specifikus T-lymphocytákat (14, 15). A donor immunkompetens sejtjeinek beadása elvben graft-versus-host betegséget (GvHD) okozhat, de az eddigi tapasztalatok szerint ez szerencsére csak igen kevés esetben jelentkezik. A probléma ezzel a megközelítéssel technikai: a transzplantációk többségét jelenleg HLA-identikus idegen donorral végezzük, és ezeknek a donoroknak az ismételt donációját etikai szabályok korlátozzák. Engedély esetén is jelentős időt kell szánnunk a szervezésre, szállításra. Időt veszíthetünk akkor is, ha a donor T-sejtjeit in vitro stimuláljuk és tenyésztjük: az ezzel a módszerrel a specifikus T-sejtek előállítására ideje 3-10 hét, eközben a vírusbetegség progrediálhat és letális is lehet, ez az időtartam nem elfogadható ebben a betegségcsoportban (16, 14, 17-19, 15, 20). Másik megközelítés szerint gyakori HLA-haplotípusú egészséges önkéntes donorokból állítanak össze vírus-specifikus T-sejt „bankot”: ezek a sejtek azonnal rendelkezésre állnak, a „polcról” használhatóak. Az előállítás és bankolás technikai és regulációs nehézségei miatt ez a módszer csak néhány speciális központban működik (16, 21, 22, 19, 15, 20).

A fenti szempontok miatt égető szükség volt egy innovatív, gyors módszerre, mely pár nap alatt a betegágy mellett megvalósítható (23-31, 19, 20) A megfelelő családi donor megtalálása után a reaktivált vírus-specifikus memória T-sejteket egy zárt rendszerben működő automata rendszer izolálja immunmagnetikus módszerrel kevesebb, mint 24 óra alatt (CliniMACS® Prodigy Cytokine Capture System (IFN-gamma; CCS)). Az indikáció felállításától a donorok szűrésén és az apheresisen át a termék szelekciójáig és végső előállításáig az egész folyamat néhány napot vesz igénybe, ritkán tart egy hétig. Ezért kimondottan alkalmas kritikus klinikai helyzetben való gyors segítségnyújtásra. Közleményben mutattuk be ennek az innovatív módszernek a hatékonyságát és biztonságosságát az osztályunkon elvégzett beavatkozások kapcsán egy egyéves periódusban. Figyelemre méltó, hogy a hatékonyság még akkor is egyértelmű volt, amikor a recipiens és donor között igazolt HLA-egyezés nem állt fenn (32).

#### **1.4. Az antithymocytoglobulin terápia szerepe gyermekkori hematológiai betegségekben**

Az antithymocytoglobulin (ATG) a hematológiában évtizedek óta alkalmazott immunosuppressív gyógyszer. Két fő indikációval használjuk: egyrészt allogén vérképző őssejt-transzplantáció esetén a graft versus host betegség (GVHD) és a kilökődés megelőzésére (33), másrészt szerzett súlyos aplasticus anemiában -testvérdonor hiánya esetén -az autoreaktív T sejtek elpusztítására (34-36). A jelenleg emberi felhasználásra engedélyezett ATG termékek az emberi T-lymphocyták ellen nyúlban (Grafalon, korábban ATG Fresenius Neovii Biotech GmbH., Munich, Germany; Thymoglobulin, Sanofi, korábban Genzyme Corporation, Cambridge, Massachusetts, USA) vagy lóban (ATGAM, Pfizer Corporation, New York, NY, USA) termelt poliklonális antitestek.

Az ATG elsődleges hatása bizonyos T-sejt klónok elpusztítása. Az antitestek a T-sejtek felszínén lévő, az aktivációs kaszkádban szerepet játszó sejt felszíni markereket ismerik fel (CD2, CD3, CD4, CD8, CD11a, CD18, CD25, HLA-DR stb.). Az így megjelölt sejtek komplement-mediált sejtlyzisz, Fc-mediált opsonisatio és phagocytosis útján távolítódnak el a vérből. Az eliminációs féleletidő 3 és 14 nap között változik. A T-sejt alcsoportok többsége többnyire 100 nap alatt újra képződik, de az abszolút T-helper sejtszám akár 200 napig is súlyosan alacsony maradhat. Vérképző őssejt-transzplantáció esetén ezt a folyamatot számos transzplantációs tényező módosíthatja. Az ATG-nek nincs tisztázott hatása a B-sejtekre.

Az aplasticus anémia kezelésével foglalkozó jelenlegi irányelvek ló eredetű ATG-t ajánlanak első vonalbeli kezelésnek, annak egyértelműen nagyobb klinikai hatékonysága miatt (37, 38). Ugyanakkor a vérképző őssejt-transzplantációs protokollok többségében nyúl eredetű ATG-t javasolnak. E készítményeket több, mint 3 évtizede széles körben használják, ezért a mellékhatás profiljuk feltérképezettnek tekinthető (elsősorban lymphopenia, leukopenia, thrombocytopenia, allergiás reakciók, szérumbetegség és fertőzések). Munkacsoportunk 2007-től több betegnél az ATG adását követően súlyos bradycardiát figyelt meg. A szakirodalomban keresve egyetlen esetismertetést találtunk 2011-ből (39), mely alátámasztotta megfigyelésünket és klinikai vizsgálat megtervezésére ösztönzött minket (40).

## 1.5. Köldökzsínórvér eredetű őssejt-transzplantáció veleszületett betegségekben

### 1.5.1. Lesch-Nyhan syndroma

A Lesch-Nyhan syndroma (LNS) egy krónikus progresszív fejlődésneurológiai betegség, mely motorikus és viselkedés béli funkciózavarokat okoz (Online Mendelian Inheritance in Man azonosító: #300322). A betegség X kromoszómához kötött recesszív módon öröklődik, az érintett fiúknál mentális retardáció, megkésett fejlődés, extrapyramidális motorikus zavarok és öncsonkító viselkedés figyelhető meg. Az állapot súlyossága egy széles spektrum mentén oszlik meg, az enyhe formától (Kelley-Seegmiller) a súlyos betegségig. A legsúlyosabb forma, az ajkak és az ujjak roncsoló rágásával komoly terhet ró a betegre és családjára egyaránt (41, 42).

Több ezer mutáció okozhatja a hypoxantin-guanin foszforibozil-transzferáz enzim (HPRT) csökkent működését, ezáltal a húgysav termelés jelentős emelkedését eredményezve (43). A hyperuricemia a szervezetben ízületi gyulladással, bőreltérésekkel és vesekövekkel járhat, a szintet a vérben allopurinol vagy urát-oxidáz adásával tudjuk csökkenteni. Nem tisztázott pontosan, hogy a HPRT enzim hiánya hogyan hozza létre a színes neurológiai tünetegyüttest. Neurokémiai és képalkotó vizsgálatokkal a bazális ganglionok dopaminerg neuronjainak kóros működését mutatták ki.

A vérképző őssejt-transzplantációt sikerrel alkalmaztuk más fejlődésneurológiai eltérést okozó veleszületett anyagcsere-rendellenességekben, és mára első választandó kezelés lett olyan progresszív neurológiai vagy mentális leromlással járó betegségekben, mint a mucopolysacharidosisok családjába tartozó enzimdefektusok (pl. Hurler-betegség) vagy a peroxisomás betegségekhez tartozó adrenoleukodystrophiák (X-ALD). A csontvelői őssejtből származó, mezodermális eredetű monocyták keresztül tudnak hatolni a vér-agy gáton (állábakat képezve mintegy széttolják az endothel sejteket, és köztük jutnak be az agyba, az endothel „tömítést” végig fenntartva). A vér monocytái a szövetekben szövet- és szerv-specifikusan macrophag sejtekké differenciálódnak: a májban Kupffer-sejtek, a csontban osteoclastok, az agyban a microglia sejtek fejlődnek ki. Vérképző őssejt-transzplantáció után hetekkel-hónapokkal donor eredetű microglia sejteket lehet kimutatni a recipiens agyszövetében. Ezek a sejtek nem osztoznak a beteg genetikai deficitjében, ezért normális enzimaktivitást mutatnak: a felhalmozott toxikus anyagcseretermékeket eltávolítják, így azok szintje normalizálódhat (44, 45). Mindeztidáig azonban nem sikerült bizonyítani ennek a terápiának a hatékonyságát Lesch-

Nyhan syndromában (46-48). Osztályunkon sikerrel végeztük el az első ilyen transzplantációt, mely, ha nem is a beteg teljes tünetmentességét, de betegségének szignifikáns enyhítését hozta.

### 1.5.2. WHIM syndroma

A WHIM syndroma (*warts*, mint szemölcsök; *hypogammaglobulinemia*; *infekciók-myelokathexis*, (OMIM 193670)) egy autosomalisan dominánsan öröklődő primer immundeficiencia (PID), melynek oka a CXCR4 chemokin receptor 4 (CXCR4) hiperaktív működése (49-51). A CXCR4 receptor és ligandja, a stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) központi szerepet játszik a csontvelői őssejtek csontba horgonyzásában, lymphocyták mobilizálásában és a fejlődő neutrophilek útra bocsátásában (52). A receptor csonkító mutációja hibás jelátvitelt okoz, ezáltal csontvelőben myelokathexis (myeloid hyperplasia) alakul ki. Ugyanakkor a perifériás vérben neutropenia, B-sejtes lymphopenia, alacsonyabb immunoglobulin-szintek mutathatók ki, amely visszatérő infekciókat és a humán papillomavírus (HPV) fertőzésekre való fokozott hajlamot eredményez. A kezelés fő célja az infekciók visszaszorítása és megelőzése. A granulocytá-stimuláló faktor (G-CSF) a keringő neutrophilek számának emelkedését és szinten tartását okozza, a hypogammaglobulinaemia vénás vagy subcutan immunoglobulin-készítménnyel korrigálható. A beteg prognózisa a korai diagnózistól, a dyplastikus HPV elváltozások felismerésétől és a visszatérő bakteriális infekciók kontrolljától függ. Ez utóbbiak progresszív tüdőállapot romlást és végső soron halált okozhatnak.

Közleményünk írásáig 37 WHIM syndromás beteg klinikai adatait közölték le, és tudomásunk szerint egyikük sem részesült vérképző őssejt-transzplantációban (hematopoietic stem cell transplantation, HSCT) (53). Osztályunkon elvégeztük az első ilyen sikeres transzplantációt egy genetikailag igazolt, inkomplett megjelenésű WHIM syndromás kislánynál (a szemölcsök hiányoztak).



## **2. CÉLKITŰZÉSEK**

### **2.1. Szerzett csontvelő-elégtelenséggel járó betegségek gyógyulási eredményeinek összehasonlítása két időszakban**

A szerzett gyermekkori csontvelő elégtelenséggel járó kórképek ritka, kezelés nélkül halálos betegségek. Historikus adatok és a korai transzplantációs tapasztalatok alapján az egyetlen hatékony kezelés, az allogén vérképző őssejt-transzplantáció rossz prognózisú, nagy morbiditású és mortalitású beavatkozás volt. Magyarország jelen disszertáció szerzőjének vezetésével 2013-ban csatlakozott teljes jogú aktív tagként az európai EWOG csoporthoz. A csatlakozás óta a Magyar Gyermekonkológiai Hálózat minden központjában egységes referencia diagnosztikát vezettünk be és a betegeket azonos elvek szerint kezeljük. Munkánkban összehasonlítjuk a két időszak transzplantációs jellemzőit. Elemezzük a megtapadást, az akut és krónikus GvHD incidenciáját és az összesített túlélést, betegségek és kezelési időszakok szerint stratifikálva. Célunk annak bemutatása, hogy a protokollváltás óta a gyermekbetegek szignifikánsan jobban gyógyulnak.

### **2.2. Vírus-specifikus T-sejt kezelésben részesült őssejt-transzplantált betegek adatainak elemzése**

Számos gyermekkori hematológiai, immunológiai és anyagcsere betegség egyetlen gyógymódja a vérképző őssejt-transzplantáció. A beavatkozás után a donor eredetű neutrophil és NK-sejtek viszonylag hamar megjelennek, de az igazi immunreguláló funkciókat ellátó T-sejtek érkezésére hónapokig várni kell. Ez az időszak súlyos T-sejt hiányos immunkompromittált állapotot jelent, mely magyarázatul szolgál az erre az időszakra jellemző vírusinfekciókra. A fertőzések lege artis kezelése kombinált antivirális terápia és az immunglobulinok adása, illetve az immunsuppressio csökkentése, ha lehetséges. Mindezek ellenére korábban számos beteget veszítettünk el progresszív, refrakter vírusinfekcióban. Az időben alkalmazott innovatív vírus-specifikus T-sejt terápiasegítség jelenthet e betegek ellátásában. Célunk annak bemutatása, hogy az eljárás bevezetése óta a közlemény írásáig eltelt több mint egy esztendőben a rezisztens vírusbetegségben szenvedő betegeinket is meg tudtuk gyógyítani az új terápiás

modalitással. Bemutatjuk, hogy a világon az elsők között alkalmaztuk a CliniMACS Prodigy CSS (IFN-gamma) rendszert az ilyen sejtek előállítására, mely gyors, automatizált, biztonságos és hatékony módja a kezelésnek. Vizsgáljuk a betegek kezelésre adott válaszát, a betegség tüneteinek és a vírus kópiaszámának alakulását. Elemezzük, hogy a vírus-specifikus sejt-donorok HLA egyezése szükséges-e a beavatkozáshoz.

### **2.3. Antithymocytoglobulin kezelés kardiológiai mellékhatásainak elemzése őssejt-transzplantált betegekben**

Az antithymocytoglobulin a hematológiában évtizedek óta alkalmazott immunosuppressív gyógyszer. Osztályunkon több betegnél ATG adását követően súlyos bradycardiát figyeltünk meg, erről azonban az irodalomban mindössze egyetlen eset ismertetését találtuk. Retrospektív adatelemzésünkkel célunk annak bemutatása, hogy az ATG adását követően szignifikánsan csökken a pulzusszám. Vizsgáljuk még, hogy a bradycardia jár-e egyéb vitális paraméter változással vagy klinikai tünetekkel, és magyarázatot keresünk a jelenségre.

### **2.4. Köldökzsinórvér-transzplantáció eredményességének értékelése experimentális indikációkban**

#### *2.4.1. Lesch-Nyhan syndroma*

A Lesch-Nyhan syndroma egy krónikus progresszív fejlődésneurológiai betegség, mely motorikus és viselkedés béli funkciózavarokat okoz, továbbá öncsonkító viselkedés figyelhető meg. A legsúlyosabb forma, az ajkak és az ujjak roncsoló rágásával komoly terhet ró a betegre és családjára. A betegség konzervatív módszerekkel gyógyíthatatlan. A több ezer sikeres, hasonlóan veleszületett anyagcsere-betegen végzett őssejt-transzplantáció kapcsán merült fel a hipotézis, hogy enzim-kompetens sejtek vér-agy gáton belül juttatása ebben a betegségben is hatékony lehet. Munkánk célja annak bemutatása, hogy az experimentális indikációval választott köldökzsinórvér-őssejt graft képes volt-e a megtapadásra, a hatékony enzim-szintézisre és a klinikai tünetek enyhítésére. Megvizsgáljuk a graft és a kondicionálás jellemzőit, a beteg fejlődésneurológiai sorsát.

#### 2.4.2. *WHIM syndroma*

A WHIM syndroma egy autosomalis domináns öröklődésű primer immundefektus, mely alacsony immunglobulin-szintek és neutropenia mellett vírusos és bakteriális infekciókhoz vezet. Az ismétlődő betegségek a végső soron szervégtelenséghez és fiatal felnőttkorban bekövetkező halálhoz vezethetnek. Az IVIG és G-CSF supportatio a betegek többségében hatékony a fertőzések megelőzésére, azonban a betegek egy része adekvát szupportív kezelés mellett is visszatérő infekcióktól és romló szervfunkcióktól szenved. Mások a papilloma vírusok daganatkeltő hatása miatt korai daganatos betegségekben halnak meg. Célunk annak bemutatása, hogy allogén vérképző-őssejt transzplantációval a betegség gyógyítható. Tanulmányunkban vizsgálni fogjuk a donor és a transzplantációs graft kérdését, elemezni fogjuk a transzplantáció előtti és utáni immunfunkciókat.

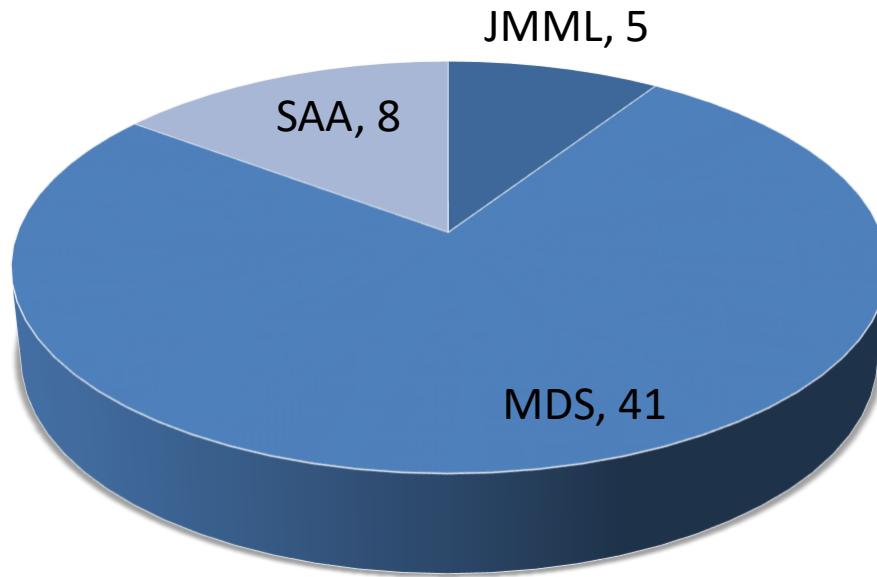
### 3. MÓDSZEREK

#### 3.1. Szerzett csontvelő-elégtelenséggel járó kórképek miatt végzett allogén vérképző őssejt transzplantáción átesett betegcsoport jellemzése

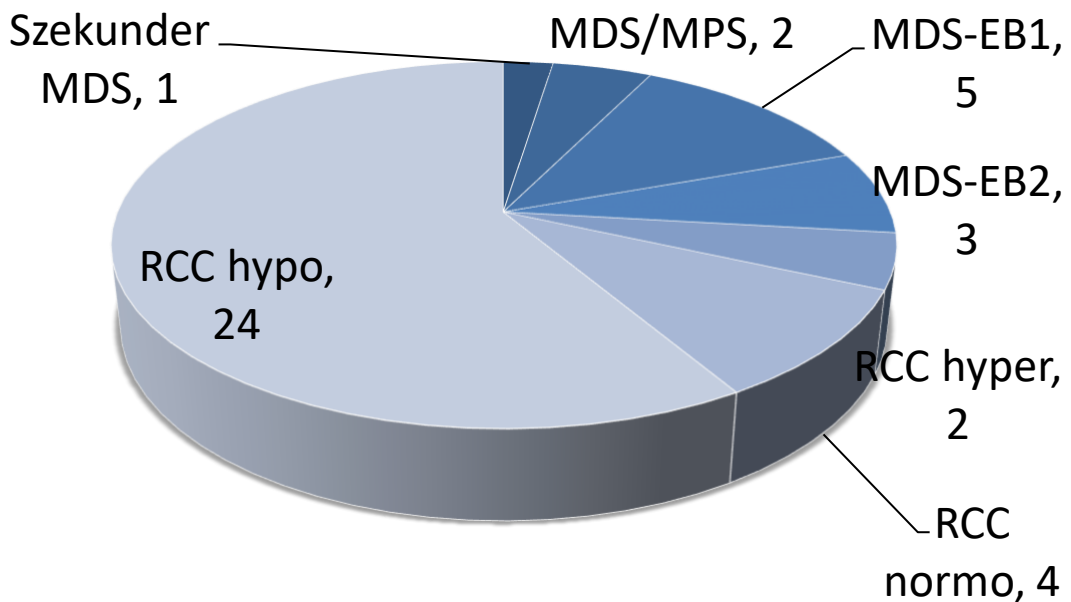
A 2013 és 2017 között eltelt 5 évben a Magyar Gyermekonkológiai Hálózat 8 központjában összesen 55 gyermeket (31 fiú, 24 lány) kezeltünk vagy ellenőriztünk rendszeresen egységes irányelvek szerint (54). Súlyos aplasticus anemiát 9 esetben, JMML-t 5 esetben, MDS-t 41 esetben gondoztunk (2. ábra). Ezek a számok megfelelnek a nemzetközi előfordulásnak, ezért nagy valószínűséggel kijelenthetjük, hogy a Hálózat keretein belül minden hazai eset felismerésre és kezelésre kerül (2). A betegek diagnózisainak megoszlását (3. ábra) és kezelési módszereiket (4. ábra) az 1. táblázat összesíti.

Bevezettük a referencia patológia és genetika rendszerét, így elmondhatjuk, hogy Magyarországon minden csontvelő-elégtelen gyermekbeteg kórszövettani, citogenetikai és molekuláris genetikai vizsgálatát dedikált és akkreditált személy végzi. Az egységes diagnosztika a nemzetközi rendszerhez való csatlakozásunk feltétele volt (55-58). A diagnosztika mellett a kezelés is egységes protokollok szerint történt minden magyar gyermekbeteg esetén (59-61, 9, 6).

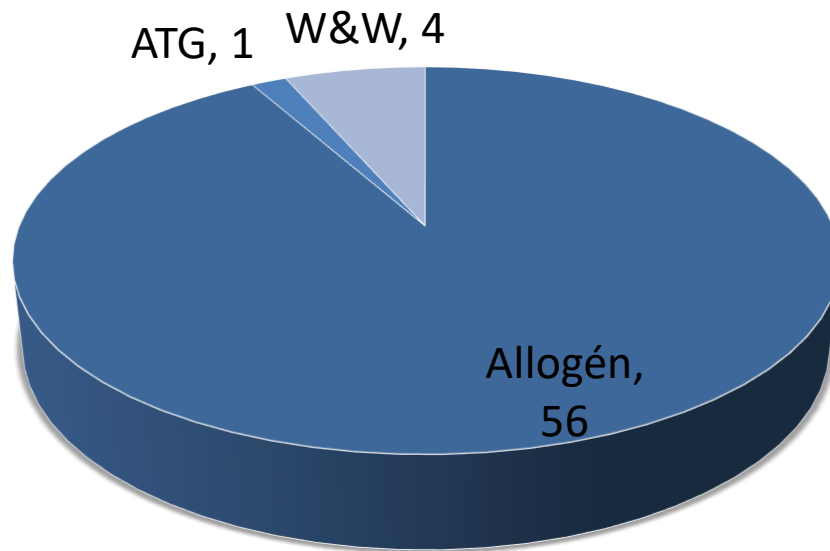
A 49 betegnél (SAA 7, MDS 37, JMML 5) végzett átültetés után primer vagy szekunder graft elégtelenség miatt 7 esetben újabb transzplantációra kényszerültünk, így összesen 56 beavatkozásra került sor. A transzplantációk a két magyar gyermek transzplantációs centrumban történtek (Dél-Pesti Centrumkórház – Országos Hematológiai és Immunológiai Intézet, Budapest, 45 beteg; Borsod-Abaúj-Zemplén Megyei Kórház, Gyermekegészségügyi Központ, Miskolc, 4 beteg). A transzplantációhoz 13 esetben HLA-egyező családi donort, 8 esetben haploidentikus családi donort és 35 esetben HLA-egyező idegen donort használtunk (5. ábra). Őssejt forrásként 37 esetben csontvelőt, 14 esetben perifériás és 5 esetben köldökvér őssejteket használtunk (6. ábra).



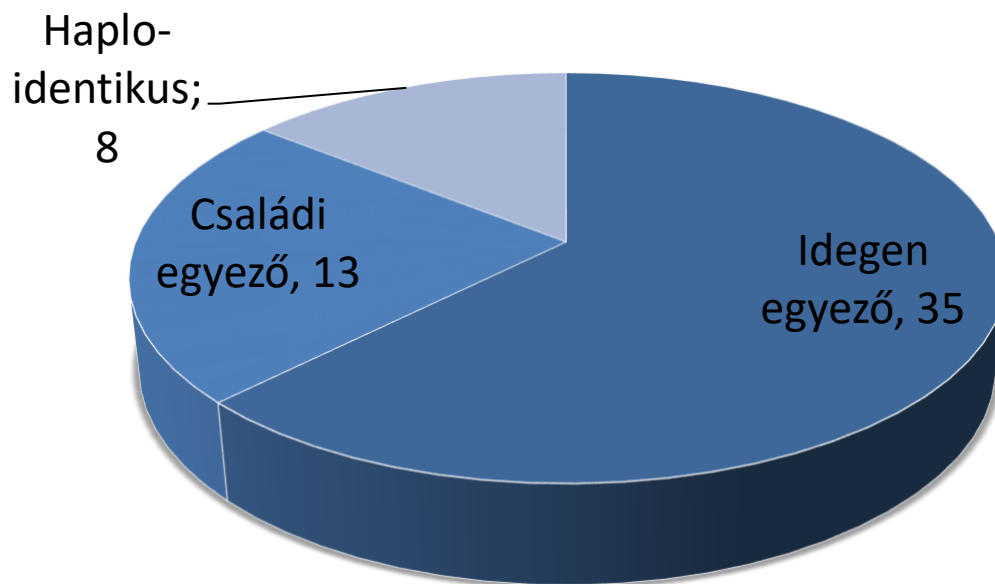
2. ábra: A diagnózisok megoszlása (SAA: súlyos aplasticus anemia, JMML: juvenilis myelomonocyter leukemia, MDS: myelodysplasticus syndroma)



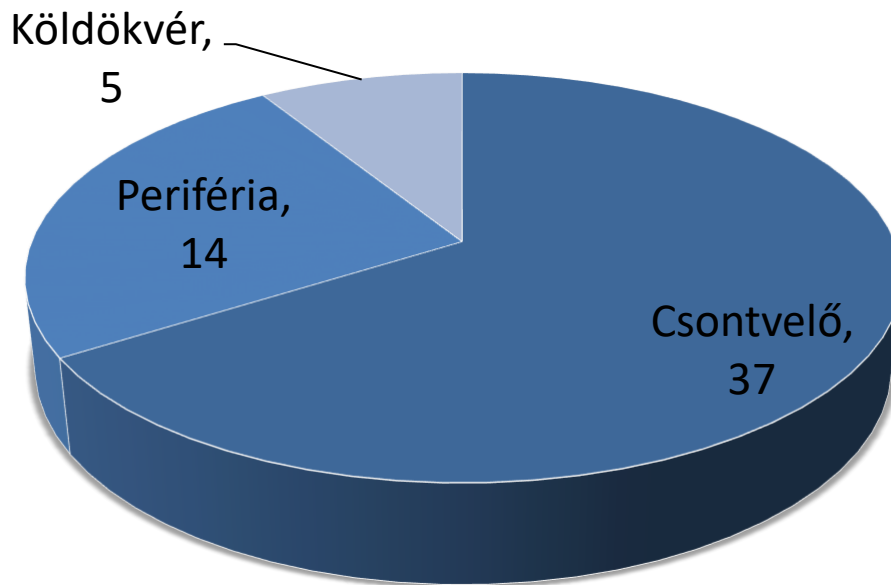
3. ábra: Diagnózis alcsoportok (MDS: myelodysplasticus syndroma, MPS: myeloproliferativ syndroma, EB: excess blast, blast túlsúly, RCC: refracter cytopenia of childhood, gyermekkori refrakter cytopenia, hypo: hypocellularis, normo: normocellularis, hyper: hypercellularis)



4. ábra: Kezelési stratégiák (ATG: antithymocyta globulin, W&W: watch and wait, megfigyelő várakozás; Allogén: allogén vérképző őssejt-transzplantáció)

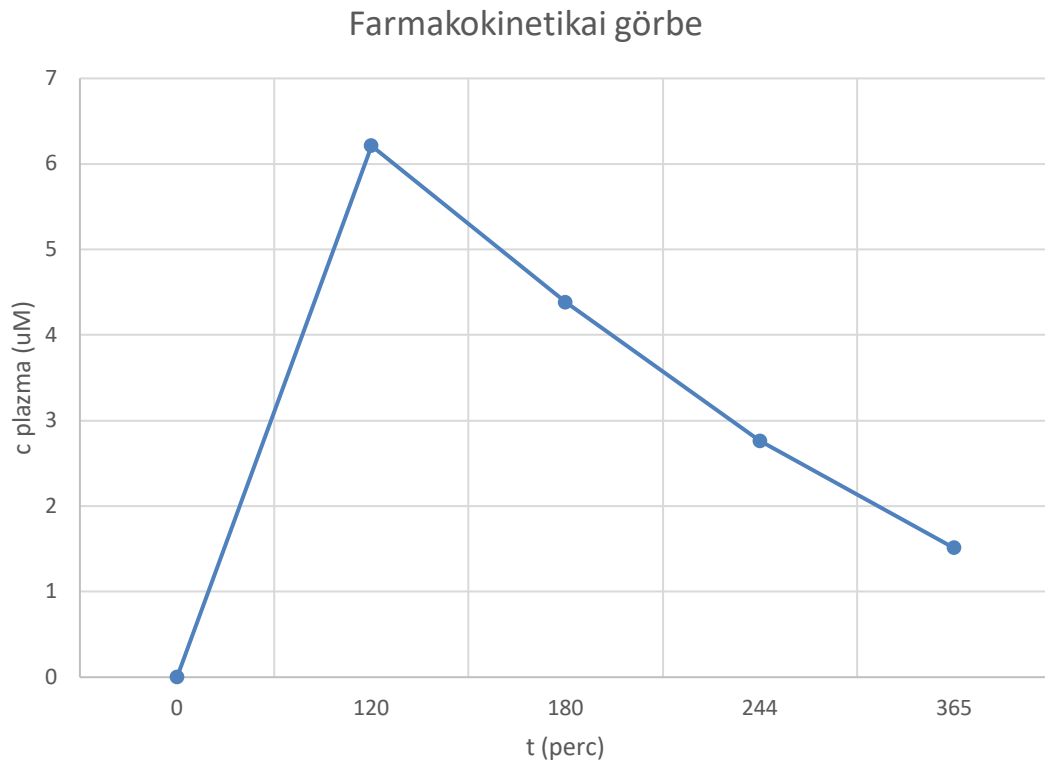


5. ábra: Donorok megoszlása

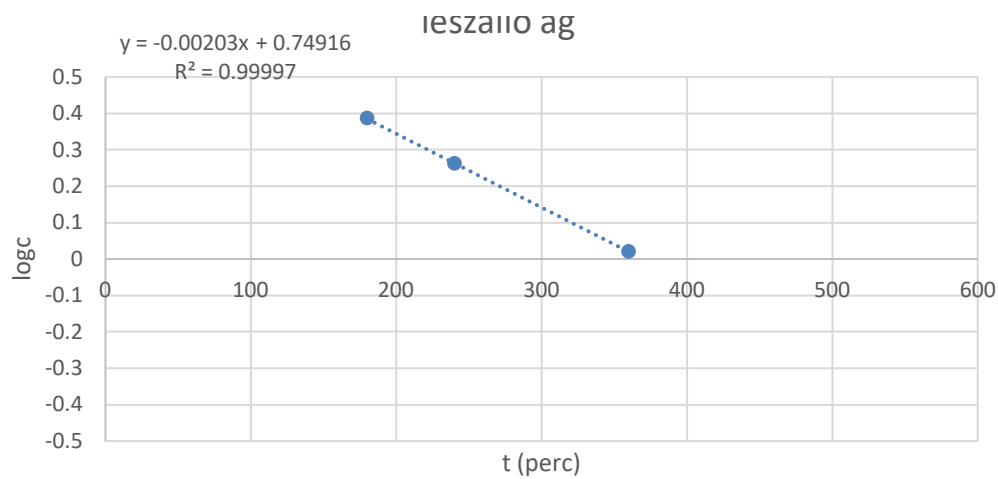


**6. ábra: Össejt graftok megoszlása**

A haploidentikus transzplantáció T-sejt receptor (TCR) alfa-béta negatív és CD19 negatív immunmagnetikus szelekcióval történt CliniMACS Prodigy rendszeren (Miltényi Biotec). A buszulfán adagolása farmakokinetikai modell alkalmazásával történik. Testsúlykilogramra számolt teszt dózis alkalmazása után mintavétel történik a 0., 2., 3., 4. és 6. órában, a mért koncentrációk alapján görbe alatti terület (AUC) kerül meghatározásra (7. ábra). A görbe leszálló ágának logaritmusos illesztésével ellenőrizzük a buszulfán lineáris farmakokinetikáját (8. ábra). A következő dózist ehhez igazítjuk, majd egy napi adagolás után újabb AUC meghatározást végzünk. Az egyidejűleg adott egyéb gyógyszerek és a buszulfánt bontó enzim indukciója miatt ez az eredmény különbözik az előzőtől. A végleges dózist a második mérés alapján állítjuk be, így biztosítható, hogy a beteg a precízen beállított tervezett kumulatív dózist kapja (62).



7. ábra: A buszulfán farmakokinetikai görbéje (egy példa)



8. ábra: A farmakokinetika görbe leszálló ágának logaritmusos illesztése

A veno-okkluzív májbetegség (VOD) megelőzésére 12mg/kg urzodeoxikolsavat és 100NE/kg heparint, antimikrobás profilaxisként levofloxacint, pozakonazol és aciklovirt alkalmaztunk. Recipiens vagy a donor seropositivitas esetén, az Epstein-Barr vírus



indukálta poszttranszplantációs lymphoproliferatív megbetegedés (PTLD) megelőzésére 200mg/m<sup>2</sup> rituximabot kaptak a betegek.

A korábbi időszakról betegadatok a Dél-pesti Centrumkórház (korábban: Egyesített Szent István és Szent László Kórház; még korábban: Szent László Kórház) beteg adatbázisából voltak kinyerhetők. Az 1992-2012 közötti 20 évben MDS-el 18 beteget (12 fiú, 6 lány), SAA diagnózissal 30 beteget (16 fiú, 14 lány), JMML-lel pedig 3 beteget (2 fiú, 1 lány) transzplantáltunk (63, 64).

**1. táblázat: Súlyos aplasticus anemiában, myelodysplasticus syndromában és juvenilis myelomonocyter leukemiában szenvedő betegek diagnózisának és kezelésének jellemzői**

BETEGEK	DIAGNÓZIS	ALCSOPORT / GENETIKA	TERÁPIÁS ÁG	DONOR	ELŐKÉSZÍTŐ KEZELÉS	
Összesen 55 beteg;  Nemek: 31 fiú 24 lány;  Életkor: medián 9,5 év (0,6-17,6)	Súlyos aplasticus anemia: 9 beteg	Klonális genetikai eltérést nem találtunk	Transzplantáció: 7 beteg	Egyező családi donor:3 beteg	Ciklofoszfamid 50mg/kg/nap; 4 napig	
				Egyező idegen donor: 2 beteg	Fludarabin 30mg/m <sup>2</sup> /nap; 4 napig Ciklofoszfamid 750mg/m <sup>2</sup> /nap; 4 napig ATG Fresenius 15mg/kg/nap; 4 napig	
				Haploidentikus donor: 2 beteg	Fludarabin 30mg/m <sup>2</sup> /nap; 4 napig Ciklofoszfamid 750mg/m <sup>2</sup> /nap; 4 napig ATG Fresenius 15mg/kg/nap; 4 napig	
			Antithymocyt- globulin: 1 beteg	-	ATGAM (Pfizer) 40mg/kg/nap; 4 napig Metilprednizolon 1mg/kg/nap; 15 napig, fokozatosan csökkentve a 30. napig GCS-F 5ug/kg/nap; 30 napig Ciklosporin 3mg/kg/nap választól függően (Thrombocytopeniás agyvérzés felvétele 3. napján, a diagnosztikus lelet post mortem érkezett)	
			Halálkozás diagnózis előtt: 1 beteg	-	(Abszolút neutrophil szám 1G/l felett, nincs vörösvértest vagy thrombocyta szubsztitúciós igény)	
	Myelodysplastic us syndroma: 41 beteg	Hypocellularis gyermekkori refrakter cytopenia: 24 beteg; (20q-: 2 beteg GATA2: 1 beteg 7-es monosomia: 1 beteg)	Szoros meg- figyelés:4beteg	Transzplantáció: 20 beteg	Egyező családi donor:6 beteg	Fludarabin 40mg/m <sup>2</sup> /nap; 4 napig Thiotepa 10mg/kg/nap; 1 napig
					Egyező idegen donor: 13 beteg	Fludarabin 40mg/m <sup>2</sup> /nap; 4 napig Thiotepa 10mg/kg/nap; 1 napig ATG Fresenius 15mg/kg/nap; 3 napig
					Haploidentikus donor:1 beteg	Fludarabin 40mg/m <sup>2</sup> /nap; 4 napig Thiotepa 10mg/kg/nap; 1 napig
		Normocellularis gyermekkori refrakter cytopenia:4 beteg; (-7:1 beteg, 5q- és 7q-: 1 beteg)	Transzplantáció: 4 beteg	Egyező idegen donor: 4 beteg	Treoszulfán 14mg/m <sup>2</sup> /nap; 3napig Thiotepa 8mg/kg/nap; 1 napig Fludarabin 40mg/m <sup>2</sup> /nap; 4 napig ATG Fresenius 15mg/kg/nap; 3 napig	
		Hypercellularis gyermekkori refrakter cytopenia: 2 beteg; (CEBPA: 1 beteg)	Transzplantáció: 2 beteg	Egyező idegen donor: 2 beteg	Treoszulfán 14mg/m <sup>2</sup> /nap; 3napig Thiotepa 8mg/kg/nap; 1 napig Fludarabin 40mg/m <sup>2</sup> /nap; 4 napig ATG Fresenius 15mg/kg/nap; 3 napig	
		Myelodysplasticus syndroma blast túlsúllyal (10% alatt): 5 beteg	Transzplantáció: 5 beteg	Egyező családi donor: 1 beteg	Buszulfán 4x1mg/kg/nap; 4 napig Ciklofoszfamid 60mg/kg/nap; 2 napig Melfalán 140mg/m <sup>2</sup> /nap; 1 napig	
				Egyező idegen donor: 3 beteg	Buszulfán 4x1mg/kg/nap; 4 napig Ciklofoszfamid 60mg/kg/nap; 2 napig Melfalán 140mg/m <sup>2</sup> /nap; 1 napig ATG Fresenius 10mg/kg/nap; 3 napig	
				Haploidentikus donor: 1 beteg	Buszulfán 4x1mg/kg/nap; 4 napig Ciklofoszfamid 60mg/kg/nap; 2 napig Melfalán 140mg/m <sup>2</sup> /nap; 1 napig	
				Egyező idegen donor: 3 beteg	Buszulfán 4x1mg/kg/nap; 4 napig Ciklofoszfamid 60mg/kg/nap; 2 napig Melfalán 140mg/m <sup>2</sup> /nap; 1 napig ATG Fresenius 10mg/kg/nap; 3 napig	
		Myelodysplasticus syndroma blast túlsúllyal (20% alatt): 3 beteg;(TP53: 1 beteg, 8-as trisomia: 1 beteg)	Transzplantáció: 3 beteg	Egyező idegen donor: 3 beteg	Buszulfán 4x1mg/kg/nap; 4 napig Ciklofoszfamid 60mg/kg/nap; 2 napig Melfalán 140mg/m <sup>2</sup> /nap; 1 napig ATG Fresenius 10mg/kg/nap; 3 napig	
	Myelodysplasticus syndroma myeloproliferatív jegyekkel: 2 beteg	Transzplantáció: 2 beteg	Egyező családi donor: 1 beteg	Buszulfán 4x1mg/kg/nap; 4 napig Ciklofoszfamid 60mg/kg/nap; 2 napig Melfalán 140mg/m <sup>2</sup> /nap; 1 napig		
			Egyező idegen donor: 1 beteg	Buszulfán 4x1mg/kg/nap; 4 napig Ciklofoszfamid 60mg/kg/nap; 2 napig Melfalán 140mg/m <sup>2</sup> /nap; 1 napig ATG Fresenius 10mg/kg/nap; 3 napig		
Szekunder myelodysplasticus syndroma (neuroblastoma után): 1 beteg	Transzplantáció: 1 beteg	Egyező idegen donor: 1 beteg	Buszulfán 4x1mg/kg/nap; 4 napig Ciklofoszfamid 60mg/kg/nap; 2 napig Melfalán 140mg/m <sup>2</sup> /nap; 1 napig ATG Fresenius 10mg/kg/nap; 3 napig			
JMML: 5 beteg	PTPN11: 2 beteg KRAS: 1 beteg NRAS: 1 beteg 7-es monosomia: 1 beteg	Transzplantáció: 5 beteg	Egyező családi donor: 1 beteg	Buszulfán 4x1mg/kg/nap; 4 napig Ciklofoszfamid 60mg/kg/nap; 2 napig Melfalán 140mg/m <sup>2</sup> /nap; 1 napig		
			Egyező idegen donor: 4 beteg	Buszulfán 4x1mg/kg/nap; 4 napig Ciklofoszfamid 60mg/kg/nap; 2 napig Melfalán 140mg/m <sup>2</sup> /nap; 1 napig ATG Fresenius 10mg/kg/nap; 3 napig		

### **3.2. Allogén vércépző őssejt-transzplantáción átesett betegek vírusfertőzéseinek bemutatása és kezelésük leírása**

*Betegek.* A Dél-Pesti Centrumkórház – Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet Gyermekhematológiai és Óssejt-transzplantációs Osztályán 2015 és 2016 években elvégzett 43 vércépző őssejt-transzplantáción átesett gyermekbeteg közül 9 részesült vírus-specifikus T-sejt kezelésben (5 fiú, 4 lány, medián életkor 11 (1,5-16) év). Hat beteget hematológiai malignitás, hármát veleszületett betegség miatt transzplantáltunk. Csak egy esetben állt rendelkezésre HLA-identikus testvérdonor, 7 esetben HLA-egyező önkéntes idegen donor, egy esetben nem egyező családi haploidentikus donor őssejtjeit használtuk. Az őssejt graft 5 esetben csontvelő, 3 esetben perifériás mobilizált őssejt és egy esetben közösségi köldökvér-bankban tárolt köldökvér-egység volt.

Az egyszeres vírus okozta reaktivációkat CMV okozta 3, EBV 2 és AdV 1 esetben. A fennmaradó három esetben többszörös vírusinfekciókat észleltünk: CMV és AdV 2, CMV és EBV egy-egy esetben). A CMV pozitív betegek közül kettőnél az infekció valószínűleg friss transzmisszió volt, hiszen mind a donor, mind a recipiens seronegativak voltak a transzplantáció előtt. A T-sejt terápiát indokló szervi betegségek pneumonitis és colitis volt CMV, enteritis és cystitis AdV valamint poszt-transzplantációs lymphoproliferatív betegség (PTLD) EBV esetében (2. táblázat). A vírusbetegségek kezdeti terápiájára a betegek cidofovirt kaptak adenovírusra, rituximabot PTLD-re és ganciklovir/foszkarnet kombinációt CMV-re. A T-sejt kezelés indikációja a progresszív vírusbetegség volt 8 esetben, egy esetben a kontrollálhatatlan kópiaszám, szervi manifesztáció nélkül. Az antivirális kezelés hatástalanságára vonatkozóan nem jelöltünk ki időbeli végpontot (pl. 14 nap), amikor az antivirális kezelést hatástalannak minősítettük volna (26). Amennyiben a betegséget máshogy nem tudtuk kontrollálni, tájékoztatott beleegyezés után azonnali beavatkozásra törekedtünk.

*Módszerek.* A beavatkozást a transzplantációt követő medián 63. napon végeztük el (49-113). A T-sejt donor elsőfokú rokon volt 4 esetben, másodfokú 4 esetben és genetikailag idegen rokon 1 esetben (a gyermek sógora). A betegek állapotának súlyosságára való tekintettel sürgősséggel készítettük fel a T-sejt donorokat, a HLA eredmények megvárása nem szerepelhetett a kivizsgálási protokollban. HLA tipizálás rendelkezésre állt 4/9 esetben, a transzplantációt megelőző családvizsgálatok

eredményeiből. A legjobb egyezés ezek közül a haploidentikus volt. A donorok medián életkora 47 év volt (33-60).

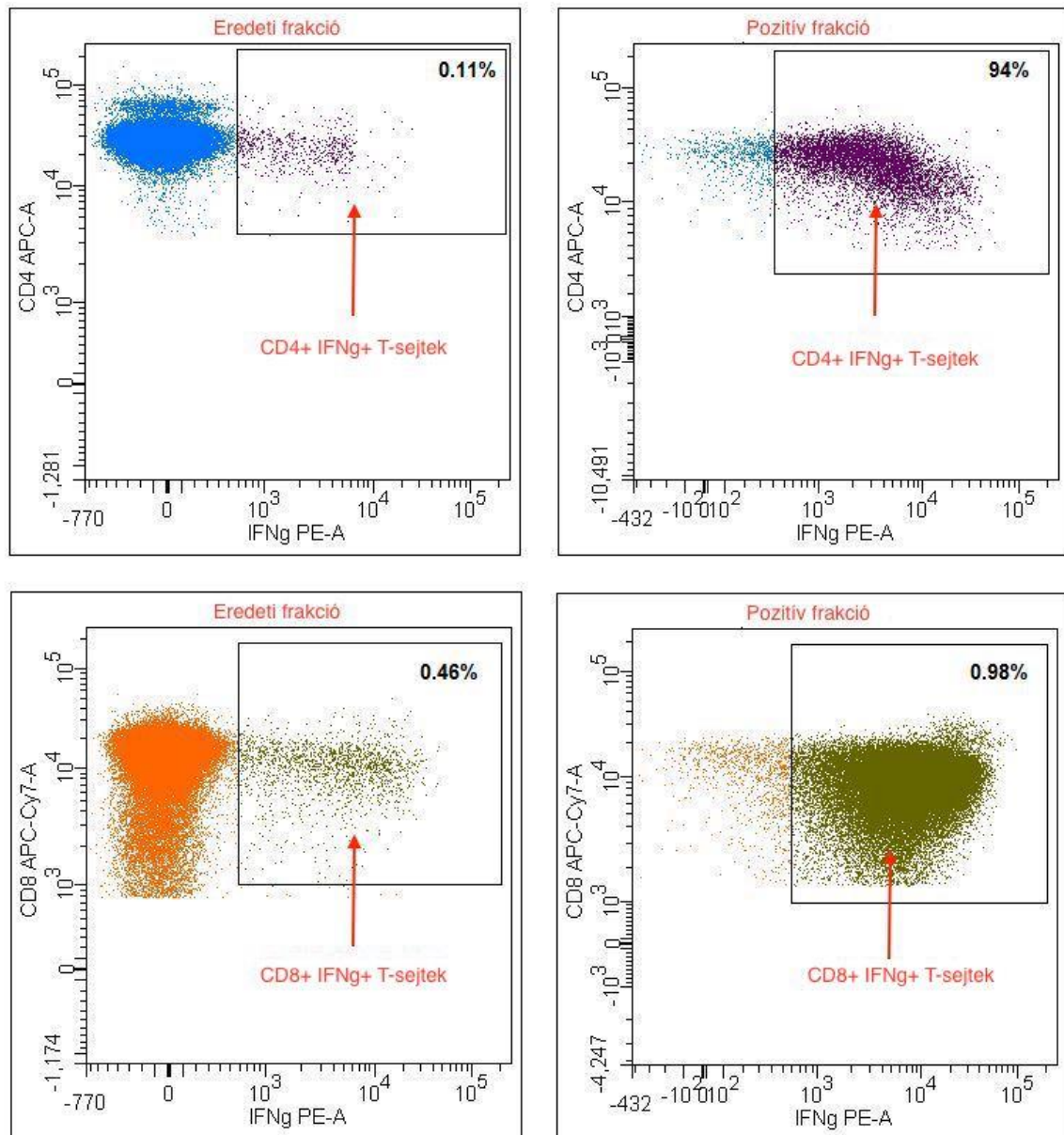
**2. táblázat: Vírus-specifikus T-sejt kezelésben részesült betegek klinikai jellemzői (ALL: akut lymphoid leukemia, AML: akut myeloid leukemia, CML: krónikus myeloid leukemia, MDS: myelodysplasticus syndroma, XLP: X-hez kötött lymphoproliferatív betegség, Morbus Hodgkin: Hodgkin lymphoma, MSD: egyező testvérdonor, MUD: egyező idegen donor, BM: csontvelő, PB: perifériás vér, CMV: cytomegalovírus, EBV: Epstein-Barr vírus, AdV: adenovírus, PTLD: poszt-transzplantációs lymphoproliferatív betegség, MP: metilprednizolon, MMF: mikofenolát mofetil)**

BETEG	NEM	SÚLY (kg)	KOR (év)	DIAGNÓZIS	ŐSSEJT-DONOR	HLA MM (HSCT)	GRAFT (HSCT)	VÍRUS 1	LEGMA-GASABB KÓPIASZÁM (VÍRUS 1)	VÍRUS BETEGSÉG	VÍRUS 2	LEGMA-GASABB KÓPIASZÁM (VÍRUS 2)	VÍRUS BETEGSÉG	ANTIVIRÁLIS vagy ANTITEST KEZELÉS	AKUT GvHD	IMMUNSZUPPRESSZIÓ
1	F	28	12	ALL	MUD	4/6	CB	CMV	212 000	pneumonitis	-	-	-	foscarnet, ganciklovir	nem	ciklosporin
2	N	31	11	MDS	MUD	1 DQ MM	BM	CMV	10 800	-	AdV	501 000	nephritis	cidofovir, foscarnet	Gr II bőr	MP, ciklosporin
3	F	54	14	Morbus Hodgkin	MUD	1A MM	BM	EBV	11 800	PTLD	-	-	-	rituximab, brentuximab	nem	ciklosporin
4	F	21	8	Thalassemia	MUD	10/10	PB	CMV	5 370	colitis	-	-	-	foscarnet	Gr IV bél	MP, takrolimusz, MMF, ruxolitinib, infliximab
5	F	11	3	XLP	MSD	10/10	BM	AdV	2 850	-	-	-	-	cidofovir	Gr IV bél	MP, MMF, eculizumab, infliximab
6	N	9	1	ALL	MUD	10/10	BM	CMV	2 875 506	pneumonitis	-	-	-	ganciklovir, foscarnet	No	ciklosporin, tocilizumab
7	N	40	16	AML	MUD	1A MM	PB	CMV	6 146 094	colitis	EBV	18 040	-	rituximab, foscarnet, ganciklovir	Gr IV bél	MP, MMF, ruxolitinib
8	N	31	11	CML	haploidentikus szülő	5/10	PB	EBV	1 342	PTLD (CNS)	-	-	-	rituximab	nem	MMF
9	F	22	8	CD40L hiány	MUD	10/10	BM	CMV	20 522	-	AdV	1 350	enteritis	cidofovir	Gr IV bél	MP, MMF, budenosid, ruxolitinib

A megcélzott vírusok elleni memória T-sejtek jelenlétét funkcionális áramlási cytometriás módszerrel kerestük a donorokban. Akkor tekintettük őket alkalmasnak T-sejt donációra, ha a vírus-specifikus CD4+ vagy CD8+ sejtek aránya magasabb volt, mint 0,01% a teljes CD3+ T-sejt populációban (26). Jelenlegi ismereteink szerint mind a CD8+

cytotoxikus, mind a CD4+ helper sejtek képesek megfelelő antivirális válaszra (16, 65, 66). Centrumunkban, a felnőtt transzplantációs osztállyal együtt 299 szűrővizsgálatot végeztünk 211 potenciális donoron. Az egészséges önkéntes donorok alkalmasságának esélye 88% volt CMV, 65% AdV és 50% EBV esetén (e személyek rendelkeztek donációhoz elegendő arányú vírus-specifikus memória T-sejttel).

A donor lymphocytákat stimulálatlan mononukleáris leukapheresissel gyűjtöttük Spectra Optia® Apheresis rendszeren CMNC programmal. Összesen  $1 \times 10^9$  fehérvérsejtet használtunk a T-sejt szelekcióhoz a CliniMACS Prodigy® Cytokine Capture System (IFN-gamma; CCS) System (Miltenyi Biotec, Bergisch-Gladbach, Germany) rendszeren. E módszer feldúsítja a készítményben a gamma-interferon termelő CD4+ és CD8+ memória T-sejteket, amiket korábban a vírusra jellemző peptidekkel stimuláltunk. Az eljárás során mindvégig a gyártó utasításait követtük. Az automatikus eljárás a minták előkészítésével és az antigén prezentációjával kezdődik, a sejtekhez a vírusra jellemző peptideket keverünk (CMV: MACS GMP PepTivator HCMV pp65, referenciaszám:170-076-109; EBV: MACS GMP PepTivator EBV EBNA-1, referenciaszám:170-076-129, MACS GMP PepTivator EBV BZLF1, referenciaszám:170-076-130; AdV: MACS GMP PepTivator AdV5 Hexon, referenciaszám:170-076-106). Ha több vírus ellen terveztük a készítményt használni, több antigént is adtunk a rendszerhez. Ezt követően a fehérvérsejteket a program megjelöli a CliniMACS IFN-gamma Catchmatrix reagenssel. Ez egy CD45 ellenes antitest, amihez egy gamma-interferon ellenes antitest van konjugálva. A komplex a sejt felszínén mintegy „elkapja” (catch) a szekretálódó (és az antitest nélkül a plazmába ürülő) interferont, így megjelöli az aktivált sejteket. Az IFN-gamma Enrichment reagens egy szuper-magnetikus vasmolekulával kapcsolt antitest, mely specifikusan kötődik a célsejt felszínéhez kötődött gamma-interferonhoz. A következő lépésben immunmagnetikus szelekció révén, egy elektromágnes bekapcsolásával csak ezeket a sejteket lehet feldúsítani a szerelék egy részében. Ezek után lemosva a többi sejteket és a plazmát, lekapcsoljuk az elektromágnezt és lemoszuk a szerelékről az albuminban reszuszpendált cél sejteket. A kész terméket BD FACSCanto II flow cytometer (BD Biosciences, San Jose, California, USA) segítségével elemeztük, lásd 9. ábra.



**9. ábra: Vírus-specifikus T-sejt szelekció előtt és után mért áramlás cytometriai eredmények (bal oldalon a beavatkozás előtti, jobb oldalon a folyamat utáni, felül CD4+, alul CD8+ sejtek aránya látható; IFNγ: interferon-gamma; az áramlás cytometriai ábrán egy kis négyzetben a vízszintes tengelyen a sejthez kötött interferon-gamma cytokin, a függőleges tengelyen a CD4/8 molekula sejt felszíni expressziója látható logaritmus skálán)**

### **3.3. Súlyos aplasticus anemia és graft versus host betegség miatt antithymocytoglobulin kezelést kapott betegcsoport**

*Betegek.* A Dél-pesti Centrumkórház – Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet Gyermekhematológiai és Óssejt-transzplantációs Osztályán 2007 és 2012 között 12 gyermekbeteget kezeltünk antithymocytoglobulinnal (ATG) súlyos aplasticus anemia miatt. Tíz másik beteg 2012-ben részesült allogén HLA-identikus idegen donorral végzett őssejt-transzplantációban, akik a graft versus host betegség (GVHD) megelőzésére ATG-t kaptak. Vizsgálatunk ATG csoportját ez a 22 beteg alkotta.

Az ATG-vel kezelt betegek intézményi protokollunk szerint szteroid premedicatiót kaptak (metilprednizolon, 1-4mg/kg, intravénásan) a súlyos allergiás reakciók és a szérumbetegség megelőzésére. Mivel a bradycardia szteroid mellékhatás is lehet (67-70), az ATG csoport adatait összehasonlítottuk egy 21 egy betegből álló kohorsszal, akik GVHD miatt 2-5mg/kg metilprednizolont kaptak. A betegek adatait a 3. táblázat tartalmazza.

3. táblázat: Az ATG (antithymocyt-globulin) és a szteroid csoport jellemzői

		MIND	ATG CSOPORT	CSAK SZTEROID CSOPORT
<b>BETEGEK</b>		43	22	21
	FIÚ	25	14	11
	LÁNY	18	11	7
	MEDIÁN ÉLETKOR (év)	10,8 (0,5-17,7)	10,97 (0,92-17,73)	10,52 (0,53-16,61)
<b>DIAGNÓZIS</b>	SAA	17	15	2
	ALL	8	0	8
	AML	5	1	4
	CML	1	0	1
	MDS	1	1	0
	NHL	2	1	1
	NBL	1	1	0
	VELESZÜLETETT BETEGSÉGEK	5	1	4
	AUTOIMMUN BETEGSÉGEK	3	2	1
<b>CSOPORTOK</b>	ATG TERÁPIA	12	12	0
	ATG PROFILAXIS	10	10	0
	SZTEROID	21	0	21
<b>ATG TÍPUS</b>	LÓ	3	3	0
	NYÚL	19	19	0
<b>ATG KÉSZÍTMÉNY</b>	ATGAM	3	3	0
	ATG FRESENIUS	3	3	0
	THYMOGLOBIN	16	16	0

*Gyógyszerek.* A súlyos aplasticus anemia kezelésére ló eredetű ATG-t használtunk 3 esetben (ATGAM, 40mg/kg/nap, 4 napig, vénásan), nyúl eredetűt 7 esetben (Thymoglobin 5mg/kg/nap, 4 napig, vénásan), valamint ATG Freseniust 15mg/kg/nap adagban 7 napig, vénásan, 2 esetben. GVHD profilaxis esetén csak nyúl eredetű készítmények adására került sor, Thymoglobin (2,5mg/kg/nap, 4 napig, vénásan, 9 esetben) illetve ATG Fresenius (15mg/kg/nap, 3 napig, vénásan, egy esetben).

Minden ATG-kezelt beteg szteroid premedikációban részesült az első ATG dózistól 3 hétig (metilprednizolon, 1-4mg/kg/nap, vénásan). A csak szteroiddal kezelt csoport betegei nagy dózisú szteroid kezelést kaptak (metilprednizolon, 2-5mg/kg/nap, vénásan) újonnan jelentkező akut GVHD miatt legalább egy hónapig. Ezt a protokollt minden beteg esetén következetesen alkalmaztuk. A transzplantációs kivizsgálás részeként minden betegnél a beavatkozás előtt kardiológiai vizsgálat, EKG-elemzés és



szívultrahang-vizsgálat is készült, mely jelentős kardiológiai betegséget kizárt, ritmuszavara egyik betegnek sem volt. Kardiális mellékhatásokkal járó tartós gyógyszeresedés kizáró kritérium lett volna, ezt a feltételt azonban egyetlen beteg sem teljesítette.

*Mérések.* A beavatkozások során az osztályon rutin megfigyelési protokoll működik. Pulzus, vérnyomás, testhőmérséklet, légzésszám és oxigén szaturáció kerül rögzítésre minden 4 órában. A terápiás lapokból feldolgoztuk a kezelés előtti, a kezelés utáni 0-3, 4-7 és 8-14 napi vitális paramétereket. Összesen 5013 adatmezőt elemeztünk. Vérvétel naponta történt az intézeti protokoll részeként, mely vérképet és vérkémiai paramétereket mért. Vénás vérgáz és laktát értéket legalább naponta egyszer rögzítettünk, állapotromlás esetén többször is. Klinikailag stabil és panaszmentes betegeknél EKG vizsgálat nem történt, ezért annak elemzése nem lehetséges. Az ATG-kezelés és a transzplantáció intézeti protokollja előírja a beavatkozás alatti megfelelő hidrálást, hemoglobin-szubsztitúciót, elektrolit- és oxigén-státuszt, e paraméterek végig monitorizálva voltak. Így anemia, kiszáradás nem járulhatott hozzá a pulzusszám-változáshoz. Egyetlen betegnek sem volt pulzusszámot befolyásoló komorbiditása (pl. pajzsmirigy-betegség).

*Bradycardia.* Bradycardiának tekintettük a pulzusszámot, ha 0-2 év között 100/perc alatt volt, 2-9 év között 60/perc alatt és 9 év felett 50/perc alatt (71). Súlyos bradycardiának definiáltuk 0-5 éves kor között a 60/perc, 6-11 év között a 45/perc és 11 év felett a 40/perc alatti pulzusokat (72).

### **3.4. Experimentális indikációkkal végzett köldökzsínórvér eredetű vérképző őssejt-transzplantációk**

#### *3.4.1. Köldökvér-transzplantáció Lesch-Nyhan syndromában*

Betegünk családjának második gyermekeként, eseménytelen terhesség után szövődmény nélkül született. A családban említésre méltó betegség nem volt. Hat hónapos korától jelentkeztek megmagyarázhatatlan sírási rohamai, és a növekedés béli elmaradása ekkorra már nyilvánvalóvá vált. Motoros fejlődése megállt, torticollis alakult ki és a felső végtag csavaró mozgásai mind gyakrabban jelentkeztek. Koponya MR vizsgálat nem mutatott kóros eltérést. Konzekvens hyperuricemia (maximális húgysavszint: 520  $\mu\text{mol/l}$ ) és a fokozott húgysav ürítés vetette fel a Lesch-Nyhan

syndroma gyanúját. A diagnózist megerősítette a hypoxantin foszforibozil-transzferáz (HPRT) enzim hiányzó aktivitása ( $0 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{g Hb}$ ) a perifériás vérben a beteg 1,5 éves korában. A klinikai tünetek és a HPRT enzim aktivitásának hiánya a betegség legsúlyosabb formájára utaltak, öncsonkító viselkedésforma nem állt fenn (73, 74, 42, 75). Figyelembe véve az öncsonkító viselkedés hiányát, a beteg fiatal korát, vérképző őssejt-transzplantáció merült fel egyetlen gyógymódként, mely a vér-agy gáton egészséges donor sejteket átjuttatva pótolhatja a hiányzó enzimet. A beavatkozást az Egészségügyi Tudományos Tanács és a Nemzeti Gyermekek Hemopoetikus Őssejt-transzplantációs Bizottság jóváhagyta.

Idegen donor keresés során csak köldökvér egység jött szóba, hiszen önkéntes élő idegen donort nem lett volna etikus kitenni a donáció veszélyeinek egy experimentális indikációval végzett transzplantációban. A transzplantáció szervezése alatt a gyermek húgysav szintjét be lehetett állítani allopurinol alkalmazásával, azonban a neurológiai státusz progrediált 2 éves koráig. Gyakran feküdt opisthotónusos tartásban, enyhe spaszticitás jelentkezett és súlyos mozgási dystonia a végtagokon. Az akaratlagos mozgások jelentősen beszűkültek, hason fekve könnyökön feltámaszkodott és átfordult, de nem tudott kúszni és egyedül ülni sem kétévesen. Pár szót beszélt és nem csonkította magát. MR-en továbbra sem volt eltérés, nephrolithiasist sem találtunk ultrahanggal.

A transzplantációs kondicionáláshoz a myeloablatív BuCy protokollt használtuk. Buszulfánt kapott  $0,8\text{mg}/\text{kg}$  dózisban minden 6 órában ( $3,2\text{mg}/\text{kg}/\text{nap}$ ), összesen 4 napig, a -7-től -4 transzplantációs napokon. Ciklofoszfamid kezelés következett,  $60\text{mg}/\text{kg}$  adagban, 2 napig, a -3 és -2 napokon. Antithymocytoglobulin profilaxist kapott GVHD megelőzésére, Thymoglobulin,  $2,5\text{mg}/\text{kg}/\text{nap}$  adagban, 4 napig, a -5-től -2-ig tartó transzplantációs napokon. Naponta ellenőriztük a szérumban húgysav koncentrációt, attól félve, hogy a gyógyszerek mellékhatása okozhatta a korábban sikertelenül transzplantált 16 hónapos gyermek korai halálát (46). Rasburicase (urátsav oxidáz enzim) volt készletben az esetleges hyperuricaemiás epizód prompt kontrollálására, de nem volt rá szükség.

Két éves korában egy idegen, közösségi köldökvér-bankból származó köldökvér egység került beadásra. A graft 6/6 HLA-egyezőnek bizonyult, a HLA-A és HLA-B locusokon antigén, a HLA-DRB1 locuson allél szinten. Az infundált teljes magvas sejt-szám  $3,6 \times 10^7$ , a CD34+ őssejt-szám  $6,5 \times 10^6$  volt testsúlykilogrammonként. GVHD

megelőzésére ciklosporint alkalmaztunk, 3mg/kg/nap adagban indítva, rendszeres terápiás gyógyszer mélysztint mérésével 100-200mmol/l koncentrációra beállítva, a -1 transzplantációs naptól +1 évig. Veno-occlusiv betegség megelőzésére 12mg/kg ursodeoxycholsavat és 100NE/kg/nap heparint adtunk. Vírus reaktivációk megelőzésére aciklovirt, gombafertőzésekre flukonazolt, *Pneumocystis jirovecii* pneumonitis (PCP) megelőzésére cotrimoxazolt kapott. Rendszeresen kapott immunglobulin-szubsztitúciót, a szérum IgG szintjét 4g/l felett tartva.

#### 3.4.2. Köldökvér-transzplantáció WHIM szindrómában

A beteg 6,5 éves korában jelentkezett immunológiai kivizsgálásra immundefektus gyanújával. Időre született, nem rokon szülőktől, eseménytelen terhesség után, szoptatták 11 hónapig. A családban senkinek nem volt immundefektusra emlékeztető anamnézise. Kora csecsemőkora óta visszatérő sino-pulmonális infekciókban szenvedett, első tüdőgyulladás 1 éves korban jelentkezett. A megelőző 6 évben 6 bakteriális tüdőgyulladása volt. A fontosabb hematológiai és immunológiai paramétereket az Eredmények fejezetben található 9. táblázat összegzi. A betegnek enyhe lymphopeniája, súlyos neutropeniája és enyhe fokú hypogammaglobulinaemiája volt. Korábbi orvosi dokumentációjában változó fehérvérsejt-számot (WBC) találtunk (0,6-2,1 G/l), alacsony abszolút neutrophil számmal (ANC, 0,1-0,96 G/l) az infekciómentes időszakokban. Infekciók esetén a WBC 0,7-11,8 G/l, az ANC 0,43-5,3 G/l magasságig emelkedett. Csontvelővizsgálat hypercellularis velőt mutatott, emelkedett myeloid/erythroid aránnyal, malignus betegség jelei nélkül. A neutrophil granulocyták mikroszkópos elemzése során érett sejteket láttunk cytoplasmasticus vacuolisatióval és a 3-5 pycnoticus maglebenyt összekötő megnyúlt filamentumokkal. Génszekvenálás a CXCR4 gén heterozygota c.1013C>G variánsát találta, mely a CXCR4 karboxyl végének korai terminálását (p.S338X) okozta.

A WHIM szindróma klinikai és genetikai diagnózisát felállítottuk, rendszeres intravénás immunglobulin (IVIG) pótlás indult havi 400mg/kg adagban. Ez után a sino-pulmonális fertőzések gyakoriságának szignifikáns csökkenését észleltük. A súlyos neutropenia és fennálló infekciók miatt pár hónappal később granulocyta kolónia-stimuláló (G-CSF) kezelés indult 5µg/kg/nap adagban subcutan. A szupportív kezelés mellett a betegnek továbbra is jelentkeztek infekciói, és a krónikus obstructív

tüdőbetegsége is progrediált. Egy fogcsúcsi gyulladáshoz vezető folyamatból súlyos periostitis, submandularis lymphadenitis származott.

Eközben édesanyja várandós lett a következő gyermekkel, és prenatalis diagnosztikai vizsgálatot kért WHIM syndroma irányában a magzatából. A chorionbiopsiás mintából végzett genetikai vizsgálat nem csak a CXCR4 gén vad típusát mutatta ki, hanem a magzat teljes HLA-egyezését is a beteggel. A fiútestvér időben és szövődmény nélkül született, köldökvér-egységét legyűjtöttük és lefagyasztottuk. Néhány hónappal később a szülői tájékoztatott beleegyezés és a Nemzeti Gyermek Hemopoetikus Össejt-transzplantációs Bizottság jóváhagyása birtokában testvérdonoros köldökvér-össejt transzplantációt végeztünk.

Az előkészítő kondicionálás során buszulfán (16mg/kg teljes adag, a -9-től a -6. napig), ciklofoszfamid (200mg/kg teljes adag, a -9-től a -6. napig) és antithymocytoglobulin (ATG, Thymoglobulin, 10mg/kg teljes adag, a -5-től a -2. napig) adására került sor. A köldökvér graft 3,8-szor  $10^7$  magvas sejtet és 1,2-szer  $10^5$  CD34+össejtet tartalmazott recipiens testtömeg kilogrammonként és szövődmény nélkül került beadásra. A graft versus host betegség megelőzésére metilprednizolont (1mg/kg/nap) adtunk a -1 naptól a +30. napig, valamint ciklosporint (3mg/kg/nap) a -1. naptól a transzplantációt követő +1 évig.

### **3.5. Az elemzések során alkalmazott statisztikai módszerek**

*Csontvelő-elégtelenségek.* Az adatfeldolgozáshoz, a deskriptív statisztikai számításokhoz és a diagramok rajzolásához a Mac Microsoft Excel 16.16.10 verzióját használtuk (Redmond, Washington, USA). A megtapadás, túlélés és a GvHD megjelenés elemzésére a Kaplan-Meier becslést használtuk, a görbe 0. napja mindig a transzplantáció időpontja. Szignifikancia elemzésre a log-rank tesztet használtuk,  $p < 0,05$  alatti  $p$  értéket tekintettünk szignifikáns eltérésnek. Ezek számításához az IBM SPSS Statistics 20 programját használtuk (New York, NY, USA).

*Vírus-specifikus T-sejtek.* Az adatfeldolgozáshoz, a deskriptív statisztikai számításokhoz és a diagramok rajzolásához a Mac Microsoft Excel 16.16.10 verzióját használtuk (Redmond, Washington, USA).

*ATG és bradycardia.* A statisztikai analízisekhez az IBM SPSS Statistics 20 programját használtuk (New York, NY, USA). A szívfrekvenciák időbeli változását a két

csoport között kevert modellekkel (mixed analysis of variance, ANOVA) elemeztük. Megvizsgáltuk a két magyarázó változó (ATG és szteroid terápia) közötti lehetséges interakciót, a modellek illeszkedését és a minta hatásnagyságát. A logaritmikusan transzformált szívfrekvencia értékek normál eloszlást mutattak. A vizsgált csoportokban teljesült a variancia és kovariancia homogenitás (Levene-próba,  $p > 0,05$ , illetve Box teszt,  $p > 0,001$ ). Egyszempontos varianciaanalízissel összehasonlítottuk a mért szívfrekvenciák csoportok közötti különbségeit minden egyes időpontban (fő magyarázó változónak a terápiás csoportot tekintve). Ismétléses varianciaanalízissel (fő magyarázó változóként az időt tekintettük) megvizsgáltuk a szívfrekvenciák időbeli változását a csoportokon belül. A többszörös összehasonlítások során a  $p$  érték Bonferroni korrekcióját alkalmaztuk. A bradycardiás és súlyos bradycardiás epizódok gyakoriságát az ATG-t, illetve szteroidot kapott csoportokban chi-négyzet és Fisher-féle egzakt teszttel hasonlítottuk össze. Szignifikancia szintnek a  $p < 0,05$  értéket tekintettük.

### **3.6. Etikai megfontolások**

A vizsgálatok során elvégzett minden kutatást a Helsinki deklaráció 2013-as érvényes változatával összhangban végeztünk. A csontvelő-elégtelen gyermekek kezelése az elfogadott szakmai szabályok betartásával történt, az adatgyűjtéshez és a biológiai minták nemzetközi referencia centrumba történő küldéséhez ETT TUKEB (Egészségügyi Tudományos Tanács, Tudományos Kutatásetikai Bizottság) engedély állt rendelkezésünkre (51822/2013/EKU (609/2013.)). A vizsgálatokhoz az Intézményi Kutatásetikai Bizottság engedélye is rendelkezésre állt. Az innovatív sejterápiákat az ETT és a Nemzeti Gyermekek Hematopoetikus Össejt-transzplantációs Bizottság is engedélyezte.

### **3.7. Orvosi helyesírás**

A dolgozatban a magyar orvosi helyesírás szabályait alkalmaztuk. A magyar nyelv értelmező szótáraiban megtalálható, meghonosodott szavakat magyaros helyesírással írtuk (köznyelvvivé válás elve). Az olvasók szerinti rendezés elve alapján latinus helyesírást használtunk az orvos olvasókra való tekintettel, ugyanakkor kivételként

magyarosan írtuk a társtudományok, orvosi eljárások és kémiai hatóanyagok neveit. Az összetett szavak és szóösszetételek esetén figyelembe vettük a környezethatás elvét.

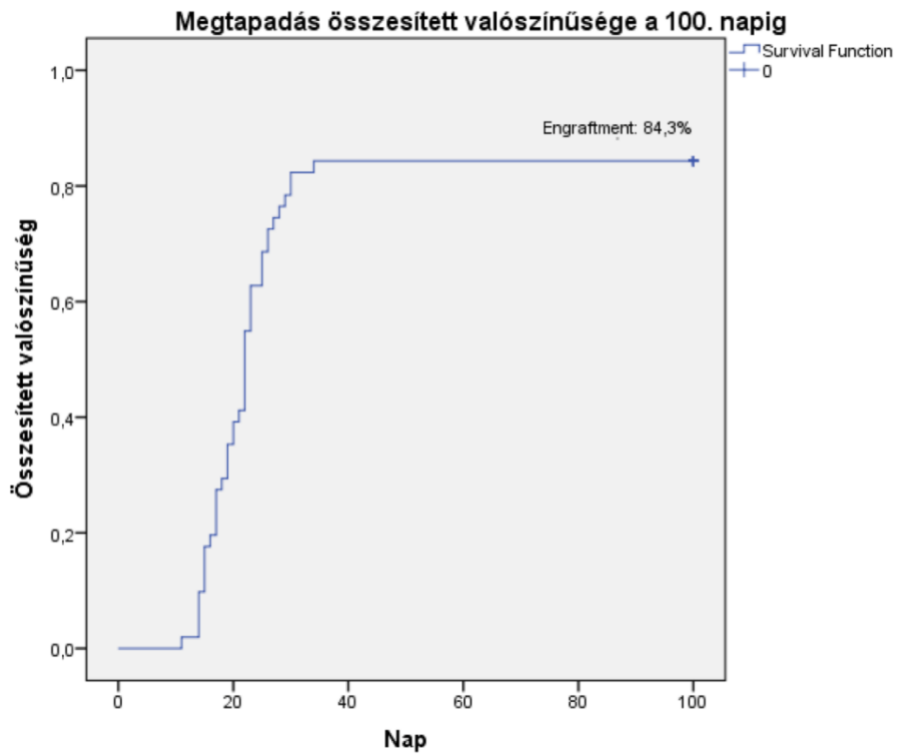
## 4. EREDMÉNYEK

### 4.1. Szerzett csontvelő-elégtelenséggel járó kórképek miatt végzett allogén vérképző őssejt-transzplantáción átesett betegek túlélése

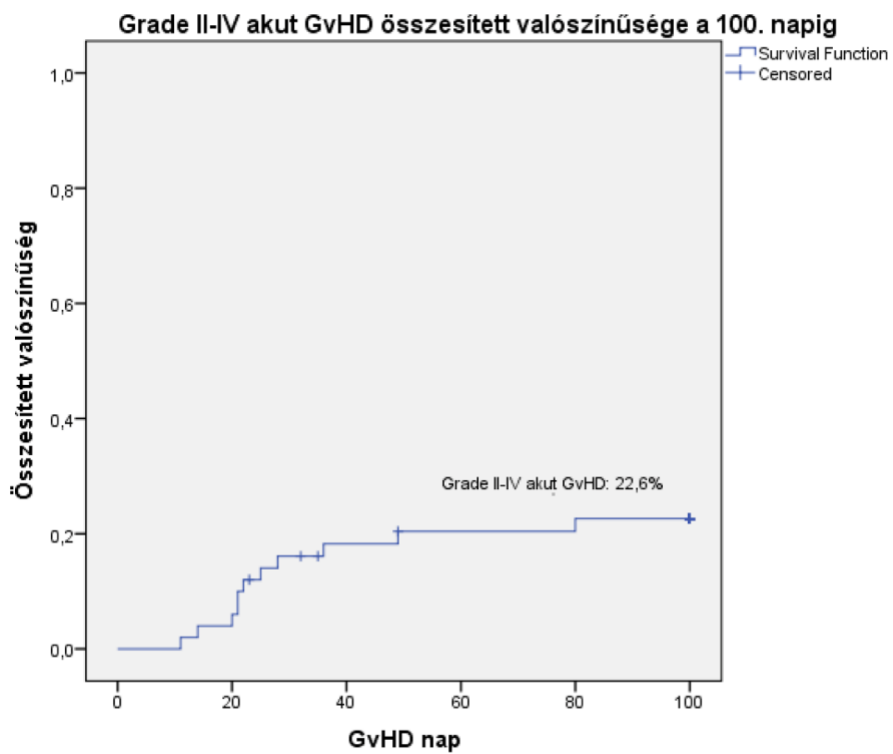
A kivizsgálás során paroxysmalis nocturnalis hemoglobinuria (PNH) klónját találtuk 6 betegnél, mindegyikük a hypocellularis RCC csoportba tartozott. Ezekben az esetekben sem a klinikai kép, sem a laborértékek nem utaltak klasszikus PNH-ra, a betegek egyetlen tünete a csontvelő elégtelenség volt. A klón mérete kicsi volt, sosem haladta meg a 20%-ot, szemben a klasszikus felnőttkori PNH-val. A két entitás kapcsolata ismert, jelen tudásunk szerint kis mennyiségben jelen lévő klón jó prognózist jelent MDS esetén (76).

Nemzetközi együttműködés keretében munkacsoportunk korábban is foglalkozott myelodysplasticus syndromák genetikai kutatásával (77). Citogenetikai és molekuláris vizsgálatokkal 14 esetben találtunk predisponáló tényezőt (leggyakrabban 7-es monosomiát, de 7q-, 5q-, 20q-, 8+ kromoszóma eltérések, CEBPA, TP53 és GATA2 molekuláris mutációk is előfordultak) (78, 79). Minden JMML-es beteg mutációját megtaláltuk (KRAS, NRAS, PTPN11, -7). A genetikai eltérések alcsoportokkal való kapcsolatát a Módszerek fejezetben található 1. táblázat jelzi.

A diagnózis és a kuratív kezelés (ATG, transzplantáció) között eltelt idő az összes beteg esetén medián 92 (3-393) nap volt, MDS esetén 92 (18-393), SAA esetén 28 (3-327) nap. A transzplantáció során alkalmazott első graft 84,3% százalékban tapadt meg, a 15,7%-os rejekciós ráta magas (10. ábra), de megfelel a csökkentett intenzitású (RIC) kondicionálások esetén szokásosan magas nemzetközileg is megfigyelt értékeknek (9). Hét esetben kényszerültünk retranszplantációra, a graft mind a 7 esetben megtapadt, a megtapadás (engraftment) hiánya miatt nem veszítettünk el beteget. Akut graft versus host betegség II-IV súlyossággal 22,6% (11. ábra), III-IV súlyossággal csak 6,8%-ban jelentkezett (12. ábra), míg betegeink 11,2%-a krónikus limitált GvHD tüneteivel lokális kezelés mellett jó életminőséggel él (13. ábra).

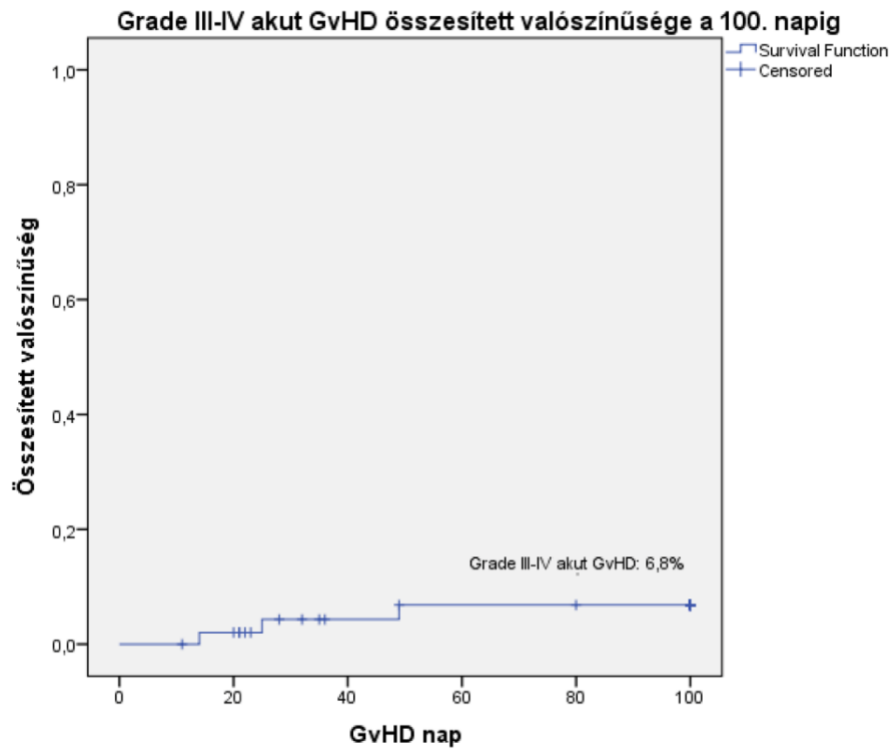


10. ábra: A megtapadás összesített valószínűsége

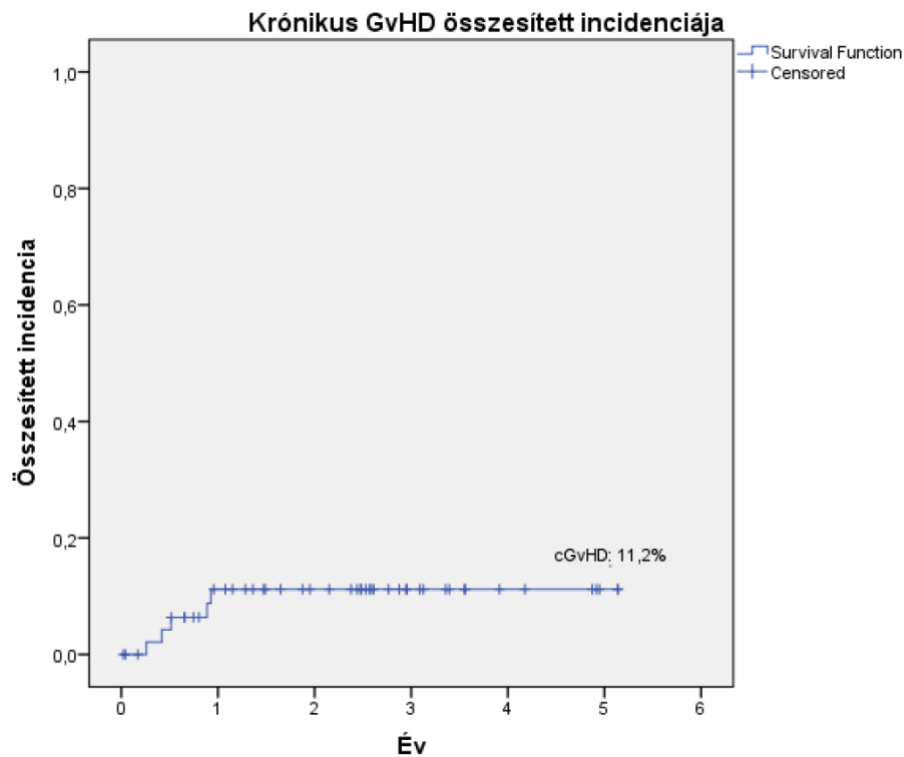


11. ábra: Grade II-IV akut GvHD (graft versus host betegség) összesített valószínűsége



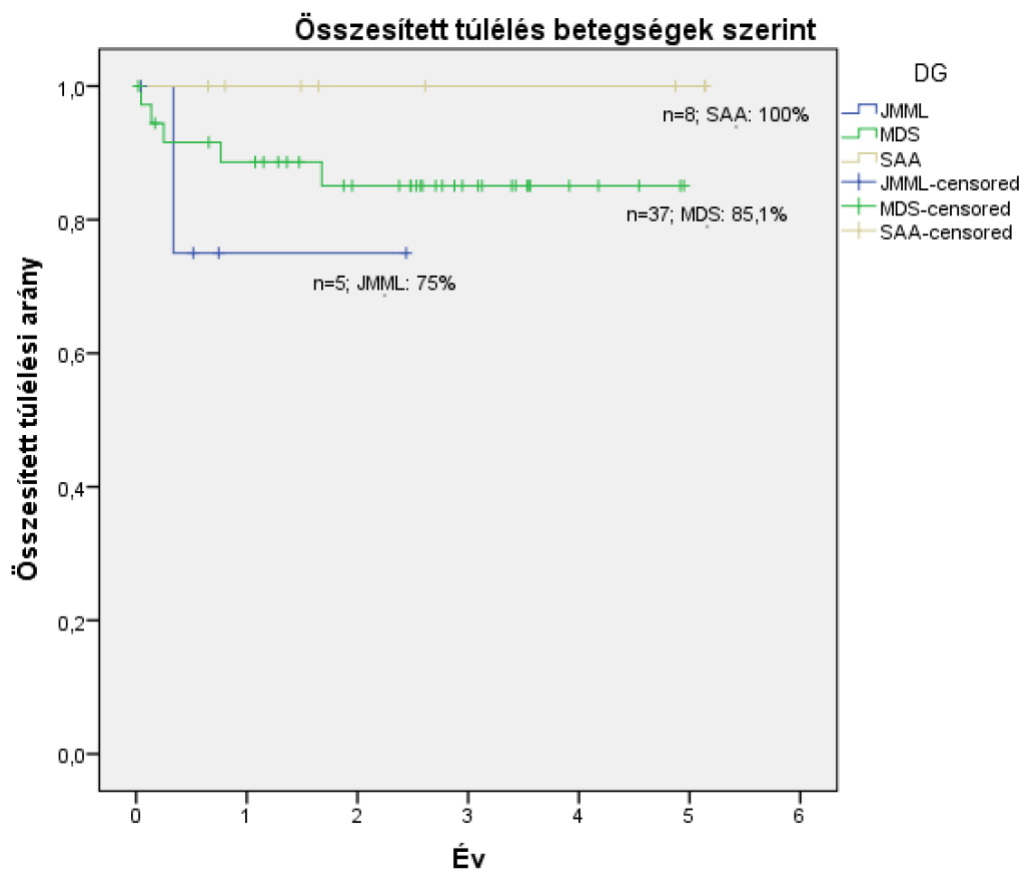


12. ábra: Grade III-IV akut GvHD (graft versus host betegség) összesített valószínűsége

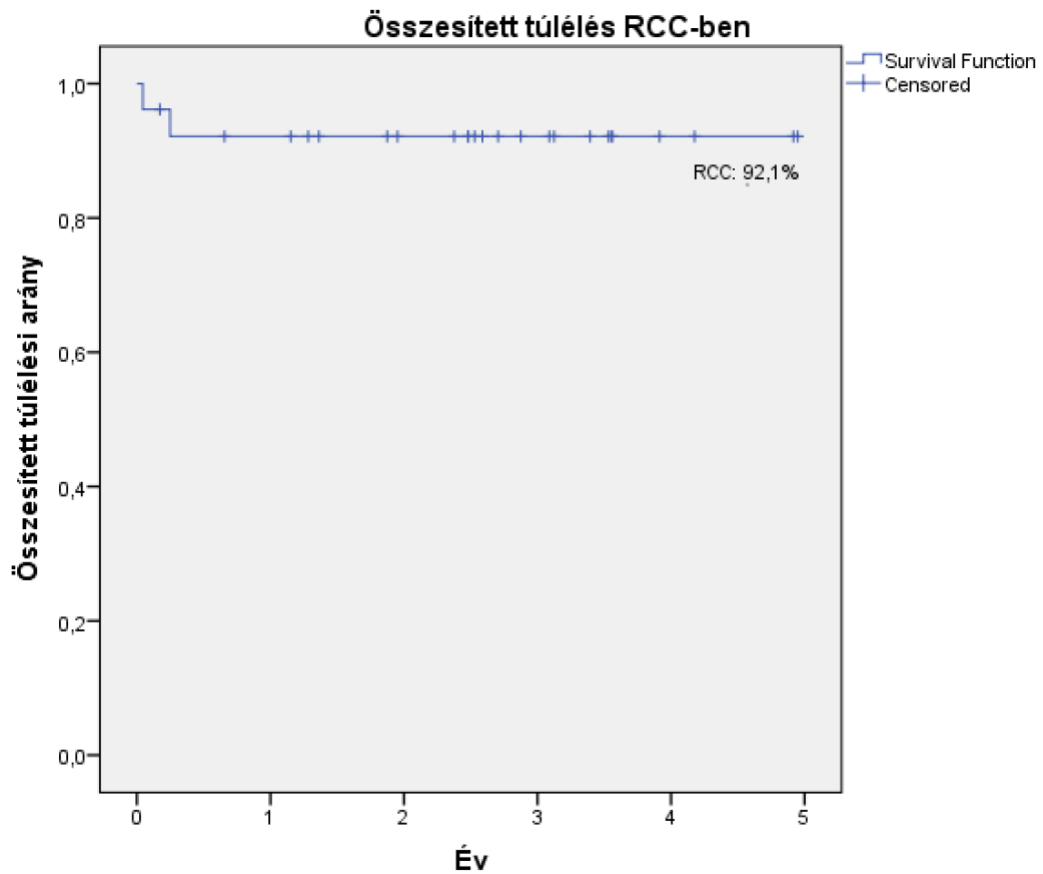


13. ábra: Krónikus GvHD (graft versus host betegség) összesített incidenciája

Súlyos aplasticus anemiában egyetlen beteget veszítettünk el a diagnózis és kuratív kezelés lehetősége előtt, thrombocytopeniás agyvérzésben. Az ATG-vel kezelt 1 beteg és a transzplantált 7 beteg mindegyike teljes remisszióban, normális hematológiai paraméterekkel él (14. ábra). A hypocellularis RCC miatt megfigyelt 4 beteg jelenleg stabil hematológiai paraméterekkel rendelkezik, szignifikáns infekció és hemosupportatio nélkül panasz- és tünetmentes. Az MDS miatt transzplantált betegek Kaplan-Meier szerint becsült összesített túlélése 85,1%. Ezt tovább bontva, az RCC-s betegeké 92,1% (15. ábra), az előrehaladott MDS-é 66,7%. JMML-ben 1 beteget veszítettünk el, becsült túlélés 75%. A medián követési idő 30,4 (1,1-62,5) hónap volt.



14. ábra: Összesített túlélés (OS: overall survival)

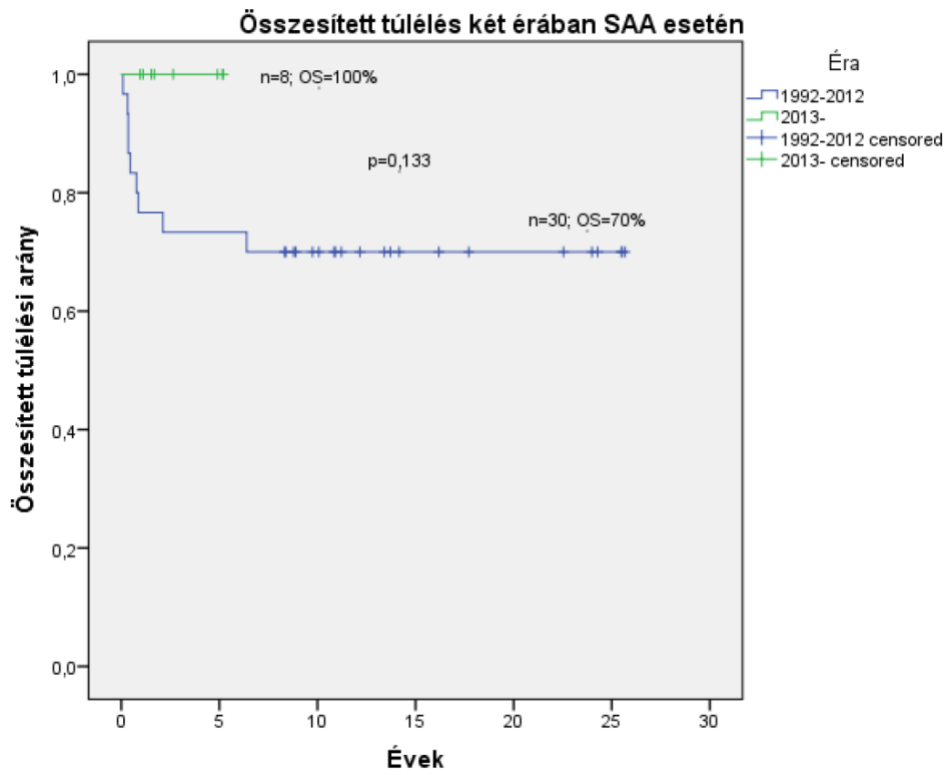


15. ábra: Összesített túlélés gyermekkori refrakter cytopeniában (RCC)

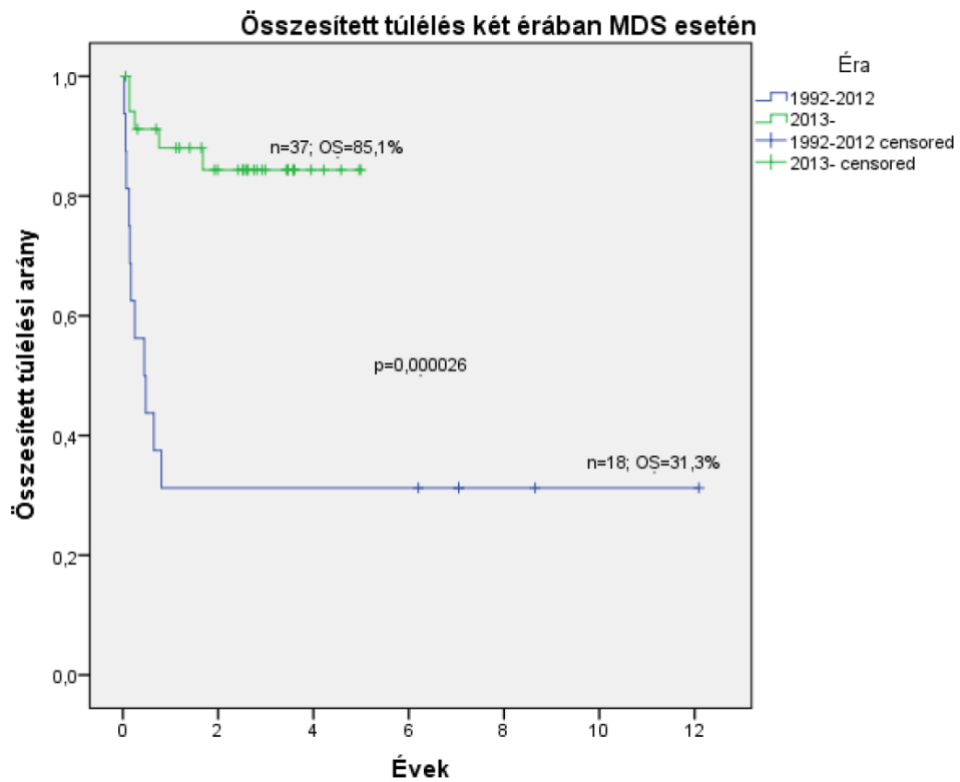
A halálozás elemzésekor kitűnik, hogy több beteg halt meg az alapbetegség visszatérése (relapsus) miatt, mint a kezelés szövődményében. Egy betegünknel Li-Fraumeni syndroma (TP53 mutáció) miatt már a harmadik malignus betegségként jelentkezett az MDS-EB, majd a transzplantáció után peritonealis blastosisban veszítettük el. A korábbi neuroblastomát és autológ transzplantációt követő, szekunder MDS miatt transzplantált betegnél az újabb buszulfán kezelés letális kimenetelű VOD-ot okozott (80). Myeloproliferatív jegyeket is mutató betegünk relapsusa terápia-refrakter acut myeloid leukemia formájában jelentkezett. A súlyos aplasticus anemia miatt korábban háromszor is ATG kezelést kapott gyermekünknel klonális evolúció következtében MDS jelentkezett; e beteget vérzéses JC/BK-vírus okozta cystitis kapcsán, thrombocytopeniás agyvérzésben veszítettük el. JMML-ben szintén relapsus miatt exitált betegünk. Hypocellularis RCC miatt mindössze egyetlen beteget veszítettük el: e beteg alkalmas

idegen donorral nem rendelkezett, a korábbi thrombocyta pótlások következtében szülői HLA molekulák elleni antitestekkel érkezett. A reménytelennek tűnő helyzetben végzett transzplantáció nem sikerült, összesen 3 graftot kapott, végül a megtapadással párhuzamosan jelentkező hemophagocytás lymphohistiocytosis okozta halálát.

Jelen túlélési görbéinket összevetettük az új protokollok bevezetése előtti eredményekkel. Megállapítottuk, hogy MDS esetén korábban nem relapsusban, hanem szinte kizárólag transzplantációs szövődményben veszítettük el betegeinket. A 18 betegből 11-et elvesztettünk a következő szövődmények következtében: sepsis (2), sokszervi elégtelenség (1), nem-megtapadás (1), ARDS (2), passenger lymphocytá syndroma (1), krónikus extenzív GvHD (1), akut GvHD (1) és diffúz alveoláris vérzés (1). Ennek oka elsősorban a kizárólagosan alkalmazott, nagy toxicitású, nem személyre szabott BuCyMel myeloablátív kondicionáló protokoll lehetett. Az SAA miatt transzplantált 30 betegből 7-et veszítettünk el (CMV pneumonitis (1), PTLD (1), aspergillosis (2), krónikus extenzív GvHD (1), hemorrhagias shock (1), candidiasis (1). A túlélés az új szemlélet nyomán egyértelműen javult, súlyos aplasticus anemiában trendszerűen 70-ről 100%-ra ( $p=0,133$ ; 16. ábra), myelodysplasticus syndromában szignifikánsan 31,3%-ról 85,1%-ra ( $p=0,000026$ ; 17. ábra). JMML esetében az alacsony betegszám miatt összehasonlító elemzést nem végeztünk.



16. ábra: Túlélési eredmények összehasonlítása súlyos aplasticus anemiában (SAA)

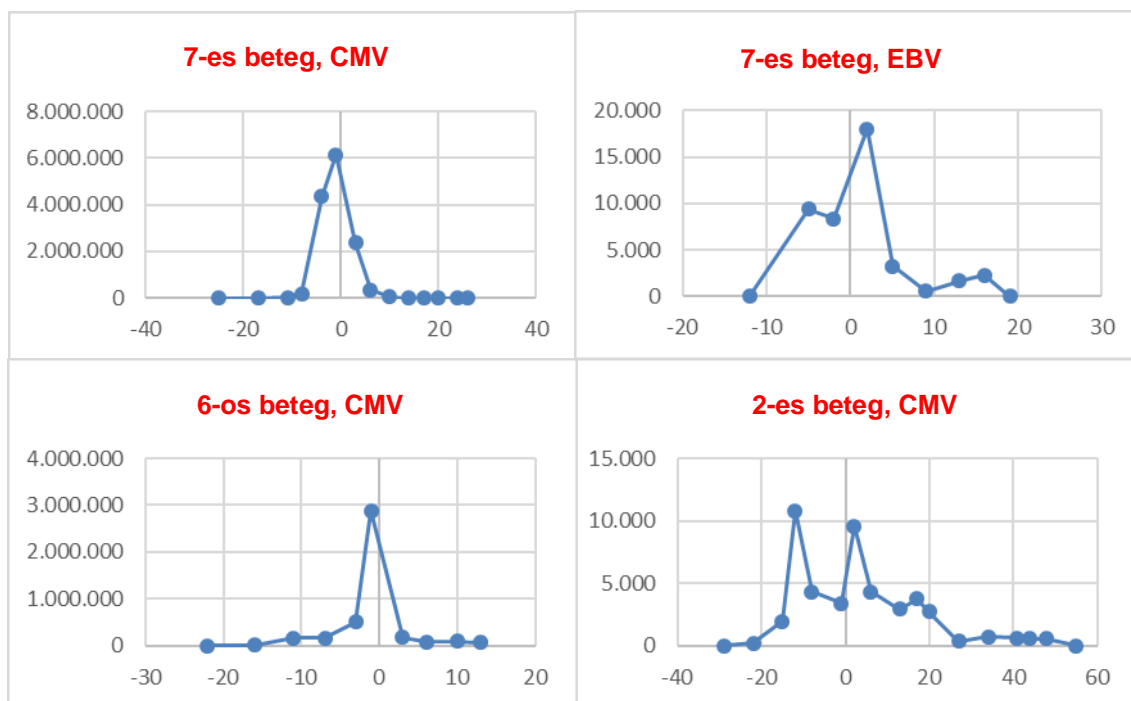


17. ábra: Túlélési eredmények összehasonlítása myelodysplasticus syndromában (MDS)

#### 4.2. Vírus-specifikus T-sejt kezelésben részesült betegek túlélési adatainak bemutatása

A CliniMACS Prodigy rendszer medián  $9,9 (6,7-25) \times 10^3/\text{kg}$  CD4+ és medián  $32,6 (16-125,1) \times 10^3/\text{kg}$  CD8+ interferon-gamma termelő sejtet szelektált, míg a gamma-interferont nem termelő, nem elkötelezett alloreaktív T-sejtek száma jóval a GVHD határ alatt maradt (medián  $3,6 (1,5-12,4) \times 10^3/\text{kg}$  CD4+ és medián  $3,85 (1,4-4,5) \times 10^3/\text{kg}$  CD8+ sejt, lásd4. táblázat. GvHD határnak az  $5 \times 10^4/\text{kg}$  sejtet vettük.

A készítményeket antihisztamin és paracetamol premedikáció után adtuk be. Egy beteg kivételével a sejt beadás eseménytelen volt. Ebben az esetben a T-sejt kezelés 3. napján nehézlégzés és hypoxia jelentkezett, mely oxigén és alacsony dózisu szteroid ( $0,7\text{mg}/\text{kg}$  5 napig) terápiára reagált. Akut GVHD miatt 5 gyermek tartós szteroid kezelést kapott, a dózist  $1\text{mg}/\text{kg}/\text{nap}$  alatt tudtuk tartani. Nyolc beteg teljesen tünetmentes lett, hét beteg esetében a viremia megszűnt. Minden esetben csökkenő vírus kópiaszámot mértünk, az első negatív vírusleletet a medián 13 napon ( $13-55$ ) értük el (lásd 18. ábra).



18. ábra: Vírus kópiaszámok változása a kezelés után (0. nap: T-sejt kezelés; vízszintes tengelyen az idő látható napokban, függőleges tengelyen a DNS kópiaszám)

4. táblázat: Vírus-specifikus T-sejtek jellemzői

BETEG	T-SEJT DONOR KOR (év)	T-SEJT DONOR NEM	ROKO NSÁGI FOK	HLA EGYE- ZÉS	T-SEJT KEZELÉS NAPJA (TX NAP)	CD4 TISZTA- SÁG (%)	CD8 TISZTA- SÁG	IFN- CD4+ (10e3/k g)	IFN- CD8+ (10e3/k g)	IFN+ CD4+ (10e3/k g)	IFN+ CD8+ (10e3/k g)	KÖVETÉS (nap)	KIMENETEL
1	60	F	nagy- apa		49	73,2	93.4	3,7	4,5	10,8	64,6	786	él
2	48	F	nagy- bácsi	n.a.	70	26,5	74.6	3,6	4,4	9	23	619	él
3	47	F	nagy- bácsi	n.a.	63	85,7	83.1	1,6	1,4	6,7	16	549	él
4	49	F	apa	3/6	62	94,4	98.7	1,5	1,6	25	125,1	521	él
5	42	F	nagy- bácsi	n.a.	109	80,7	29.9	6,1	2,6	25,5	1,1	71	meghalt, ok: Aspergillosis
6	36	F	apa	3/6	59	50,5	89.5	27,3	15,7	27,8	134	14	meghalt, ok: CMV pneumonitis
7	35	F	sógor	n.a.	59	39	92.4	12,4	3,3	7,9	40,3	44	meghalt, ok: Aspergillosis
8	47	F	apa	6/10	105	64,8	53.8	6,66	4,5	12,3	5,2	357	él
9	33	L	anya	3/6	113	68,3	85	6,1	4,4	13,1	25	350	él

Hat beteg van életben a vírusbetegség bármilyen jele és maradandó szövődménye nélkül, negatív vírus DNS vizsgálattal. A követési idő medián 535 nap (350-786). Egy betegünk CMV pneumonitise átmenetileg javult, de egy héttel később újból romlani kezdett, és dacára az intenzív terápiának és lélegeztetésnek, légzési elégtelenségben elvesztettük a +73. transzplantációs napon. A beteg és donora a transzplantáció előtt CMV-re szeronegatív volt, ezért friss infekció lehetősége merült fel (a transzplantációhoz tartozó protektív izolációt megtapadás után megszüntettük, az osztályunkról elbocsátottuk, így vírushordozókkal találkozhatott; fertőző vérkészítmény nem jött szóba, hisz minden transzplantáció recipiense szűrt, sugarazott készítményeket kap). Két másik

esetben a vírusbetegség javult vagy gyógyult, azonban a beteg később invazív aspergillosisban elhunyt a +103. és +180. transzplantációs napon. Nem észleltünk egy esetben sem de novo GVHD-t, rejekciót, szervi toxicitást és a vírusbetegség visszatérését sem.

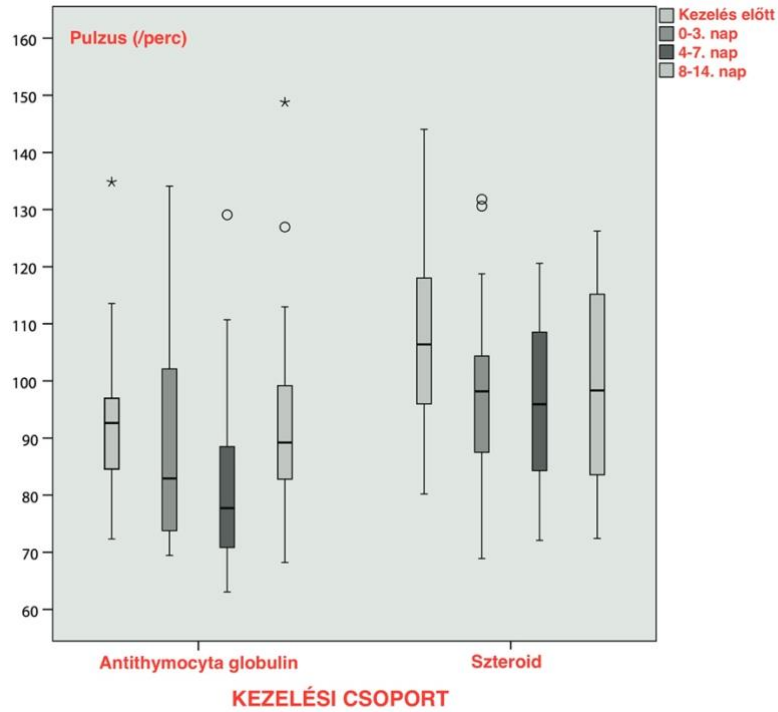
### **4.3. Az antithymocytoglobulin bradycardiát okozó hatása**

A 19. ábra mutatja a két kezelési csoport mért pulzusértékeit a terápia utáni különböző időpontokban. A pulzusok logaritmikusan transzformált értékeit a 20. ábra láttatja. Részletes leíró statisztikai elemzést mutatunk be a 5. táblázatban. A bradycardiás epizódok gyakrabban fordultak elő az ATG, mint a szteroid csoportban ( $p=0,0039$ , 6. táblázat), és a súlyos bradycardia is gyakoribb ( $p=0,0029$ , 7. táblázat).

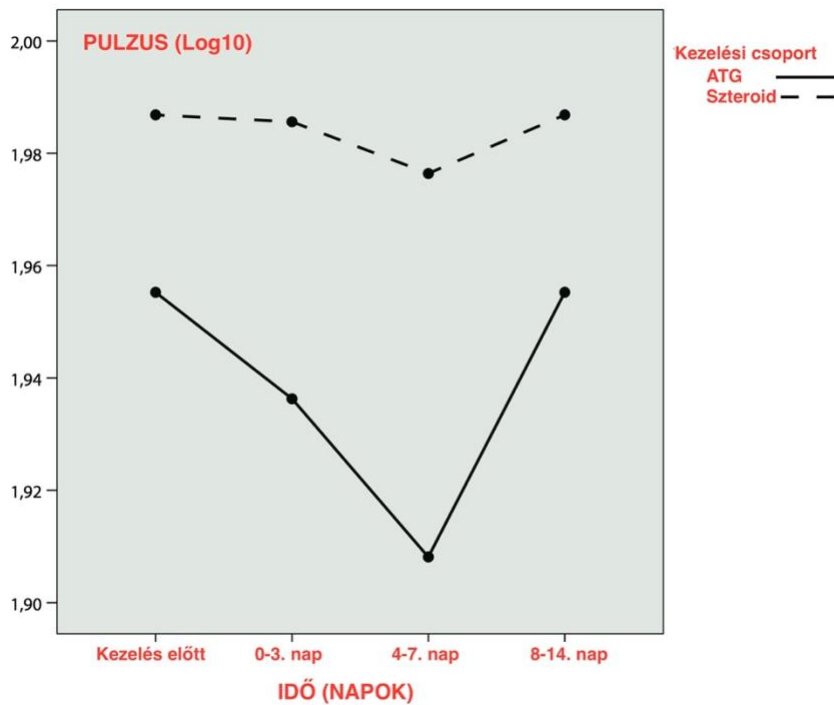
Szignifikáns különbséget találtunk az ATG és szteroid csoportban mért szívfrekvenciák között a 0-3. napon ( $F=4.388$ ,  $p=0.046$ ,  $\eta^2=0.101$ ) és a 4-7. napon ( $F=8.518$ ,  $p=0.006$ ,  $\eta^2=0.179$ ). Az ATG-t kapott csoportban szignifikáns összefüggést találtunk az idő és a szívfrekvencia között ( $F=8.09$ ,  $p<0.001$ ,  $\eta^2=0.278$ ). Az ATG-t kapott csoportban a 4-7. napon mért szívfrekvencia szignifikánsan alacsonyabb volt a kezelés előtti, illetve a 8-14. napon mért értékekkel összehasonlítva (95%CI: 0.020-0.074,  $p<0.001$ ).

Más paraméterekben nem találtunk különbséget a bradycard és nem bradycard csoport között (életkor, nem, egyéb vitális paraméter, laboreredmények, komorbiditások, ATG típusa (ló vagy nyúl, gyártó) vagy indikációja (profilaxis vagy terápia). Az alacsony pulzusszám minden esetben EKG-val dokumentált sinus bradycardia volt, mely semmilyen klinikai következménnyel nem járt.





19. ábra: Pulzusértékek változása a terápia utáni időpontokban (a vízszintes tengelyen a kezelési csoportok szerinti pulzusváltozásokat láthatjuk a megfigyelési intervallumokban, a függőleges tengely jelöli a szívfrekvenciát)



20. ábra: Pulzusértékek logaritmikusan transzformálva (a vízszintes tengelyen a megfigyelési intervallumokat látjuk, a függőleges tengelyen a mért pulzusértékek tízes logaritmus szerinti transzformációját; ATG: antithymocita globulin)

5. táblázat: ATG-vel és szteroiddal kezelt betegek szívfrekvenciájának változásai

CSOPORT	STATISZTIKAI PARAMÉTER		KEZELÉS ELŐTT	0-3. NAPIG	4-7. NAPIG	8-14. NAPIG
ATG	Átlag		94,31	87,76	82,25	91,82
	Az átlag standard hibája		2,83	3,62	3,42	4,01
	Az átlag 95%-os konfidencia intervalluma	alsó határ	88,43	80,23	75,13	83,47
		felső határ	100,19	95,28	89,37	100,16
	Medián		92,63	82,93	77,74	89,21
	Variansia		175,98	287,90	257,84	354,11
	Standard deviáció		13,27	16,97	16,06	18,82
	Minimum		72,33	69,45	63,05	68,20
	Maximum		134,81	134,11	129,08	148,78
SZTEROID	Átlag		107,59	98,01	95,92	98,53
	Az átlag standard hibája		3,87	3,78	3,62	4,03
	Az átlag 95%-os konfidencia intervalluma	alsó határ	99,46	90,08	88,32	90,06
		felső határ	115,73	105,94	103,53	107,00
	Medián		106,39	98,18	95,92	98,33
	Variansia		284,98	270,84	248,89	308,96
	Standard deviáció		16,88	16,46	15,78	17,58
	Minimum		80,21	68,90	72,08	72,42
	Maximum		144,04	131,80	120,58	126,22

6. táblázat: Bradycardiás epizódok előfordulása

KEZELÉSI ÁG	PULZUS		Chi-square: 8,437
	Bradycardia	Normális	p=0,0037
ATG	97	2253	2350 (62,6%)
SZTEROID	32	1369	1401 (37,4%)
	129	3622	3751 (100%)
	3,40%	96,60%	

**7. táblázat: Súlyos bradycardiás epizódok előfordulása**

KEZELÉSI ÁG	PULZUS		Fisher's exact
	Bradycardia	Normális	p=0,0029
ATG	13	2337	2350 (62,6%)
SZTEROID	0	1401	1401 (37,4%)
	13	3738	3751 (100%)
	0,30%	99,70%	

**4.4. Köldökzsínórvér-transzplantációk hosszú távú eredményei veleszületett betegségekben***4.4.1. Lesch-Nyhan syndroma*

A transzplantációt követő aplasiás időszakban grade 2 mucositis jelentkezett, egyéb súlyos szövödmény nem. A +16. poszttranszplantációs napon 100% donor vérképzéssel megtapadt, ezt short tandem repeat (STR) DNS-vizsgálattal igazoltuk. A +36. napon grade 2 akut bőr GvHD jelentkezett, melyet bőrbiopsiával igazoltunk. A folyamatot a két hétig adott 2mg/kg metilprednizolon kontrollálta, melyet később lassan leépítettünk. Szűrővizsgálatként végzett szérum galactomannan teszt pozitív eredményt mutatott, a preemptív stratégia részeként elvégzett mellkasi helikális CT vizsgálat multiplex apró nodulusokat mutatott. Valószínű invazív tüdő-aspergillosis indikációval vorikonazol kezelés indult, az egy hónap múlva elvégzett kontroll képalkotó a nodulusok eltűnését mutatta, a szérum galactomannan teszt is tartósan negatív lett. Egy évvel a transzplantáció után a ciklosporin is elhagyásra került, krónikus GVHD nem jelentkezett, sikeresen újra immunizáltuk.

A korai poszttranszplantációs időszakban a motoros dystonia és a spaszticitás fokozódott, mely jelentős irritabilitással párosult. A motoros teljesítmény és a kézügyesség romlott, akaratlan száj és vállmozgások jelentkeztek. Az ezt követő pár hónapban a kisfiú fokozatosan javult. A szérum HPRT szint fokozatosan normál tartományba emelkedett és az adenin foszforibozil-transzferáz csökkent (8. táblázat). A dystonia és a spaszticitás nem változott jelentősen, de a gyermek lassú mentális fejlődésnek indult. Három évvel a transzplantáció után, öt évesen képes segítséggel járni és rövid mondatokban beszélni. Öncsonkító viselkedés továbbra sincs jelen, ami meglehetősen ritka ebben az életkorban aktív betegség esetén.

**8. táblázat: HPRT és APRT enzimek aktivitása a vörösvértetekben a klinikai lefolyás során**

IDŐPONT	HPRT ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g Hb}$ ) normális tartomány: 3.5-6.0	APRT ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g Hb}$ ) normálistartomány: 0.7-1.3
Diagnózis	0	2,0
+77. nap	2,5	2,4
+154. nap	3,5	1,6

*4.4.2. WHIM syndroma*

A korai poszttranszplantációs időszakban grade 2 mucositis zajlott, mely miatt a beteg minor analgetikumokat kapott. A kilencedik poszttranszplantációs napon neutropeniás láz jelentkezett, amely piperacillin és tazobactam kezelés mellett megszűnt. A +25. napon közepes fokú dysuria és hematuria jelentkezett, mely DNS-vizsgálat alapján JC/BK vírus által okozott cystitis volt. Tüneti kezelésként oxibutinint és hidrálást indítottunk, emellett javult. A következő hetekben a korábbi obstructív bronchitis fellángolását észleltük, a +49. napon CT-vel igazolt lobáris pneumonia jelentkezett. Bronchoalveolaris lavage (BAL) során nyert minta mikrobiológiai feldolgozása során *Streptococcus pneumoniae* tenyésztett. Az alsó légúti betegség jól reagált meropenem és bronchodilatator kezelésre. Akut vagy krónikus GVHD-t nem észleltünk. Az abszolút neutrophil szám a +32. napon meghaladta a 0,5G/l értéket, a +48. nap után nem szorult thrombocyta transfúzióra. Az immunrekonstitúció is gyorsan zajlott, a +100. napon normális IgG, IgM és IgA szinteket mértünk.

A megtapadás után a donor eredetű sejteket kromoszóma analízissel (XY FISH) és variable number tandem repeat módszerrel (VNTR) igazoltuk. A +55. napon még 12% recipiens sejteket találtunk, melyek a későbbiekben 5% alá csökkentek (teljes donor kimériszmus). A követés során a beteg fehérvérsejtszámai, B-lymphocytá száma és szérum immunglobulin szintjei normalizálódtak, G-CSF vagy intravénás immunglobulin szubsztitúció nélkül. Egy évvel a transzplantáció után közel normális hematológiai és immunológiai paramétereket mérhettünk (9. táblázat). Életvitele a következő években, egészen a mai napig normális, visszatérő infekciók és transzplantációs komplikációk nélkül.

**9. táblázat: Hematológiai és immunológiai paraméterek alakulása WHIM syndroma transzplantációja során**

TESZT	TRANSZPLANT ELŐTT		TRANSZPLANT UTÁN		NORMÁLÉRTÉK	
<b>Betegségmentes időszak</b>						
Fvs (G/l)	0,6-2,1		3,4-3,6		4,5-10,8	
ANC (G/l)	0,1-0,96		1,18-1,77		1,9-7,7	
<b>Fertőzések alatt</b>						
Fvs (G/l)	0,7-11,8		-		-	
ANC (G/l)	0,43-5,3		-		-	
<b>Lymphocyta altípus</b>						
	μl	%	μl	%	μl	%
B	26,45	2,3	317	25	100-700	10-31
T	931	81	750	59	1300-3700	55-78
CD4	506	44	457	36	500-2200	27-53
CD8	138	12	254	20	220-1300	19.34
NK	92	8	139	11	100-720	4-26
<b>Ig szint (g/l)</b>						
IgG	4,02		11,5		5,4-15,1	
IgA	0,43		0,64		0,52-3,25	
IgM	0,45		0,74		0,52-1,5	
<b>Specifikus antitest szintek (IU/ml)</b>						
Tetanusz	2,35		0,27*		>0,1	
Diftéria	1,4		0,3*		>0,1	

\*transzplantáció után, revakcináció előtt

## 5. MEGBESZÉLÉS

### 5.1. Paradigmaváltás a gyermekkori szerzett csontvelő-elégtelenséggel járó kórképek kezelésében Magyarországon

A Magyar Gyermekonkológiai Hálózat teljes jogú és aktív tagja az EWOG nemzetközi munkacsoportnak, jelen disszertáció szerzője az együttműködés nemzeti koordinátora. A változtatásokkal a hazai betegek számára a korszerű diagnosztika és terápia lehetőségét teremtettük meg. A referencia patológia és genetika bevezetésével lehetőség nyílt az egységes diagnosztikára, nemzetközi regiszterben történő részvételre, megalapozott terápiás döntések hozatalára. Elmondhatjuk, hogy a protokollhoz történő csatlakozással drámaian megemelkedett e betegségben szenvedő gyermekek túlélési aránya.

Ennek háttérében elsősorban a hypocellularis gyermekkori MDS (RCC) entitás elkülönítése, referencia centrumban történő diagnosztizálása és a betegség biológiájához szabott redukált intenzitású kezelése áll. Az előző évtizedekben, a pontos diagnózis hiányában e betegeket súlyos aplasticus anemiának tartva, ATG és ciklosporin kezelésben részesítettük, ami elfogadható, de sokkal kisebb gyógyulási arányt eredményezett. A betegeket elsősorban a tartós neutropeniához és az immunsuppressív kezeléshez társuló iatrogen infekciókban veszítettük el. A másik oldalon pedig szükség volt annak felismerésére, hogy a hypocellularis csontvelő, rossz prognózist jelentő genetikai eltérés hiányában nem igényel myeloablatív kondicionálást, hiszen nagyon kevés a relapsus, viszont magas a transzplantációs halálozás (9). A redukált intenzitású előkészítéssel transzplantált hypocellularis RCC-s betegeink egyetlen kivétellel meggyógyultak, a 92,1%-os összesített túlélési eredményünk eléri az EWOG nemzetközi, 84%-os értékét (9).

A súlyos aplasticus anémiás betegeink a megkezdett kuratív kezelés után az elmúlt 5 évben mind meggyógyultak (az egyetlen beteg elvesztése a diagnózis előtt történt). Nagyon fontos adat ennek háttérében, hogy a diagnózis felmerülésének pillanatától (első csontvelő-vizsgálat) a gyógyító beavatkozásig mindösszesen medián 28 nap telt el. Ismert tény, hogy a terápiás kudarc oka elsősorban a kezelés halogatása, a csontvelői rezerv kapacitás végső kimerülése. Éppen ezért a gyors és precíz diagnózis felállításában ismét hangsúlyoznunk kell a nemzeti referencia diagnosztika és a transzplantációs

központokban történő kezelés szerepét. Túlélési eredményük meghaladja más munkacsoportok 91,3%-os értékét (81).

Az ATG-kezelés gyógyító hatása képleltetett, és az idegen donorkeresés is hónapokat igénylő folyamat. Ezért két komoly infekcióval és/vagy vérzéssel érkező, HLA-identikus családi donorral nem rendelkező, nagyon súlyos aplasticus anemiás betegünk sürgős transzplantációja esetén ezt nem volt módunk megvárni. Idegen donor regiszterrel nem rendelkező távol-keleti országok haploidentikus szülői transzplantációt végeznek ebben az esetben (81-83). Betegeink számára az utóbbi években előtérbe kerülő, TCR alfa-béta és CD19 negatív szelektált haploidentikus szülői graft nyújtotta a megoldást. Ezt a beavatkozást egyre gyakrabban végezzük más indikációkban is, további meggyőző eredmények esetén jelentősen kibővítheti a szóba jövő donorok számát és lerövidítheti a transzplantációra várakozás idejét (84).

A súlyos aplasticus anemiás és RCC betegeink jelenlegi eredményeinek és a múltbeli adatoknak az összehasonlítása során nem szabad elfeledkezni arról, hogy a múltbeli diagnózisok nem biztos, hogy minden esetben helytállóak. Az egységes patológiai diagnosztika bevezetése előtt ezen nehezen megkülönböztethető kórképek interpretálása nagymértékben egyéni preferenciákon múlt. Elképzelhető, hogy sok gyermekkori hypocellularis myelodysplasticus syndroma (RCC) valójában súlyos aplasticus anémiának lett diagnosztizálva és kezelve. Ez azonban nem változtat azon a tényen, hogy mindkét betegcsoport túlélési eredményei drámaian javultak.

Jó eredményeket értünk el az előrehaladott MDS-ek esetében is, a 66,7%-os összesített túlélés ebben a betegcsoportban is kiváló, eléri az EWOG csoport 63%-os értékét (6). A terápiás kudarc oka többször a relapsus volt, és nem transzplantációs szövődmény. A korábbi időszak halálzáseiból ismert súlyos szervi toxicitások nem voltak jellemzők ezekre a betegeinkre. A különbséget vizsgálva az utóbbi néhány év innovatív lehetőségei között találtuk meg a magyarázatot. A buszulfán, mint alkilálószer, az egyik legrégebben alkalmazott kemoterápiás szer a vérképző őssejt-transzplantációk kondicionálásában. Kiváló daganatellenes és myeloablatív tulajdonságai miatt optimális gyógyszer a csontvelő előkészítésére, azonban betegenként nagy egyéni változatosságot mutató metabolizmusa miatt súlyos mellékhatások okozója. Az utóbbi években dolgozták ki klinikai farmakokinetikai vizsgálatok szerinti adagolását (62). A módszer bevezetése óta nem észlelünk súlyos nyálkahártya károsodásokat, következményes véráram

fertőzéseket és veno-okkluzív betegséget (VOD-ot) sem, továbbá nem veszítettünk el beteget transzplantációs szövődmény miatt. A súlyos szövődmények nélkül végzett transzplantációkhoz hozzájárult a hatékony, pozakonazollal végzett fonalas gomba elleni profilaxis, a graft versus host betegség esetén adható mesenchymalis őssejt-terápia és a súlyos virális reaktivációkat kontrolláló, munkacsoportunk által is közölt vírus-specifikus T-sejt terápia (32).

Összefoglalásként megállapíthatjuk, hogy a gyors referencia diagnosztika és az egységes kezelési protokollok bevezetése paradigmaváltást jelentett a gyermekkori szerzett csontvelő elégtelenségek kezelésében. A hypocellularis myelodysplasticus syndroma redukált intenzitású kondicionálása, a TCR alfa-béta negatív haploidentikus transzplantáció, vírus-specifikus T-sejtterápia és a buszulfán farmakokinetikai adagolás bevezetése óta ennek a betegcsoportnak a túlélése szignifikánsan növekedett.

## **5.2. A vírus-specifikus T-sejt terápia, mint innovatív és hatékony kezelési lehetőség**

A különböző, perzisztáló vírusok reaktivációja mindig is jelentősen hozzájárult a vérképző őssejt-transzplantációk morbiditásához és mortalitásához. Az újabban fejlesztett antivirális szerek ellenére a vírusbetegségek továbbra is valós fenyegetést jelentenek. Korábbi immunterápiás megközelítéseink sorra kudarcba fulladtak. A tenyésztett adaptív T-sejtek beadása, a szervezés megkezdésétől a sejtek beadásáig majdnem két hónapba került. Szelektálatlan donor lymphocita infúziót (DLI) a legtöbb esetben nem adhattunk, a sokszor jelen lévő súlyos, grade 2-4 GVHD további fellángolásától való félelem miatt (14). Mivel országunkban elérhetetlen a tipizált, gyakori HLA-haplotípust hordozó önkéntes donorok csoportja, nincs lehetőség „off-the-shelf”, azonnal a fagyasztóból elérhető, mindenki számára hozzáférhető T-sejt bank kiépítésére, ezért arra sem támaszkodhattunk (21, 22). ACliniMACS Prodigy® CCS (IFN-gamma) rendszer bizonyult az egyetlen kivitelezhető útnak vírus-specifikus T-sejtek előállítására.

E technológia a stimulált vírus-specifikus T-sejtek gamma-interferon szekrécióján alapul. A MACS GMP PepTivator stimuláló 15-mer peptidek a vírus jellemző fehérjeszerkezetével a CD4 és CD8 sejtek epitópjaihoz is kötődnek. (85). Mivel a sikeres szelekció előfeltétele, hogy a donor T-sejtjeit ezekkel a PepTivátorokkal stimulálni



lehessen, a donorszűréshez a szerológiai tesztek nem megfelelőek. Léteznek szeropozitív, tehát az adott vírus okozta infekción átesett, interferont mégsem szekretáló egészséges önkéntes donorok (ők valószínűleg alternatív védekező mechanizmust használnak a vírus elleni védekezésre). Éppen ezért az alkalmas donor megkereséséhez a majdani szelekcióhoz hasonlóan, a gamma-interferon szekréció detektálására van szükségünk, melyet áramlási cytometriai módszerrel végeztünk. Saját tapasztalatunk szerint az egészséges családi donorok 88, 65 és 50 százaléka bizonyult alkalmas donornak CMV, adenovírus és EBV esetében. Mivel nem elhanyagolható számú esetben egynél több vírus ellen is aktív T-sejtekre van szükségünk, a szűrővizsgálatra optimális közeli rokon donorok számát 6-8 személyben határoztuk meg (ennyi személy szűrésével találhatunk nagy biztonsággal egy vagy több vírus ellen hatékony immunmemóriát hordozó donort).

Korábbi tanulmányok szerint akkor számított egy vírusbetegség terápia rezisztensnek, ha adekvát antivirális kezelés mellett 14 nap után is fennállt vagy növekedett a vírus kópiaszám a vérben (26). Ugyanakkor a magas rizikójú betegek mély immunsuppressiója, T-sejt hiánya, súlyos fokú GvHD jelenléte, emelkedő vírus kópiaszám vagy előrehaladó vírusbetegség nem teszi lehetővé a két hétig tartó várakozást. A potens vírus-specifikus T-sejtek is nagyobb hatásfokkal tudnak harcolni a vírusok ellen, ha korán adva, kisebb vírus tömeggel és kevesebb szervi károsodással kell megküzdeniük, mint ha végállapotú beteget kell meggyógyítaniuk (29). A T-sejtek adásának optimális időpontja máig élénk vita tárgya, egyes tanulmányokban akár megelőzőként is adták, kiváló eredményekkel (86, 22, 87).

Az egyébként is súlyos, poszttranszplantációs immundeficiencia tovább súlyosbodott 5 esetben grade II-IV, 4 esetben grade IV GvHD-val. Ebben a súlyos szövődményben a kortikoszteroid kezelés az egyetlen evidencia alapú megközelítés, így értelemszerűen minden beteg nagy adag szteroid kezelést kapott. Ez a terápia azonban közismerten T-sejt apoptosist okoz (éppen ez a szteroidok immunsuppressív hatásmechanizmusának egyik pillére). A nagy dózisú szteroid kezelés kizárási kritérium is volt egy vírus-specifikus T-sejt tanulmányban(21). Következésképp, arra törekedtünk, hogy a T-sejt infúzió időpontjában (és utána) a beteg ne kapjon 1mg/kg-nál magasabb szteroid dózist, elkerülve vagy csökkentve a T-sejt apoptosist.

Vírus-specifikus T-sejtről szóló tanulmányunknak számos korlátja volt. A donorok HLA tipizálása és ezek szerint történő szelekciója nem volt lehetséges a sürgős klinikai

helyzetekben. Tisztában voltunk azzal a veszéllyel, hogy egy HLA nem egyező donor sejteji kudarcot vallhatnak (14, 22), de még a fagyasztóban készenlében tartott, csak részben HLA-egyező multispecifikus T-sejt készítmények is 60-70%-os válaszrátát produkáltak (21, 22). Ezért törekedtünk arra, hogy a donorokat a közeli családból, lehetőleg elsőfokú rokonok közül válasszuk. Haploidentikus HLA-lelet csak a szülőkről állt rendelkezésre, őket mindenképpen előnyben részesítettük és valóban ők lettek a donorok majdnem az esetek felében. A többi esetben a szülők T-sejtjeit sajnos nem lehetett stimulálni a célzott vírus peptidjeivel. Ezekben az esetekben másodfokú donorokat teszteltünk, így lett 3 nagybácsi és 1 nagyapa donorunk. Csak egy betegnek nem találtunk donort a közeli családból, így ő nem vérrokondonortól kapott sejteket, mely mellett a vírusferőzés szintén sikerrel gyógyult. Eredményeink nem különböznek jelentősen azon munkacsoportok beszámolóitól, amelyekben szintén gamma-interferon szelektált T-sejteket használtak (24, 28, 30), ugyanakkor HLA-lelet nélkül eredményeink interpretálása nehéz.

A szülőkön kívül egyik donorunkról sem állt rendelkezésre a HLA-tipizálás lelete, ezért a HLA-egyezés hatását nem tudtuk elemezni. Azonban minden, ismeretlen HLA-státuszú donor által adott sejt hatékonynak bizonyult klinikailag, míg az egyetlen terápiás kudarc egy apai haploidentikus sejterápia esetén volt megfigyelhető. Ebben az esetben azonban nem a HLA különbözőség, hanem egy frissen szerzett, nem reaktivált, sokmillió kópiaszámmal jelentkező infekció lehetett a kudarc oka (a beteg és az őssejt-donor is szeronegatív volt a transzplantációt megelőzően). A beavatkozások sürgőssége miatt szerológiai tesztek sem végeztünk, hiszen a donor szelekciós tényező nem a szeropozitivitás, hanem a gamma-interferon termelési képesség volt.

A vírus-specifikus T-sejtek hatása még egyes reagáló betegek esetén sem bizonyítható. A vírus kópiaszám, melyet kvantitatív PCR módszerrel mértünk a perifériás vérben, már 4-7 nappal a T-sejtek infúziója után elkezdett csökkenni (lásd 18. ábra). Bár elképzelhető ilyen gyors reakció az irodalmi tapasztalatok szerint, a T-sejtek proliferációjához és az antivirális hatás teljes kifejtéséhez más tanulmányok szerint 1-2 hétre is szükség lehet. Ezért megmaradt az a lehetőség, hogy a kedvező terápiás válasz legalábbis részben a már korábban indított és hatástalannak minősített kombinált antivirális vagy antitest terápia késői hatásának köszönhető. A vírus-specifikus T-sejtek

arányát a sikeres beavatkozás után nem vizsgáltuk a betegek vérében, ezért a farmako- és az immunterápia hatása teljes biztonsággal nem különíthető el egymástól.

A CliniMACS Prodigy® CCS (IFN-gamma) rendszerrel előállított vírus-specifikus T-sejt terápia teljesen automatizált, gyors, biztonságos és hatékony eljárásnak bizonyult gyermekkori allogén vérképző őssejt-transzplantáció utáni rezisztens virális betegségek kezelésére. Ez a módszer az esetek többségében pár nap alatt kivitelezhető, ami a refrakter vírusbetegségek minél korábbi kezelésében nagyon fontos előny. Egy eset kivételével teljes terápiás választ értünk el. Az egyetlen kudarcot friss vírusfertőzés esetén figyelhettük meg. Kifejlődő vagy rosszabbodó GvHD nem jelentkezett. Megmutattuk, hogy a HLA-egyezés nem kell feltétlenül kötelező szerepet játsszon a donorkeresésben.

### **5.3. Antithymocytoglobulin és bradycardia – veszélyes szövődmény?**

Retrospektív adatelemző tanulmányunkkal megmutattuk, hogy az ATG kezelés egyértelműen összefügg a bradycardiás epizódok nagyobb számával súlyos aplasticus anemiás vagy GvHD profilaxis miatt kezelésben részesült gyermekeknél. A tanulmány retrospektív jellege és az egyéb befolyásoló tényezők nagy száma miatt nem tudunk egyértelműen ok-okozati kapcsolatot kimutatni az ATG és a bradycardia között. Mindazonáltal érdemesnek tűnik megfontolni, hogy a bradycardia gyakoribb előfordulása kardiológiai mellékhatást jelent az ATG csoportban.

Ma már jól ismert, hogy antitestek képesek befolyásolni a szinuszcsomó és az atrioventricularis junctio működését. A szisztémás lupus erythematosus (SLE) betegséghez tartozó anti-SSA/Ro antitestek a méhlepényen átjutva sinus bradycardiát okoztak újszülöttnél (88, 89). Ezen kívül mind az anti-SSA/Ro, mind az anti-SSB/La antitestek képesek atrioventricularis blokkot okozni újszülöttnél (90-96). Allo-antitestek szerepet játszhatnak a transzplantált szív rejekciójában (97-99). Mindezen tapasztalatok alapján feltételezhető, hogy a polyclonalis ATG készítmény tartalmazhat olyan xeno-antitesteket, melyek a fenti mechanizmusok valamelyikével sinus bradycardiát okozhatnak.

Bradycardiához vezethetett volna az emelkedett koponyaűri nyomásra adott szisztémás hemodinamikai válasz. Erre utaló emelkedett vérnyomás-értékeket azonban nem találtunk ATG adás után, és egyetlen betegnek sem jelentkezett más, emelkedett koponyaűri nyomásra jellemző tünete. Nem találtunk lényeges légzéssel szinkron

ritmuszavart, sem alacsony vérnyomást, ami fokozott vagus izgalomra utalhatott volna. Mivel a sinus bradycardia teljesen önállóan, minden más hemodinamikai jel nélkül jelentkezett, ez leginkább izolált kardiális eredetűnek tűnik. Megjegyezzük, hogy nem találtunk különbséget a különböző eredetű és típusú ATG készítmények bradycardia okozó hatása között – de természetesen az alacsony betegszám (ATGAM: 3 beteg, ATG Fresenius: 3 beteg) miatt ez nem is lehetne szignifikáns.

Az ATG a legaktívabban kommunikáló emberi sejteket, a T-lymphocytákat pusztítja, ezért beadásakor rendszerint súlyos cytokin vihar jelentkezik. Ezt megelőzendő intézményi protokollunk magas dózisu szteroid profilaxist ír elő, aminek szintén van bradycardiát előidéző mellékhatása. Valóban, egy 61 beteget tartalmazó vizsgálatban ALL és GvHD kezelése során bradycardiát jegyeztek fel gyermekeknél (100). Azonban ez a mellékhatás inkább a szteroidok koonyaúri nyomásfokozó hatásának tulajdoníthatók, mert magas szisztolés és diasztolés vérnyomás értékeket is mértek ezeknél a betegeknél. A mi eredményeink nem támasztják alá ezt a megfigyelést, mivel a mi betegeinknél ez a vérnyomás emelő hatás nem volt megfigyelhető a kezelés során. Bár a legalacsonyabb pulzusok a szteroid csoportban is alacsonyabbak voltak a kiinduláskor mérteknél, ezek nem voltak olyan mélyek, mint a kombinált ATG-szteroid kezelésnél. Feltételezésünk szerint az történt, hogy a szteroid csoportnak a szisztémás gyulladásos betegség (GVHD) miatt amúgy is magasabb volt a kiindulási pulzusa (lásd 5. táblázat és 19. ábra), melyet a hatékony kezelés normalizált. Az ATG kezelés viszont az alapjáraton normális pulzusszámot képes csökkenteni és akár súlyos bradycardiát okozni.

Ez a vizsgálatunk is rendelkezik komoly korlátokkal. A betegpopuláció nem volt egységes az alapbetegség tekintetében. Adatelemzésünk retrospektív volt, viszonylag szerény betegszámokkal. Olyan betegektől gyűjtöttünk adatokat, aki egyszerre kaptak ATG-t és szteroidot – de mivel ezek a kezelések meghatározott protokollok szerint zajlanak, további vizsgálatok végzésére nincs lehetőség. Az ATG szteroid nélküli beadása nem lehetséges.

## 5.4. Köldökzsínórvér-transzplantáció, mint megfontolandó lehetőség

### 5.4.1. Lesch-Nyhan syndroma

Az életet megnyomorító Lesch-Nyhan syndroma a kezdetektől természetes jelölt volt szomatikus génterápiás próbálkozások kifejlesztésére. Herpes simplex vírus (HSV), Epstein-Barr vírus (EBV) és adenovírus vektorokkal is megpróbálták in vitro bejuttatni a hiányzó gént a deficiens sejtekbe. A teljes HPRT locust transzferálták, ami a hiányzó enzimet expresszáta 6 hónapig emberi sejt kultúrákban (101). Az így megfertőzött emberi sejtek elég magas enzimszinteket expresszáltak, korrigálták az abnormális purin metabolizmust (102) és visszaállították a normális humán HPRT funkciót (103). In vitro HSV vektorral fertőzött egerek agyában humán HPRT mRNS-t mutattak ki (104). Ezek a kezdeti tanulmányok demonstrálták a sejtterápia lehetőségét ebben a betegségben. Mi azt feltételeztük, hogy a donor eredetű monocyta-macrophag rendszer hasonló vektorként tud viselkedni, és eljuttatja a hiányzó gént az agyba.

Ismereteink szerint összesen két esetben próbálkoztak LNS betegek vérképző őssejt-transzplantációjával, sajnos sikertelenül. Az első beteget 1985-ben transzplantálták, 22 évesen. A kísérleti csontvelő átültetés után normális enzimszinteket mértek, de a beteg neurológiai állapota és viselkedése nem változott. A szerzők a túl késői transzplantációt és a már kifejlődött neurológiai deficitet okolták a klinikai kudarcért. A betegség korábbi szakaszában, a teljes tünetegyüttes kifejlődése előtt felvetették a beavatkozás sikeres elvégzésének lehetőségét (47). A második beavatkozást egy 16 hónapos kisfiún végezték el, aki sajnos a transzplantációt követő 10. napon meghalt. A halál ok ismeretlen maradt. Mivel a halál a megtapadás előtt következett be, a beavatkozás hatásának elemzése lehetetlen (46).

Más anyagcsere-betegségekben évtizedek óta sikerrel végzett őssejt-transzplantációk tucatjai után úgy döntöttünk, ennél a kisfiúnál elvégezzük a beavatkozást. Engedélyt kértünk és kaptunk a megfelelő regulációs szervezetektől. Köldökvér-egységet kerestünk és rendeltünk transzplantációs graftnak, hiszen élő önkéntes donor veszélyeztetése experimántális indikációval nem lett volna etikus. A 6/6-os HLA egyezés kedvező kimenetelt és alacsony GvHD incidenciát jósolt. Az előkészítő kondicionáló kezelés több kérdést vetett fel. A veleszületett anyagcsere betegségekben a myeloablatív, csontvelőt teljesen elpusztító kezelés számít gold standardnak. Az ekkor alkalmazott nagy dózisú buszulfán kezelésnek ismert az endothel károsító hatása, mely

meggyengíti a vér-agy gátat is, lehetőséget adva a donor eredetű sejteknek a gyors agyi penetrációjára (105, 106). Azonban a fent említett, második sikertelen transzplantáció közleményében a szerzők éppen azt diszkutálják, hogy a toxikus buszulfán tartalmú kondicionálás szerepet játszhatott a kudarcban. Abban az időben buszulfán terápiás szintmérés - amivel manapság sok súlyos szövődményt tudunk megelőzni - nem volt elérhető.

Szóba került egy csökkentett toxicitású kondicionáló kezelés (RIC) is. Sikerrel és kevesebb mellékhatással alkalmazták ezeket a regimeneket is, azonban fokozott rejekcióveszélyt és lassabb donor sejt rekonstitúciót észleltek. Mivel a neurológiai progresszió veszélye miatt minél gyorsabb donor sejt expanszióra volt szükség, a myeloablativ kezelést (MAC) választottuk. Az utóbbi évtizedben újabb RIC regimennel végzett transzplantációkat írtak le, melyek kielégítő hosszú távú teljes vagy major donor kimérizmussal jártak. Köldökvér graftokkal végzett hasonló transzplantációkkal azonban még kevés tapasztalat áll rendelkezésre.

Egyező idegen köldökvér-egységgel, myeloablativ kondicionálás után összejt-transzplantációt végeztünk gyors megtapadással és enyhe transzplantációs szövődményekkel. A kezelés után neurológiai rosszabbodást figyeltünk meg, melyet a buszulfán neurotoxicitásának tulajdonítottunk. A beteg életben van, hematológiai vagy immunológiai szövődményt nem észleltünk, ezért a beavatkozásról mindenképpen megállapítható, hogy biztonságosan elvégezhető. Bár a gyermeket teljesen meggyógyítani nem tudtuk, a lassú fejlődés neurológiai javulás és az öncsonkító viselkedésforma megelőzése az enzim-kompetens sejtek vér-agy gáton belüli jelenlétének bizonyítéka lehet. Természetesen hosszú távú követés szükséges, azonban 11 évvel a transzplantáció után, 13 évesen az öncsonkító viselkedés hiánya súlyos terhet vesz le a család válláról.

#### 5.4.2. *WHIM syndroma*

A tipikus WHIM syndromás beteg prezentációs tünetei a humán papilloma vírus (HPV) indukálta szemölcsök, hypogammaglobulinemia, fertőzések és myelokathexis. Ez utóbbi a neutropenia egy speciális formája, melyben a csontvelő tele van érett neutrophil granulocytákkal, azonban egy receptor defektus miatt nem tudják elhagyni azt. Mivel nem tudtak kijutni a csontvelőből, kóros apoptózis figyelhető meg (52). Bár a legtöbb betegnél a CXCR4 receptor mutáció áll a háttérben, néhány WHIM syndromában vad

típusú CXCR4 allélt azonosítottak (107). A genetikai heterogenitás mellett a klinikum is sokszínű, mert egyes genetikailag igazolt esetekben immunglobulin-hiányt vagy szemölcsöket nem találtak. Ezért az inkomplett fenotípussal jelentkező esetek diagnózisa és szupportív kezelése (IVIG és G-CSF) késhet. Több közlemény is beszámolt életen át tartó súlyos betegségről és fiatal felnőttekben bekövetkező korai halálokról (108, 109). A halálok szepszis és fulmináns EBV pozitív intestinalis B-sejtes lymphoma volt (110). Az EBV jelentős terhet ró ezekre a betegekre. A szemölcsök többnyire terápia-rezisztensek, ismételt lézeres kezeléseket igényelhetnek.

A havi immunglobulin-szubsztitúció csökkenti az infekciós epizódok számát, a napi G-CSF injekció pedig normalizálja a perifériás neutrophil sejtszámokat. Mégis, a betegek egy csoportja ennek ellenére gyakran visszatérő fertőzésekkel, valamint progresszíven romló tüdőfunkcióval él. A T-sejt subpopulációkon különböző mértékben expresszálandó CXCR4 receptor ebben a betegségben abnormális naiv, központi és memória T-sejt eloszlást eredményezhet (111). Ennek funkcionális és klinikai következményei lehetnek, amik részben megmagyarázhatják, miért nem reagálnak egyes betegek a szupportív kezelésre. Az életen át tartó tüneti kezelés jelentős teherrel jár a beteg és családja, valamint az egészségügyi finanszírozó számára is. Mindezek miatt, nem reagáló esetben joggal merül fel a kóros sejt-populáció cseréje, azaz a vérképző őssejt-transzplantáció. Mindeztáig azonban nem találtunk közleményt WHIM syndromás beteg allogén őssejt-transzplantációjáról, követéséről, az immunfunkciók hosszú távú alakulásáról.

Mivel az első sikeres vérképző őssejt-transzplantációkat éppen primer immundefektusokban végezték 1968-ban (112, 113), azóta sok ezer transzplantációról gyűltek adatok. A köldökvér graft optimális jelölt immundefektus esetén, hiszen az általában fiatal gyermeknek elégséges sejtet tartalmaz, alacsony a nemkívánatos GVHD incidenciája, a grafftal nem transzferálunk vírusbetegségeket és gyorsan elérhető (114). Ha a betegséggel nem érintett HLA-identikus testvér köldökvér-egysége áll rendelkezésre, a beavatkozás még kevesebb szövődménnyel fenyeget.

Közleményünkben megmutattuk, hogy egy 9 éves WHIM syndromás gyermeket meg lehet gyógyítani az innovatív köldökvér-őssejt transzplantációval. A világon először publikáltuk a megtapadás, kórlefolyás, komplikációk és az immunrekonstitúció klinikai adatait. A transzplantáció után közel 10 évvel a beteg kiváló klinikai állapotban van,

infekciómentes, teljes donor kimérizmussal és kiváló immunfunkciókkal rendelkezik. A köldökvér egység továbbra is optimális választás lehet ebben a helyzetben. Az ilyen betegek esetén javasoljuk a transzplantáció mielőbbi elvégzését, mielőtt irreverzibilis szervkárosodások következnenek be.

A neutrophil sejteket a csontvelőhöz horgonyzó CXCR4 receptor gátlására fejlesztették ki a plerixafor molekulát. A „horgony” elvágásával lehetővé válik a vérképző őssejtek perifériás vérbe mobilizálása, amely az autológ vérképző őssejt-transzplantáció előfeltétele (115-117). A CXCR4 receptor gyógyszeres manipulálása ígéretes klinikai vizsgálatok tárgya a WHIM syndromás betegek neutrophil sejtjeinek a perifériás keringésbe juttatásában (118-121).



## **6. KÖVETKEZTETÉSEK**

### **6.1. Szerzett csontvelő-elégtelenségek**

Bemutattuk, hogy a gyors referencia diagnosztika és az egységes kezelési protokollok bevezetése paradigmaváltást jelentett a gyermekkori szerzett csontvelő elégtelenségek kezelésében. A hypocellularis myelodysplasticus syndroma redukált intenzitású kondicionálása, a TCR alfa-béta negatív haploidentikus transzplantáció, vírus-specifikus T-sejtterápia és a buszulfán farmakokinetikai adagolás bevezetése óta ennek a betegcsoportnak a túlélése szignifikánsan növekedett.

### **6.2. Vírus-specifikus T-sejt terápia**

Beteganyagunkon a világon az elsők között bizonyítottuk, hogy a CliniMACS Prodigy CSS (IFN-gamma) rendszerrel előállított vírus-specifikus T-sejt kezelés hatékonyan tudja kontrollálni az egyéb terápiás modalitásokra rezisztens vírusos betegségeket allogén vérképző őssejt-transzplantáción átesett gyermekekben. Ez a fajta kezelés az esetek többségében pár nap alatt elvégezhető, ami felbecsülhetetlen jelentőségű a rezisztens vírusbetegségek minél korábbi kezelésében. A betegség teljes gyógyulását észleltük egy kivételével minden esetben. Az egyetlen kudarc oka frissen szerzett fertőzés volt, uralhatatlan vírus kópiaszámokkal. Megmutattuk, hogy a HLA vizsgálatnak nincs kötelező szerepe a donorok kiválasztásában, mindezzel idő nyerhető.

### **6.3. Antithymocytoglobulin és bradycardia**

Az ATG kezelés szignifikáns átmeneti tünetmentes bradycardiával jár. Ez a tünet azonban ártalmatlan mellékhatásnak tűnik, beavatkozást nem igényel. Közleményünk segíthet más központok helyes betegmegfigyelési és ellátási standardjainak kialakításában. Véleményünk szerint az ATG kezelés alatt szoros szívritmus monitorizálás javasolt, izolált sinus bradycardia esetén még súlyos esetben sincs specifikus teendő. Retrospektív kutatásunkkal bebizonyítottuk, hogy a betegágy melletti megfigyelésünk nem volt alaptalan.

## 6.4. Köldökvér-transzplantáció veleszületett betegségekben

### 6.4.1. *Lesch-Nyhan syndroma*

Experimentális beavatkozásunkkal a világon harmadszor végeztünk vérképző őssejt-transzplantációt Lesch-Nyhan syndromában, és elsőként a beteg számára klinikailag is észlelhető jótékony hatásokkal. HLA-identikus köldökvér egységet választottunk, hogy kísérletes indikációval végzett beavatkozásunk ne veszélyeztessen önkéntes idegen donort. A gyors megtapadás és a donor eredetű monocyták mielőbbi vér-agy gáton történő penetranciája érdekében myeloablatív kondicionálást választottunk. Átmeneti rosszabbodás után fejlődésneurológiai javulást észleltünk, az öncsonkító viselkedés elmaradásával. Bár betegünket teljesen meggyógyítani nem tudtuk, ezek a hatások is komoly terhet vesznek le a család válláról.

### 6.4.2. *WHIM syndroma*

Közleményünkben beszámoltunk arról, hogy a világon elsőként végeztünk allogén köldökvér eredetű őssejt-transzplantációt a szupportív kezelés mellett progrediáló WHIM syndroma esetében. A testvértől nyert köldökvér egység gyors megtapadást, stabil kimérizmust és robosztus immunrekonstitúciót biztosított. Eljárásunk nem veszélyeztetett önkéntes családi vagy idegen donort. Az elmúlt 10 évben további súlyos infekciók nem jelentkeztek, a beteg pulmonalis státusza normális. Elmondható, hogy hasonló betegekben vérképző őssejt-transzplantáció megfontolandó, mielőtt visszavonhatatlan szervkárosodások következnek be.

## 7. ÖSSZEFOGLALÓ

### 7.1. Szerzett csontvelő-elégtelenségek

A gyermekkori szerzett csontvelő elégtelenséggel járó kórképek ritka, kezelés nélkül halálos betegségek. A 2013 és 2017 között eltelt 5 évben a Magyar Gyermekonkológiai Hálózat 8 központjában 55 gyermeket kezeltünk új diagnosztikus és terápiás elvek mentén. Súlyos aplasticus anemiában 7 esetben végeztünk vérképző őssejt-transzplantációt, egy esetben antithymocyta globulin kezelést, egy beteg a diagnózis előtt meghalt. Myelodysplasia diagnózisa esetén 37 esetben végeztünk transzplantációt, 4 esetben a szoros megfigyelést választhattuk. A súlyos aplasticus anemiával kezelt 8 beteg mindegyike teljes remisszióban él (100%). A myelodysplasia miatt transzplantált betegek becsült túlélése 85,1%, juvenilis myelomonocyter leukemiában 75%. Jelen eredményeinket összevetettük az 1992 és 2012 között kezelt betegek eredményeivel. A túlélés az új szemlélet nyomán jelentősen javult, súlyos aplasticus anemiában trendszerűen 70-ről 100%-ra ( $p=0,133$ ), myelodysplasticus syndromában szignifikánsan 31,3%-ról 85,1%-ra ( $p=0,000026$ ). Paradigmaváltás történt a gyermekkori szerzett csontvelő elégtelenségek kezelésében, a csökkentett intenzitású kondicionálás következtében a betegcsoport túlélése szignifikánsan növekedett.

### 7.2. Vírus-specifikus T-sejt terápia

Allogén vérképző őssejt-transzplantáció után gyakori probléma a vírus reaktiváció, különösen gyermekekben. Az osztályunkon egy év alatt elvégzett 43 allogén transzplantáció esetén 9 beteg esetén állt fenn a T-sejt kezelés indikációja. A sejteket CliniMACS Prodigy CCS (IFN-gamma) rendszerrel állítottuk elő, a mononukleáris apheresis után 24 órán belül. Nyolc beteg teljesen tünetmentessé vált, 7 betegnél a viremia is megszűnt. Hat betegünk él, a közlemény írásának idején medián 535 nap követési idővel (350-786). A vírus-specifikus T-sejtek gyors, automatikus, biztonságos és hatékony módszernek bizonyultak a rezisztens vírusbetegségek kezelésében.

### 7.3. Antithymocytoglobulin és bradycardia

Antithymocytoglobulin kezelésén átesett gyermekeknél gyakran észleltünk bradycardiát. A kórházi egészségügyi dokumentáció áttekintésével 2007 és 2012 közötti 5 éves periódusban 22 beteget találtunk, akik ATG kezelésben részesültek szteroid premedikációval. A bradycardia incidenciáját és mértékét egy olyan 21 fős csoport adataival vetettük össze, akik csak szteroid kezelésben részesültek. A bradycard epizódok gyakrabban jelentkeztek ATG kezelés mellett, mint a csak szteroidot kapó csoportban (97 versus 32,  $p=0.0037$ ). Súlyos bradycardia csak az ATG csoportban volt (13 versus 0,  $p=0.0029$ ). Szignifikáns különbséget találtunk az ATG és szteroid csoportban mért szívfrekvenciák között a 0-3. napon ( $F=4.388$ ,  $p=0.046$ ,  $\eta^2=0.101$ ) és a 4-7. napon ( $F=8.518$ ,  $p=0.006$ ,  $\eta^2=0.179$ ). Eredményeink arra utalnak, hogy az átmeneti tünetmentes bradycardia gyakoribb ATG kezelés után, mint azt korábban jelentették.

### 7.4. Köldökvér-transzplantáció veleszületett betegségekben

#### 7.4.1. Lesch-Nyhan syndroma

A Lesch-Nyhan syndroma egy krónikus, progresszív fejlődésneurológiai betegség mely motorikus és viselkedési zavarokat okoz a hypoxantin-guanin foszforibozil-transzferáz enzim csökkent működése következtében. Betegünk esetében myeloablátív kondicionálás után idegen köldökvér-egység transzplantáció történt a gyermek 2 éves korában. A hatodik hónap végére a szérum HPRT szint elérte a normális tartományt. A hároméves követési időszakban észlelt lassú fejlődésneurológiai javulás és az öncsonkító viselkedés elmaradása donor eredetű enzim-kompetens sejtek jelenlétére utalhat a vér-agy gáton belül.

#### 7.4.1. WHIM syndroma

A WHIM syndroma egy ritka primer immundefektus autosomalis domináns öröklődéssel, melyet a CXCR4 chemokin receptor gén mutációja okoz. Betegünk kilenc éves korában a világon elsőként újszülött fiútestvére köldökvér egységével vércépző őssejt-transzplantációt végeztünk. A transzplantáció óta eltelt közel 10 évben teljes életet él, szövődmények nélkül, teljes donor kimérizmussal és kiváló immunfunkciókkal.

## **8. SUMMARY**

### **8.1. Acquired bone marrow failure syndromes**

Acquired bone marrow failure syndromes are rare but fatal diseases in childhood. A total of 55 patients have been treated in the 8 centers of the Hungarian Pediatric Oncology Network during 5 years between 2013 and 2017 with a novel diagnostic and therapeutic approach (severe aplastic anemia: 9, myelodysplastic syndrome: 41, juvenile myelomonocytic leukemia: 5 pts). Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation was performed in severe aplastic anemia in 7 cases, while antithymocyte globulin was administered in 1 case and one patient died before diagnosis. In patients with myelodysplastic syndromes watch and wait strategy was applied in 4, while transplantation in 37 cases. All the patients treated with severe aplastic anemia are alive (100%). The overall estimated survival rate is 85.1% in myelodysplastic syndrome, while 75% in juvenile myelomonocytic leukemia. There was a remarkable increase in overall survival comparing the data before (1992-2012) and after (2013-) changing the protocols, 70% vs 100% ( $P=0.133$ ) in severe aplastic anemia and 31.3% vs 85,1% ( $P=0.000026$ ) in myelodysplastic syndrome. Due to a change in paradigm the overall survival rate has significantly increased.

### **8.2. Virus-specific T-cell therapy**

Viral reactivation is a frequent complication of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation especially in children. Over the course of a year in our pediatric cohort of 43 allogeneic transplantation, 9 patients fulfilled criteria for virus-specific T-cell therapy. Cells were produced by the CliniMACS Prodigy® CCS (IFN-gamma) System within 24 hours after mononuclear leukapheresis. Eight patients became completely asymptomatic, while 7 also cleared the virus. Six patients are alive without viral illness or sequelae demonstrating viral DNA clearance in peripheral blood with a median follow up of 535 (350-786) days. Virus-specific T-cell therapy is an automated, fast, safe, and effective way to control resistant viral diseases after pediatric hematopoietic stem cell transplantation.

### **8.3. Antithymocyte globulin and bradycardia**

In antithymocyte globulin (ATG) treated patients occasionally bradycardia has been noticed. Between 2007 and 2012 we identified children undergoing a combined therapy with ATG and glucocorticoids (ATG group, n=22). The incidence of bradycardia was compared to that registered in children treated with glucocorticoids alone (glucocorticoid alone group, n=21). The rate of bradycardic episodes was higher during ATG therapy than in the steroid alone group, while severe bradycardia occurred only in the ATG group (97 versus 32, p=0.0037, and 13 versus 0, p=0.0029, respectively). Heart rates in ATG and steroid alone groups differed significantly on day 0-3 and day 4-7 (p=0.046, p=0.006, respectively). These findings indicate that transient asymptomatic bradycardia is probably more common with ATG therapy than previously reported.

### **8.4. Cord blood transplantation in inborn errors**

#### *8.4.1. Lesch-Nyhan syndrome*

Lesch-Nyhan syndrome (LNS) is a chronic, progressive neurodevelopmental disorder causing motor and behavioral dysfunction due to decreased synthesis of the enzyme hypoxanthin-guanine phosphoribosyl-transferase (HPRT). Following a myeloablative conditioning regimen an unrelated umbilical cord blood unit was transfused at the age of two years in our case. Serum HPRT levels reached normal values by the end of the sixth month post-transplant. Slow neurodevelopmental improvement seen during the three-year follow-up and the missing self-injuring behavior can be considered as a proof for the presence of enzyme-competent cells behind the blood-brain barrier.

#### *8.4.2. WHIM syndrome*

WHIM syndrome is a rare primary immunodeficiency disorder with autosomal dominant inheritance caused by a severe chemokine signalization defect due to truncation mutations of the CXCR4 chemokine receptor gene. We report here the first successful allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in a girl diagnosed with this disease. At the age of 9 she was transplanted with an umbilical cord blood stem cell graft from her HLA-identical newborn brother. After ten years post-HSCT she showed a good clinical recovery and immuno-reconstitution.

**9. IRODALOMJEGYZÉK**

1. Niemeyer CM, Baumann I. (2011) Classification of childhood aplastic anemia and myelodysplastic syndrome. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2011: 84-89.
2. Starý J, Baumann I, Creutzig U, Harbott J, Michalova K, Niemeyer C. (2008) Getting the numbers straight in pediatric MDS: distribution of subtypes after exclusion of down syndrome. *Pediatr Blood Cancer*, 50: 435-436.
3. Scheinberg P, Nunez O, Weinstein B, Biancotto A, Wu CO, Young NS. (2011) Horse versus rabbit antithymocyte globulin in acquired aplastic anemia. *N Engl J Med*, 365: 430-438.
4. Yoshimi A, van den Heuvel-Eibrink MM, Baumann I, Schwarz S, Simonitsch-Klupp I, de Paepe P, Campr V, Kerndrup GB, O'Sullivan M, Devito R, Leguit R, Hernandez M, Dworzak M, de Moerloose B, Stary J, Hasle H, Smith OP, Zecca M, Catala A, Schmutz M, Locatelli F, Führer M, Fischer A, Guderle A, Nöllke P, Strahm B, Niemeyer CM. (2014) Comparison of horse and rabbit antithymocyte globulin in immunosuppressive therapy for refractory cytopenia of childhood. *Haematologica*, 99: 656-663.
5. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, Bloomfield CD, Cazzola M, Vardiman JW. (2016) The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*, 127: 2391-2405.
6. Strahm B, Nöllke P, Zecca M, Korthof ET, Bierings M, Furlan I, Sedlacek P, Chybicka A, Schmutz M, Bordon V, Peters C, O'Marcaigh A, de Heredia CD, Bergstraesser E, Moerloose BD, van den Heuvel-Eibrink MM, Starý J, Trebo M, Wojcik D, Niemeyer CM, Locatelli F, group E-Ms. (2011) Hematopoietic stem cell transplantation for advanced myelodysplastic syndrome in children: results of the EWOG-MDS 98 study. *Leukemia*, 25: 455-462.
7. Horváth O, Prohászka Z, Kállay K, Kassa C, Stréhn A, Csordás K, Sinkó J, Kriván G. (2017) [Changes in diagnostic criteria of thrombotic microangiopathy after stem cell transplantation]. *Orv Hetil*, 158: 1043-1050.

8. Hasle H, Niemeyer CM, Chessells JM, Baumann I, Bennett JM, Kerndrup G, Head DR. (2003) A pediatric approach to the WHO classification of myelodysplastic and myeloproliferative diseases. *Leukemia*, 17: 277-282.
9. Strahm B, Locatelli F, Bader P, Ehlert K, Kremens B, Zintl F, Führer M, Stachel D, Sykora KW, Sedlacek P, Baumann I, Niemeyer CM. (2007) Reduced intensity conditioning in unrelated donor transplantation for refractory cytopenia in childhood. *Bone Marrow Transplant*, 40: 329-333.
10. Styczynski J, Czyzewski K, Wysocki M, Gryniwicz-Kwiatkowska O, Kolodziejczyk-Gietka A, Salamonowicz M, Hutnik L, Zajac-Spychala O, Zaucha-Prazmo A, Chelmecka-Wiktorczyk L, Siewiera K, Fraczkiewicz J, Malas Z, Tomaszewska R, Irga-Jaworska N, Plonowski M, Ociepa T, Pierlejewski F, Gamrot Z, Urbanek-Dadela A, Gozdzik J, Stolpa W, Dembowska-Baginska B, Perek D, Matysiak M, Wachowiak J, Kowalczyk J, Balwierz W, Kalwak K, Chybicka A, Badowska W, Szczepanski T, Drozynska E, Krawczuk-Rybak M, Urasinski T, Mlynarski W, Woszczyk M, Karolczyk G, Sobol-Milejska G, Gil L, Haematology PSOPoa. (2016) Increased risk of infections and infection-related mortality in children undergoing haematopoietic stem cell transplantation compared to conventional anticancer therapy: a multicentre nationwide study. *Clin Microbiol Infect*, 22: 179.e171-179.e110.
11. Ljungman P, de la Camara R, Cordonnier C, Einsele H, Engelhard D, Reusser P, Styczynski J, Ward K, Leukemia ECoIi. (2008) Management of CMV, HHV-6, HHV-7 and Kaposi-sarcoma herpesvirus (HHV-8) infections in patients with hematological malignancies and after SCT. *Bone Marrow Transplant*, 42: 227-240.
12. Matthes-Martin S, Feuchtinger T, Shaw PJ, Engelhard D, Hirsch HH, Cordonnier C, Ljungman P, Leukemia FECoIi. (2012) European guidelines for diagnosis and treatment of adenovirus infection in leukemia and stem cell transplantation: summary of ECIL-4 (2011). *Transpl Infect Dis*, 14: 555-563.
13. Styczynski J, van der Velden W, Fox CP, Engelhard D, de la Camara R, Cordonnier C, Ljungman P, Sixth European Conference on Infections in Leukemia ajvotIDWPotESoBaMTE-I, the Infectious Diseases Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC-IDG), the



- International Immunocompromised Host Society (ICHS) and the European Leukemia Net (ELN). (2016) Management of Epstein-Barr Virus infections and post-transplant lymphoproliferative disorders in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) guidelines. *Haematologica*, 101: 803-811.
14. Doubrovina E, Oflaz-Sozmen B, Prockop SE, Kernan NA, Abramson S, Teruya-Feldstein J, Hedvat C, Chou JF, Heller G, Barker JN, Boulad F, Castro-Malaspina H, George D, Jakubowski A, Koehne G, Papadopoulos EB, Scaradavou A, Small TN, Khalaf R, Young JW, O'Reilly RJ. (2012) Adoptive immunotherapy with unselected or EBV-specific T cells for biopsy-proven EBV+ lymphomas after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*, 119: 2644-2656.
  15. Rutella S, Locatelli F. (2011) Strategies to harness immunity against infectious pathogens after haploidentical stem cell transplantation. *Am J Transl Res*, 3: 404-421.
  16. Barrett AJ, Bollard CM. (2015) The coming of age of adoptive T-cell therapy for viral infection after stem cell transplantation. *Ann Transl Med*, 3: 62.
  17. Einsele H, Löffler J, Kapp M, Rasche L, Mielke S, Grigoleit UG. (2015) Immunotherapy for viral and fungal infections. *Bone Marrow Transplant*, 50 Suppl 2: S51-54.
  18. Peggs KS. (2009) Adoptive T cell immunotherapy for cytomegalovirus. *Expert Opin Biol Ther*, 9: 725-736.
  19. Rooney C, Leen A. (2012) Moving Successful Virus-specific T-cell Therapy for Hematopoietic Stem Cell Recipients to Late Phase Clinical Trials. *Mol Ther Nucleic Acids*, 1: e55.
  20. Saglio F, Hanley PJ, Bollard CM. (2014) The time is now: moving toward virus-specific T cells after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation as the standard of care. *Cytotherapy*, 16: 149-159.
  21. Leen AM, Bollard CM, Mendizabal AM, Shpall EJ, Szabolcs P, Antin JH, Kapoor N, Pai SY, Rowley SD, Kebriaei P, Dey BR, Grilley BJ, Gee AP, Brenner MK, Rooney CM, Heslop HE. (2013) Multicenter study of banked third-party virus-specific T cells to treat severe viral infections after hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, 121: 5113-5123.

22. O'Reilly RJ, Prockop S, Hasan AN, Koehne G, Doubrovina E. (2016) Virus-specific T-cell banks for 'off the shelf' adoptive therapy of refractory infections. *Bone Marrow Transplant*, 51: 1163-1172.
23. Feuchtinger T, Matthes-Martin S, Richard C, Lion T, Fuhrer M, Hamprecht K, Handgretinger R, Peters C, Schuster FR, Beck R, Schumm M, Lotfi R, Jahn G, Lang P. (2006) Safe adoptive transfer of virus-specific T-cell immunity for the treatment of systemic adenovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol*, 134: 64-76.
24. Feuchtinger T, Opherk K, Bethge WA, Topp MS, Schuster FR, Weissinger EM, Mohty M, Or R, Maschan M, Schumm M, Hamprecht K, Handgretinger R, Lang P, Einsele H. (2010) 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*, 116: 4360-4367.
25. Feuchtinger T, Richard C, Joachim S, Scheible MH, Schumm M, Hamprecht K, Martin D, Jahn G, Handgretinger R, Lang P. (2008) Clinical grade generation of hexon-specific T cells for adoptive T-cell transfer as a treatment of adenovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *J Immunother*, 31: 199-206.
26. Icheva V, Kayser S, Wolff D, Tuve S, Kyzirakos C, Bethge W, Greil J, Albert MH, Schwinger W, Nathrath M, Schumm M, Stevanovic S, Handgretinger R, Lang P, Feuchtinger T. (2013) Adoptive transfer of epstein-barr virus (EBV) nuclear antigen 1-specific t cells as treatment for EBV reactivation and lymphoproliferative disorders after allogeneic stem-cell transplantation. *J Clin Oncol*, 31: 39-48.
27. Locatelli F, Schrappe M, Bernardo ME, Rutella S. (2012) How I treat relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 120: 2807-2816.
28. Meij P, Jedema I, Zandvliet ML, van der Heiden PL, van de Meent M, van Egmond HM, van Liempt E, Hoogstraten C, Kruithof S, Veld S, Marijt EW, von dem Borne PA, Lankester AC, Halkes CJ, Falkenburg JH. (2012) Effective treatment of refractory CMV reactivation after allogeneic stem cell transplantation with in vitro-generated CMV pp65-specific CD8+ T-cell lines. *J Immunother*, 35: 621-628.

29. Moosmann A, Bigalke I, Tischer J, Schirrmann L, Kasten J, Tippmer S, Leeping M, Prevalsek D, Jaeger G, Ledderose G, Mautner J, Hammerschmidt W, Schendel DJ, Kolb HJ. (2010) Effective and long-term control of EBV PTLD after transfer of peptide-selected T cells. *Blood*, 115: 2960-2970.
30. Peggs KS, Thomson K, Samuel E, Dyer G, Armoogum J, Chakraverty R, Pang K, Mackinnon S, Lowdell MW. (2011) Directly selected cytomegalovirus-reactive donor T cells confer rapid and safe systemic reconstitution of virus-specific immunity following stem cell transplantation. *Clin Infect Dis*, 52: 49-57.
31. Peggs KS, Verfuert S, Pizzey A, Chow SL, Thomson K, Mackinnon S. (2009) Cytomegalovirus-specific T cell immunotherapy promotes restoration of durable functional antiviral immunity following allogeneic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis*, 49: 1851-1860.
32. Kállay K, Kassa C, Réti M, Karászi É, Sinkó J, Goda V, Stréhn A, Csordás K, Horváth O, Szederjesi A, Tasnády S, Hardi A, Kriván G. (2018) Early Experience With CliniMACS Prodigy CCS (IFN-gamma) System in Selection of Virus-specific T Cells From Third-party Donors for Pediatric Patients With Severe Viral Infections After Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *J Immunother*, 41: 158-163.
33. George B, Mathews V, Viswabandya A, Lakshmi KM, Srivastava A, Chandy M. (2010) Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is superior to immunosuppressive therapy in Indian children with aplastic anemia--a single-center analysis of 100 patients. *Pediatr Hematol Oncol*, 27: 122-131.
34. Deyell RJ, Shereck EB, Milner RA, Schultz KR. (2011) Immunosuppressive therapy without hematopoietic growth factor exposure in pediatric acquired aplastic anemia. *Pediatr Hematol Oncol*, 28: 469-478.
35. Jiang S, Wang Y, Shi W, Shao Y, Qiao X, Lin J, Kuang H, Xie X. (2009) The benefit of ATG in immunosuppressive therapy of children with moderate aplastic anemia. *Pediatr Hematol Oncol*, 26: 313-320.
36. Karapinar DY, Karadaş N, Ay Y, Akin M, Balkan C, Aydinok Y, Kavakli K. (2014) Rabbit antithymocyte globulin treatment in childhood acquired severe aplastic anemia. *Pediatr Hematol Oncol*, 31: 20-28.

37. Scheinberg P, Nunez O, Weinstein B, Scheinberg P, Biancotto A, Wu CO, Young NS. (2011) Horse versus rabbit antithymocyte globulin in acquired aplastic anemia. *N Engl J Med*, 365: 430-438.
38. Scheinberg P, Townsley D, Dumitriu B, Scheinberg P, Weinstein B, Rios O, Wu CO, Young NS. (2014) Horse antithymocyte globulin as salvage therapy after rabbit antithymocyte globulin for severe aplastic anemia. *Am J Hematol*, 89: 467-469.
39. Godown J, Deal AM, Riley K, Bailliard F, Blatt J. (2011) Worsening bradycardia following antithymocyte globulin treatment of severe aplastic anemia. *J Pediatr Pharmacol Ther*, 16: 218-221.
40. Kállay K, Zakariás D, Csordás K, Benyó G, Kassa C, Sinkó J, Stréhn A, Horváth O, Vásárhelyi B, Kriván G. (2019) Antithymocyte Globuline Therapy and Bradycardia in Children. *Pathol Oncol Res*, 25: 487-492.
41. Jinnah HA, Ceballos-Picot I, Torres RJ, Visser JE, Schretlen DJ, Verdu A, Laróvere LE, Chen CJ, Cossu A, Wu CH, Sampat R, Chang SJ, de Kremer RD, Nyhan W, Harris JC, Reich SG, Puig JG, Group L-NDIS. (2010) Attenuated variants of Lesch-Nyhan disease. *Brain*, 133: 671-689.
42. Puig JG, Torres RJ, Mateos FA, Ramos TH, Arcas JM, Buño AS, O'Neill P. (2001) The spectrum of hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) deficiency. Clinical experience based on 22 patients from 18 Spanish families. *Medicine (Baltimore)*, 80: 102-112.
43. Mak BS, Chi CS, Tsai CR, Lee WJ, Lin HY. (2000) New mutations of the HPRT gene in Lesch-Nyhan syndrome. *Pediatr Neurol*, 23: 332-335.
44. Krivit W, Sung JH, Shapiro EG, Lockman LA. (1995) Microglia: the effector cell for reconstitution of the central nervous system following bone marrow transplantation for lysosomal and peroxisomal storage diseases. *Cell Transplant*, 4: 385-392.
45. Mahmood A, Dubey P, Moser HW, Moser A. (2005) X-linked adrenoleukodystrophy: therapeutic approaches to distinct phenotypes. *Pediatr Transplant*, 9 Suppl 7: 55-62.

46. Endres W, Helmig M, Shin YS, Albert E, Wank R, Ibel H, Weiss M, Hadorn HB, Hass R. (1991) Bone marrow transplantation in Lesch-Nyhan disease. *J Inherit Metab Dis*, 14: 270-271.
47. Nyhan WL, Parkman R, Page T, Gruber HE, Pyati J, Jolly D, Friedmann T. (1986) Bone marrow transplantation in Lesch-Nyhan disease. *Adv Exp Med Biol*, 195 Pt A: 167-170.
48. Wojcik BE, Jinnah HA, Muller-Sieburg CE, Friedmann T. (1999) Bone marrow transplantation does not ameliorate the neurologic symptoms in mice deficient in hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase (HPRT). *Metab Brain Dis*, 14: 57-65.
49. Aprikyan AA, Liles WC, Park JR, Jonas M, Chi EY, Dale DC. (2000) Myelokathexis, a congenital disorder of severe neutropenia characterized by accelerated apoptosis and defective expression of bcl-x in neutrophil precursors. *Blood*, 95: 320-327.
50. Gorlin RJ, Gelb B, Diaz GA, Lofsness KG, Pittelkow MR, Fenyk JR. (2000) WHIM syndrome, an autosomal dominant disorder: clinical, hematological, and molecular studies. *Am J Med Genet*, 91: 368-376.
51. Hord JD, Whitlock JA, Gay JC, Lukens JN. (1997) Clinical features of myelokathexis and treatment with hematopoietic cytokines: a case report of two patients and review of the literature. *J Pediatr Hematol Oncol*, 19: 443-448.
52. Kawai T, Choi U, Cardwell L, DeRavin SS, Naumann N, Whiting-Theobald NL, Linton GF, Moon J, Murphy PM, Malech HL. (2007) WHIM syndrome myelokathexis reproduced in the NOD/SCID mouse xenotransplant model engrafted with healthy human stem cells transduced with C-terminus-truncated CXCR4. *Blood*, 109: 78-84.
53. Kawai T, Malech HL. (2009) WHIM syndrome: congenital immune deficiency disease. *Curr Opin Hematol*, 16: 20-26.
54. Locatelli F, Strahm B. (2018) How I treat myelodysplastic syndromes of childhood. *Blood*.
55. Aalbers AM, van den Heuvel-Eibrink MM, de Haas V, Te Marvelde JG, de Jong AX, van der Burg M, Dworzak M, Hasle H, Locatelli F, De Moerloose B, Schmutz M, Stary J, Zecca M, Zwaan CM, van de Loosdrecht AA, van Dongen

- JJ, Niemeyer CM, van der Velden VH. (2013) Applicability of a reproducible flow cytometry scoring system in the diagnosis of refractory cytopenia of childhood. *Leukemia*, 27: 1923-1925.
56. Baumann I, Führer M, Behrendt S, Campr V, Csomor J, Furlan I, de Haas V, Kerndrup G, Leguit RJ, De Paepe P, Noellke P, Niemeyer C, Schwarz S. (2012) Morphological differentiation of severe aplastic anaemia from hypocellular refractory cytopenia of childhood: reproducibility of histopathological diagnostic criteria. *Histopathology*, 61: 10-17.
57. Hasle H, Baumann I, Bergsträsser E, Fenu S, Fischer A, Kardos G, Kerndrup G, Locatelli F, Rogge T, Schultz KR, Starý J, Trebo M, van den Heuvel-Eibrink MM, Harbott J, Nöllke P, Niemeyer CM, MDS EWGoc. (2004) The International Prognostic Scoring System (IPSS) for childhood myelodysplastic syndrome (MDS) and juvenile myelomonocytic leukemia (JMML). *Leukemia*, 18: 2008-2014.
58. Yoshimi A, Niemeyer C, Baumann I, Schwarz-Furlan S, Schindler D, Ebell W, Strahm B. (2013) High incidence of Fanconi anaemia in patients with a morphological picture consistent with refractory cytopenia of childhood. *Br J Haematol*, 160: 109-111.
59. Cseh A, Niemeyer CM, Yoshimi A, Dworzak M, Hasle H, van den Heuvel-Eibrink MM, Locatelli F, Masetti R, Schmutz M, Groß-Wieltsch U, Candás A, Kulozik AE, Olcay L, Suttorp M, Furlan I, Strahm B, Flotho C. (2015) Bridging to transplant with azacitidine in juvenile myelomonocytic leukemia: a retrospective analysis of the EWOG-MDS study group. *Blood*, 125: 2311-2313.
60. Cseh AM, Niemeyer CM, Yoshimi A, Catala A, Frühwald MC, Hasle H, van den Heuvel-Eibrink MM, Lauten M, De Moerloose B, Smith OP, Bernig T, Gruhn B, Kulozik AE, Metzler M, Olcay L, Suttorp M, Furlan I, Strahm B, Flotho C. (2016) Therapy with low-dose azacitidine for MDS in children and young adults: a retrospective analysis of the EWOG-MDS study group. *Br J Haematol*, 172: 930-936.
61. Hasle H, Niemeyer CM. (2011) Advances in the prognostication and management of advanced MDS in children. *Br J Haematol*, 154: 185-195.

62. Long-Boyle JR, Savic R, Yan S, Bartelink I, Musick L, French D, Law J, Horn B, Cowan MJ, Dvorak CC. (2015) Population pharmacokinetics of busulfan in pediatric and young adult patients undergoing hematopoietic cell transplant: a model-based dosing algorithm for personalized therapy and implementation into routine clinical use. *Ther Drug Monit*, 37: 236-245.
63. Bártai Á, Reményi P, Réti M, Barta A, Gopcsa L, Lengyel L, Torbágyi É, Csukly Z, Karászi É, Tordai A, Andrikovics H, Balassa K, Tasnády S, Masszi T. (2017) [Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in Hungary]. *Orv Hetil*, 158: 291-297.
64. Kállay K, Csomor J, Ádám E, Bödör C, Kassa C, Simon R, Kovács G, Péter G, Ottóffy G, Bartyik K, Kiss C, Masát P, Réti M, Tóth B, Kriván G. (2018) [Change in paradigm in the treatment of pediatric acquired bone marrow failure syndromes in Hungary]. *Orv Hetil*, 159: 1710-1719.
65. Cobbold M, Khan N, Pourgheysari B, Tauro S, McDonald D, Osman H, Assenmacher M, Billingham L, Steward C, Crawley C, Olavarria E, Goldman J, Chakraverty R, Mahendra P, Craddock C, Moss PA. (2005) Adoptive transfer of cytomegalovirus-specific CTL to stem cell transplant patients after selection by HLA-peptide tetramers. *J Exp Med*, 202: 379-386.
66. Zandvliet ML, Falkenburg JH, van Liempt E, Veltrop-Duits LA, Lankester AC, Kalpoe JS, Kester MG, van der Steen DM, van Tol MJ, Willemze R, Guchelaar HJ, Schilham MW, Meij P. (2010) Combined CD8+ and CD4+ adenovirus hexon-specific T cells associated with viral clearance after stem cell transplantation as treatment for adenovirus infection. *Haematologica*, 95: 1943-1951.
67. Akikusa JD, Feldman BM, Gross GJ, Silverman ED, Schneider R. (2007) Sinus bradycardia after intravenous pulse methylprednisolone. *Pediatrics*, 119: e778-782.
68. Al Shibli A, Al Attrach I, Hamdan MA. (2012) Bradycardia following oral corticosteroid use: case report and literature review. *Arab J Nephrol Transplant*, 5: 47-49.
69. Taylor MR, Gaco D. (2013) Symptomatic sinus bradycardia after a treatment course of high-dose oral prednisone. *J Emerg Med*, 45: e55-58.

70. Tvede N, Nielsen LP, Andersen V. (1986) Bradycardia after high-dose intravenous methylprednisolone therapy. *Scand J Rheumatol*, 15: 302-304.
71. Michaelson ME, MA;. Congenital complete heart block: An international study of the natural history. In: AE Brest, MA; (szerk.), *Cardiovascular Clinics*. FA Davis, Philadelphia, 1972: 85.
72. Kugler J. Sinus node dysfunction. In: PG Gilette, AG Jr; (szerk.), *Pediatric Arrhythmias: Electrophysiology and Pacing*. WB Saunders, Philadelphia, 1990: 250.
73. Hladnik U, Nyhan WL, Bertelli M. (2008) Variable expression of HPRT deficiency in 5 members of a family with the same mutation. *Arch Neurol*, 65: 1240-1243.
74. Jinnah HA, De Gregorio L, Harris JC, Nyhan WL, O'Neill JP. (2000) The spectrum of inherited mutations causing HPRT deficiency: 75 new cases and a review of 196 previously reported cases. *Mutat Res*, 463: 309-326.
75. Sarafoglou K, Grosse-Redlinger K, Boys CJ, Charnas L, Otten N, Broock R, Nyhan WL. (2010) Lesch-Nyhan variant syndrome: variable presentation in 3 affected family members. *Arch Neurol*, 67: 761-764.
76. Aalbers AM, van der Velden VH, Yoshimi A, Fischer A, Noellke P, Zwaan CM, Baumann I, Beverloo HB, Dworzak M, Hasle H, Locatelli F, De Moerloose B, Göhring G, Schmutz M, Stary J, Zecca M, Langerak AW, van Dongen JJ, Pieters R, Niemeyer CM, van den Heuvel-Eibrink MM. (2014) The clinical relevance of minor paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in refractory cytopenia of childhood: a prospective study by EWOG-MDS. *Leukemia*, 28: 189-192.
77. Király PA, Kállay K, Marosvári D, Benyó G, Szőke A, Csomor J, Bödör C. (2016) [Clinical and genetic background of familial myelodysplasia and acute myeloid leukemia]. *Orv Hetil*, 157: 283-289.
78. Göhring G, Michalova K, Beverloo HB, Betts D, Harbott J, Haas OA, Kerndrup G, Sainati L, Bergstraesser E, Hasle H, Stary J, Trebo M, van den Heuvel-Eibrink MM, Zecca M, van Wering ER, Fischer A, Noellke P, Strahm B, Locatelli F, Niemeyer CM, Schlegelberger B. (2010) Complex karyotype newly defined: the



- strongest prognostic factor in advanced childhood myelodysplastic syndrome. *Blood*, 116: 3766-3769.
79. Wlodarski MW, Hirabayashi S, Pastor V, Starý J, Hasle H, Masetti R, Dworzak M, Schmutz M, van den Heuvel-Eibrink M, Ussowicz M, De Moerloose B, Catala A, Smith OP, Sedlacek P, Lankester AC, Zecca M, Bordon V, Matthes-Martin S, Abrahamsson J, Köhl JS, Sykora KW, Albert MH, Przychodzien B, Maciejewski JP, Schwarz S, Göhring G, Schlegelberger B, Cseh A, Noellke P, Yoshimi A, Locatelli F, Baumann I, Strahm B, Niemeyer CM, EWOG-MDS. (2016) Prevalence, clinical characteristics, and prognosis of GATA2-related myelodysplastic syndromes in children and adolescents. *Blood*, 127: 1387-1397; quiz 1518.
  80. Yoshimi A, Strahm B, Baumann I, Furlan I, Schwarz S, Teigler-Schlegel A, Walther JU, Schlegelberger B, Göhring G, Nöllke P, Führer M, Niemeyer CM. (2014) Hematopoietic stem cell transplantation in children and young adults with secondary myelodysplastic syndrome and acute myelogenous leukemia after aplastic anemia. *Biol Blood Marrow Transplant*, 20: 425-429.
  81. Choi YB, Yi ES, Lee JW, Sung KW, Koo HH, Yoo KH. (2017) Immunosuppressive therapy versus alternative donor hematopoietic stem cell transplantation for children with severe aplastic anemia who lack an HLA-matched familial donor. *Bone Marrow Transplant*, 52: 47-52.
  82. Xu LP, Zhang XH, Wang FR, Mo XD, Han TT, Han W, Chen YH, Zhang YY, Wang JZ, Yan CH, Sun YQ, Zuo SN, Huang XJ. (2017) Haploidentical transplantation for pediatric patients with acquired severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant*, 52: 381-387.
  83. Zhu H, Luo RM, Luan Z, Lee V, Zhu YP, Luo CJ, Tang XF, Si YJ, Chen J. (2016) Unmanipulated haploidentical haematopoietic stem cell transplantation for children with severe aplastic anaemia. *Br J Haematol*, 174: 799-805.
  84. Locatelli F, Merli P, Pagliara D, Li Pira G, Falco M, Pende D, Rondelli R, Lucarelli B, Brescia LP, Masetti R, Milano GM, Bertaina V, Algeri M, Pinto RM, Strocchio L, Meazza R, Grapulin L, Handgretinger R, Moretta A, Bertaina A, Moretta L. (2017) Outcome of children with acute leukemia given HLA-haploidentical HSCT after  $\alpha\beta$  T-cell and B-cell depletion. *Blood*, 130: 677-685.

85. Kiecker F, Streitz M, Ay B, Cherepnev G, Volk HD, Volkmer-Engert R, Kern F. (2004) Analysis of antigen-specific T-cell responses with synthetic peptides-- what kind of peptide for which purpose? *Hum Immunol*, 65: 523-536.
86. Heslop HE, Slobod KS, Pule MA, Hale GA, Rousseau A, Smith CA, Bollard CM, Liu H, Wu MF, Rochester RJ, Amrolia PJ, Hurwitz JL, Brenner MK, Rooney CM. (2010) Long-term outcome of EBV-specific T-cell infusions to prevent or treat EBV-related lymphoproliferative disease in transplant recipients. *Blood*, 115: 925-935.
87. Papadopoulou A, Gerdemann U, Katari UL, Tzannou I, Liu H, Martinez C, Leung K, Carrum G, Gee AP, Vera JF, Krance RA, Brenner MK, Rooney CM, Heslop HE, Leen AM. (2014) Activity of broad-spectrum T cells as treatment for AdV, EBV, CMV, BKV, and HHV6 infections after HSCT. *Sci Transl Med*, 6: 242ra283.
88. Brucato A, Cimaz R, Catelli L, Meroni P. (2000) Anti-Ro-associated sinus bradycardia in newborns. *Circulation*, 102: E88-89.
89. Fox R, Lumb MR, Hawkins DF. (1990) Persistent fetal sinus bradycardia associated with maternal anti-Ro antibodies. Case report. *Br J Obstet Gynaecol*, 97: 1151-1153.
90. Costedoat-Chalumeau N, Amoura Z, Villain E, Cohen L, Piette JC. (2005) Anti-SSA/Ro antibodies and the heart: more than complete congenital heart block? A review of electrocardiographic and myocardial abnormalities and of treatment options. *Arthritis Res Ther*, 7: 69-73.
91. Costedoat-Chalumeau N, Georgin-Lavialle S, Amoura Z, Piette JC. (2005) Anti-SSA/Ro and anti-SSB/La antibody-mediated congenital heart block. *Lupus*, 14: 660-664.
92. Iida M, Inamura N, Takeuchi M. (2006) Newborn infant with maternal anti-SSA antibody-induced complete heart block accompanying cardiomyopathy. *Circ J*, 70: 147-149.
93. Kelly EN, Sananes R, Chiu-Man C, Silverman ED, Jaeggi E. (2014) Prenatal anti-Ro antibody exposure, congenital complete atrioventricular heart block, and high-dose steroid therapy: impact on neurocognitive outcome in school-age children. *Arthritis Rheumatol*, 66: 2290-2296.

94. Rein AJ, Mevorach D, Perles Z, Gavri S, Nadjari M, Nir A, Elchalal U. (2009) Early diagnosis and treatment of atrioventricular block in the fetus exposed to maternal anti-SSA/Ro-SSB/La antibodies: a prospective, observational, fetal kinetocardiogram-based study. *Circulation*, 119: 1867-1872.
95. Rosenthal E. (1998) New insights into the pathogenesis of anti-Ro antibody associated congenital complete heart block. *Lupus*, 7: 135-136.
96. Sacks JH, Samai C, Gomez K, Kanaan U. (2013) Maternal antibody-associated fetal second-degree heart block and atrial flutter: case report and review. *Pediatr Cardiol*, 34: 2040-2043.
97. Chih S, Tinckam KJ, Ross HJ. (2013) A survey of current practice for antibody-mediated rejection in heart transplantation. *Am J Transplant*, 13: 1069-1074.
98. Daly KP, Chandler SF, Almond CS, Singh TP, Mah H, Milford E, Matte GS, Bastardi HJ, Mayer JE, Fynn-Thompson F, Blume ED. (2013) Antibody depletion for the treatment of crossmatch-positive pediatric heart transplant recipients. *Pediatr Transplant*, 17: 661-669.
99. Mohacsi P, Martinelli M, Banz Y, Boesch C. (2012) The clinical relevance of antibody-mediated rejection: a new era of heart transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg*, 42: 1047-1049.
100. van der Gugten A, Bierings M, Frenkel J. (2008) Glucocorticoid-associated Bradycardia. *J Pediatr Hematol Oncol*, 30: 172-175.
101. Wade-Martins R, White RE, Kimura H, Cook PR, James MR. (2000) Stable correction of a genetic deficiency in human cells by an episome carrying a 115 kb genomic transgene. *Nat Biotechnol*, 18: 1311-1314.
102. Southgate TD, Bain D, Fairbanks LD, Morelli AE, Larregina AT, Simmonds HA, Castro MG, Löwenstein PR. (1999) Adenoviruses encoding HPRT correct biochemical abnormalities of HPRT-deficient cells and allow their survival in negative selection medium. *Metab Brain Dis*, 14: 205-221.
103. Sun TQ, Livanos E, Vos JM. (1996) Engineering a mini-herpesvirus as a general strategy to transduce up to 180 kb of functional self-replicating human mini-chromosomes. *Gene Ther*, 3: 1081-1088.

104. Palella TD, Hidaka Y, Silverman LJ, Levine M, Glorioso J, Kelley WN. (1989) Expression of human HPRT mRNA in brains of mice infected with a recombinant herpes simplex virus-1 vector. *Gene*, 80: 137-144.
105. Dressel D, Ritter CA, Sperker B, Grube M, Maier T, Klingebiel T, Siegmund W, Beck JF, Kroemer HK. (2003) Busulfan induces activin A expression in vitro and in vivo: a possible link to venous occlusive disease. *Clin Pharmacol Ther*, 74: 264-274.
106. Vassord C, Lapoum roulie C, Koumaravelou K, Srivastava A, Krishnamoorthy R. (2008) Endothelial cells do not express GSTA1: potential relevance to busulfan-mediated endothelial damage during haematopoietic stem cell transplantation. *Eur J Haematol*, 80: 299-302.
107. Balabanian K, Lagane B, Pablos JL, Laurent L, Planchenault T, Verola O, Lebbe C, Kerob D, Dupuy A, Hermine O, Nicolas JF, Latger-Cannard V, Bensoussan D, Bordigoni P, Baleux F, Le Deist F, Virelizier JL, Arenzana-Seisdedos F, Bachelier F. (2005) WHIM syndromes with different genetic anomalies are accounted for by impaired CXCR4 desensitization to CXCL12. *Blood*, 105: 2449-2457.
108. Siedlar M, Rudzki Z, Strach M, Trzyna E, Pituch-Noworolska A, Błaut-Szl sarczyk A, Bukowska-Strakova K, Lenart M, Grodzicki T, Zembala M. (2008) Familial occurrence of warts, hypogammaglobulinemia, infections, and myelokathexis (WHIM) syndrome. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 56: 419-425.
109. Vinurel H, Freymond N, Pacheco Y, Devouassoux G. (2008) [The Whim syndrome: a rare cause of diffuse bronchiectasis. Immune defect of CXCR4 and chronic bronchial suppuration]. *Rev Mal Respir*, 25: 614-618.
110. Imashuku S, Miyagawa A, Chiyonobu T, Ishida H, Yoshihara T, Teramura T, Kuriyama K, Imamura T, Hibi S, Morimoto A, Todo S. (2002) Epstein-Barr virus-associated T-lymphoproliferative disease with hemophagocytic syndrome, followed by fatal intestinal B lymphoma in a young adult female with WHIM syndrome. Warts, hypogammaglobulinemia, infections, and myelokathexis. *Ann Hematol*, 81: 470-473.

111. Gulino AV, Moratto D, Sozzani S, Cavadini P, Otero K, Tassone L, Imberti L, Pirovano S, Notarangelo LD, Soresina R, Mazzolari E, Nelson DL, Badolato R. (2004) Altered leukocyte response to CXCL12 in patients with warts hypogammaglobulinemia, infections, myelokathexis (WHIM) syndrome. *Blood*, 104: 444-452.
112. Bach FH, Albertini RJ, Joo P, Anderson JL, Bortin MM. (1968) Bone-marrow transplantation in a patient with the Wiskott-Aldrich syndrome. *Lancet*, 2: 1364-1366.
113. Gatti RA, Meuwissen HJ, Allen HD, Hong R, Good RA. (1968) Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency. *Lancet*, 2: 1366-1369.
114. Gennery AR, Cant AJ. (2008) Advances in hematopoietic stem cell transplantation for primary immunodeficiency. *Immunol Allergy Clin North Am*, 28: 439-456, x-xi.
115. Dugan MJ, Maziarz RT, Bensinger WI, Nademanee A, Liesveld J, Badel K, Dehner C, Gibney C, Bridger G, Calandra G. (2010) Safety and preliminary efficacy of plerixafor (Mozobil) in combination with chemotherapy and G-CSF: an open-label, multicenter, exploratory trial in patients with multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma undergoing stem cell mobilization. *Bone Marrow Transplant*, 45: 39-47.
116. Flomenberg N, Devine SM, Dipersio JF, Liesveld JL, McCarty JM, Rowley SD, Vesole DH, Badel K, Calandra G. (2005) The use of AMD3100 plus G-CSF for autologous hematopoietic progenitor cell mobilization is superior to G-CSF alone. *Blood*, 106: 1867-1874.
117. Hachet-Haas M, Balabanian K, Rohmer F, Pons F, Franchet C, Lecat S, Chow KY, Dagher R, Gizzi P, Didier B, Lagane B, Kellenberger E, Bonnet D, Baleux F, Haiech J, Parmentier M, Frossard N, Arenzana-Seisdedos F, Hibert M, Galzi JL. (2008) Small neutralizing molecules to inhibit actions of the chemokine CXCL12. *J Biol Chem*, 283: 23189-23199.
118. Badolato R, Donadieu J, Group WR. (2017) How I treat warts, hypogammaglobulinemia, infections, and myelokathexis syndrome. *Blood*, 130: 2491-2498.

119. Heusinkveld LE, Yim E, Yang A, Azani AB, Liu Q, Gao JL, McDermott DH, Murphy PM. (2017) Pathogenesis, diagnosis and therapeutic strategies in WHIM syndrome immunodeficiency. *Expert Opin Orphan Drugs*, 5: 813-825.
120. McDermott DH, Murphy PM. (2019) WHIM syndrome: Immunopathogenesis, treatment and cure strategies. *Immunol Rev*, 287: 91-102.
121. McDermott DH, Pastrana DV, Calvo KR, Pittaluga S, Velez D, Cho E, Liu Q, Trout HH, Neves JF, Gardner PJ, Bianchi DA, Blair EA, Landon EM, Silva SL, Buck CB, Murphy PM. (2019) Plerixafor for the Treatment of WHIM Syndrome. *N Engl J Med*, 380: 163-170.

## 10. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

### 10.1. Az értekezéshez kapcsolódó közlemények

Összesített impakt faktor: 17,639

1. **Kállay K**, Csomor J, Ádám E, Bödör C, Kassa C, Simon R, Kovács G, Péter G, Ottóffy G, Bartyik K, Kiss C, Masát P, Réti M, Tóth B, Kriván G. (2018) [Change in paradigm in the treatment of pediatric acquired bone marrow failure syndromes in Hungary]. *Orv Hetil*, 159: 1710-1719.
2. **Kállay K**, Kassa C, Réti M, Karászi É, Sinkó J, Goda V, Stréhn A, Csordás K, Horváth O, Szederjesi A, Tasnády S, Hardi A, Kriván G. (2018) Early Experience With CliniMACS Prodigy CCS (IFN-gamma) System in Selection of Virus-specific T Cells From Third-party Donors for Pediatric Patients With Severe Viral Infections After Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *J Immunother*, 41: 158-163.
3. **Kállay K**, Liptai Z, Benyó G, Kassa C, Goda V, Sinkó J, Tóth A, Kriván G. (2012) Successful unrelated umbilical cord blood transplantation in Lesch-Nyhan syndrome. *Metab Brain Dis*, 27: 193-196.
4. **Kállay K**, Zakariás D, Csordás K, Benyó G, Kassa C, Sinkó J, Stréhn A, Horváth O, Vásárhelyi B, Kriván G. (2019) Antithymocyte Globuline Therapy and Bradycardia in Children. *Pathol Oncol Res*, 25: 487-492.
5. Kriván G, Erdos M, **Kállay K**, Benyó G, Tóth A, Sinkó J, Goda V, Tóth B, Maródi L. (2010) Successful umbilical cord blood stem cell transplantation in a child with WHIM syndrome. *Eur J Haematol*, 84: 274-275.
6. Király PA, **Kállay K**, Gángó A, Kellner Á, Egyed M, Szőke A, Kiss R, Vályi-Nagy I, Csomor J, Matolcsy A, Bödör C. (2018) Familial Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplasia in Hungary. *Pathol Oncol Res*, 24: 83-88.
7. Kotmayer L, Kiss, R; Király, PA ; Csomor, J ; **Kállay, K**; Alpár, D; Bödör, Cs. (2018) Familiáris myelodysplasiás szindrómában szenvedő család genomikus kópiaszám-változásainak vizsgálata multiplex ligatiofüggő szondaamplifikációval. *Hematológia-Transzfúziológia*, 51: 214-220.

8. Tawana K, Wang J, Király PA, **Kállay K**, Benyó G, Zombori M, Csomor J, Al Seraihi A, Rio-Machin A, Matolcsy A, Chelala C, Cavenagh J, Fitzgibbon J, Bödör C. (2017) Recurrent somatic JAK-STAT pathway variants within a RUNX1-mutated pedigree. *Eur J Hum Genet*, 25: 1020-1024.
9. Király PA, **Kállay K**, Marosvári D, Benyó G, Szőke A, Csomor J, Bödör C. (2016) [Clinical and genetic background of familial myelodysplasia and acute myeloid leukemia]. *Orv Hetil*, 157: 283-289.



**10.2. Az értekezéshez nem kapcsolódó közlemények**

Összesített impakt faktor: 12,255

1. Bader P, Kuçi Z, Bakhtiar S, Basu O, Bug G, Dennis M, Greil J, Barta A, **Kállay K**, Lang P, Lucchini G, Pol R, Schulz A, Sykora KW, von Luetlichau I, Herter-Sprrie G, Uddin MA, Jenkin P, Alsultan A, Buechner J, Stein J, Kelemen A, Jarisch A, Soerensen J, Salzman-Manrique E, Hutter M, Schäfer R, Seifried E, Klingebiel T, Bonig H, Kuçi S. (2018) Effective treatment of steroid and therapy-refractory acute graft-versus-host disease with a novel mesenchymal stromal cell product (MSC-FFM). *Bone Marrow Transplant*, 53: 852-862.
2. Horváth O, **Kállay K**, Csuka D, Mező B, Sinkovits G, Kassa C, Stréhn A, Csordás K, Sinkó J, Prohászka Z, Kriván G. (2018) Early Increase in Complement Terminal Pathway Activation Marker sC5b-9 Is Predictive for the Development of Thrombotic Microangiopathy after Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 24: 989-996.
3. Horváth O, Prohászka Z, **Kállay K**, Kassa C, Stréhn A, Csordás K, Sinkó J, Kriván G. (2017) [Changes in diagnostic criteria of thrombotic microangiopathy after stem cell transplantation]. *Orv Hetil*, 158: 1043-1050.
4. Kassa C, Reményi P, Sinkó J, **Kállay K**, Kertész G, Kriván G. (2018) Successful nivolumab therapy in an allogeneic stem cell transplant child with post-transplant lymphoproliferative disorder. *Pediatr Transplant*, 22: e13302.
5. Kriván G, Szabó D, **Kállay K**, Benyó G, Kassa C, Sinkó J, Goda V, Arató A, Veres G. (2014) [Successful autologous haematopoietic stem cell transplantation in severe, therapy-resistant childhood Crohn's disease. Report on the first case in Hungary]. *Orv Hetil*, 155: 789-792.
6. Váradi Z, Bánusz R, Csomor J, **Kállay K**, Varga E, Kertész G, Csóka M. (2017) Effective BRAF inhibitor vemurafenib therapy in a 2-year-old patient with sequentially diagnosed Langerhans cell histiocytosis and Erdheim-Chester disease. *Onco Targets Ther*, 10: 521-526.
7. Csordás K, **Kállay K**, Kassa C, Stréhn A, Kertész G, Goda V, Horváth O, Réti M, Kriván G. (2018) Mesenchymalis őssejt terápia – új lehetőség az akut graft versus host betegség kezelésében. *Gyermekgyógyászat*, 69: 380-385.

8. Hauser P, Jakab, Z., Kiss, C., Szegedi, I., Bárdi, E., Bartyik, K., Ottóffy, G., Kajtár, P., Szűcs, R., Nagy, K., Cservenák, J., Masát, P., Bálint, K., Kordás, M., Bognár, L., Kocsis, B., Vízkeleti, J., Kriván, G., **Kállay, K.**, Benyó, G., Schuler, D., Garami, M. (2009) Előzetes eredmények a medulloblastoma/primitív neuroektodermális tumor (PNET) kezelésében a magyar MBL 2004 kezelési sémával. Magyar Belorvosi Archívum, 62: 196-201.
9. Horváth O, **Kállay K**, Kriván G. (2015) A vashiányos anaemia korszerű kezelése gyermekkorban. Gyermekgyógyászati Továbbképző Szemle, 20: 211-213.
10. Horváth O, **Kállay K**, Kriván G. (2016) A góckérdés napjainkban. Gyermekgyógyászati Továbbképző Szemle, 21: 103-104.
11. **Kállay K**, Fekete F, Szever Z, Majorosi G. (2001) Guillain-Barré-szindróma kezelése napjainkban : irodalmi áttekintés egy eset kapcsán. Gyermekgyógyászat, 52: 374-378.
12. **Kállay K**, Liptai Z, Benyó G, Kassa C, Stréhn A, Goda V, Sinkó J, Rásonyi R, Réti M, Kriván G. (2012) A boxbajnok - avagy kihívások egy X-hez kötött adrenoleukodystrophiában szenvedő gyermek transzplantációjakor. Hematológia-Transzfúziológia, 45: 23-26.
13. Kassa C, Sinkó J, Kertész A, Konkoly Thege M, **Kállay K**, Kriván G. (2008) Multirezisztens baktériumok az őssejt-transzplantációs osztályon. Infektológia és Klinikai Mikrobiológia, 15: 61-67.
14. Stréhn A, Kassa C, Horváth O, Csordás K, Goda V, **Kállay K**, Kertész G, Réti M, Kriván G. (2018) A legfiatalabb őssejt-transzplantált. Gyermekgyógyászat, 69: 289-292.
15. Szalai É, Tóth J, Ocskay L, Liptai Z, **Kállay K**, Kriván G, Csákány B, Nagy Z, Füst Á. (2016) Hemopoetikus őssejtátültetést követően kialakult epibulbáris gyulladássos myofibroblastos tumor. Szemészet, 153: 67-70.

## 11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt köszönettel tartozom főnökömnek, barátomnak és témavezetőmnek, Dr. med. habil. Kriván Gergelynek, hogy annak idején meghívott osztályára dolgozni. Igazi szellemi műhelyt alapított, melyben inspiráló volt együtt gyógyítani. Az iskolához sorban kiváló kollégák csatlakoztak. A mindig újtó, kritikus és alázatos hozzáállás, a szellem szabadságára építő vezetés lehetővé tette, hogy a legmagasabb szinten működő gyógyító csapatmunkánk mellett egyedülálló beteganyagunkon értékes kutatást is végezzünk.

Szeretném megköszönni osztályos szakorvos munkatársaimnak, Dr. Kassa Csabának, Dr. Kertész Gabriellának, Dr. Goda Verának és Dr. Benyó Gábornak, hogy részt vettek szakmai életem elmúlt évtizedeiben, együtt élhettük át és alakíthattuk szűkebb szakterületünk rohamos fejlődését. Köszönöm, hogy elfogadták a kutatás miatti távolléteimet. Hálával tartozom a Gyermekhematológiai és Óssejt-transzplantációs Osztály minden orvosának, ápolónőjének és segítő munkatársának, hogy olyan munkahelyet teremtettek, ahova minden nap öröm volt dolgozni jönni.

Külön köszönet illeti Dr. Sinkó Jánost, Prof. Dr. Szabolcs Pált és Prof. Dr. Vásárhelyi Barnát, akik tudományos tapasztalataik, őszinte kritikájuk és nyelvismeretük segítségével mindig készek voltak utamat egyengetni.

Hálával tartozom a Magyar Gyermekonkológiai Hálózat minden központjában dolgozó kollégáimnak, akik nélkül az EWOG csatlakozás nem jöhetett volna létre. Ugyanitt köszönöm a referencia diagnosztikus szakembereket, Dr. Csomor Judit, Dr. Timár Botond, Dr. Ádám Emma, Dr. Bödör Csaba, Dr. Andrikovics Hajnalka és Dr. Meggyesi Nóra munkáját. Kiváló gyógyítási eredményeink nem jöhettek volna létre Dr. Tóth Blanka mindig áldozatra kész buszulfán szintmérési nélkül.

Köszönöm a Dél-pesti Centrumkórház – Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet Hematológiai és Óssejt-transzplantációs Osztálya Apheresis és Óssejt-processing Részlegének a munkáját, különös tekintettel Dr. Réti Mariennra, Dr. Fodor Anikóra és Dr. Farkas Zitára. Az Áramlási Cytometriai Laborból köszönöm Dr. Karászi Évának és Tasnád Szabolcsnak a graftok mérését és a vírus-specifikus T-sejt donorok szűrését.

Köszönettel tartozom Zakariás Dávid és Hardi Apor medikus kollégáknak, akik igényes tudományos diákköri munkájukkal tevékenyen részt vettek egy-egy kutatás lebonyolításában, adatgyűjtésében és elemzésében. Külön köszönet Dr. Csordás

Katalinnak a statisztikai számításokért. Köszönöm szépen Takács Katalinnak és Nagy Júliának az osztályos adatbázis precíz vezetését, a mindig pillanatok alatt rendelkezésre álló elemzéseket.

Végül, de nem utolsó sorban, a legfontosabb köszönet a családot illeti. Köszönöm édesapámnak, Kállay Ubul Tamásnak, hogy annak idején figyelmemet a természettudományok, azon belül is a biológia felé irányította. Köszönöm feleségemnek, Dr. Kállayné Gilyén Zsuzsannának, hogy elviselte az orvosi hivatásomból számára következő lemondásokat, elfogadta az otthon is szükséges munkákat és türelmesen viselte türelmetlenségeimet. Gyermekeim, Kállay Krisztina Ágnes, Kállay Borbála Anna, Kállay Benedek Botond és Kállay Atilla Zsombor ebben a dolgozatban nem vállaltak tevékeny munkát, de az ő generációjuknak álmódott jövő felépítése minden újítás, reform és kutatás célja.