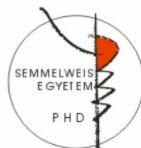


Innovatív módszerek a gyermekkori vérképző őssejt-transzplantációban

Doktori tézisek

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

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. Szerző és munkatársai ezen a területen végzett két évtizedes kutatásaik eredményét mutatják be jelen tanulmányban.

1.2. Szerzett csontvelő-elégtelenségek

A szerzett gyermekkori csontvelő-elégtelenséggel járó kórképek ritka, kezelés nélkül halálos betegségek. Magyarország jelen értekezés szerzőjének vezetésével 2013-ban csatlakozott teljes jogú aktív tagként az európai EWOG csoporthoz (European Working Group of Childhood Myelodysplastic Syndromes and Severe Aplastic Anemia). A Magyar Gyermekonkológiai Hálózat minden központjában bevezettük az egységes referencia diagnosztikát és a betegeket azonos elvek szerint kezeljük.

Jelen tanulmányunkban a csatlakozás óta kezelt betegek eredményeit tekintjük át.

1.3. Vírus-specifikus T-sejt terápia

Allogén vérképző őssejt-transzplantáció után gyakori probléma a vírus reaktiváció, különösen gyermekekben. A hagyományos kezelésre refrakter esetekben a gyors vírus-specifikus T-sejt kezelés segíthet, mely ideális esetben pár nap alatt kivitelezhető.

1.4. Antithymocytoglobulin és bradycardia

Az antithymocytoglobulin a hematológiában évtizedek óta alkalmazott immunsuppressív gyógyszer. Osztályunkon több betegnél ATG adását követően súlyos bradycardiát figyeltünk meg, erről azonban az irodalomban mindössze egyetlen eset ismertetését találtuk. Ezért retrospektív adatelemző kutatást terveztünk ATG-kezelt gyermekek vitális paramétereinek feldolgozásával.

1.5. Köldökvér-transzplantáció veleszületett betegségeiben

1.5.1. 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. Az érintett fiúkra mentális retardáció, megkésett fejlődés, extrapyramidális motorikus zavarok és öncsonkító viselkedés jellemző. Mivel az allogén vérképző őssejt-transzplantáció más veleszületett súlyos fejlődésneurológiai betegek ezreinek életét mentette meg, feltételeztük, hogy LNS esetén is kedvező eredményekkel végezhető.

1.5.2. WHIM syndroma

A WHIM syndroma egy ritka primer immundefektus autosomalis domináns öröklődéssel, melyet a CXCR4 chemokin receptor gén mutációja okoz. Közleményünkben elsőként mutattuk be a betegség gyógyítását allogén vérképző őssejt-transzplantációval egy kilenc éves kislány esetében.

2. CÉLKITŰZÉSEK

2.1. Szerzett csontvelő-elégtelenségek

Magyarország 2013-ban csatlakozott az európai EWOG csoporthoz. 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 terápia

A vértépző őssejt-transzplantáció utáni időszak súlyos T-sejt hiányos immunkompromittált állapotot jelent, mely magyarázatul szolgál az erre az időszakra jellemző vírusinfekciókra. Az időben alkalmazott innovatív vírus-specifikus T-sejt terápia segítséget 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.

2.3. Antithymocya-globulin és bradycardia

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. Köldökvér-transzplantáció veleszületett betegségeiben

2.4.1. Lesch-Nyhan syndroma

Munkánk célja annak bemutatása, hogy az experimentális indikációval választott köldökvér-össejt graft képes volt-e a megtapadásra, a hatékony enzim-szintézisre és a klinikai tünetek enyhítésére.

2.4.2. WHIM syndroma

Célunk annak bemutatása, hogy allogén vérképző-össejt transzplantációval a betegség gyógyítható..

3. MÓDSZEREK

3.1. Szerzett csontvelő-elégtelenségek

A 2013 és 2017 között eltelt 5 évben a Magyar Gyermekonkológiai Hálózat 8 központjában 55 gyermeket kezeltünk (súlyos aplasticus anemia: 9, myelodysplasticus

syndroma: 41, juvenilis myelomonocyter leukemia: 5). Súlyos aplasticus anemiában 7 esetben végeztünk vérképző őssejt-transzplantációt, egy esetben antithymocita globulin kezelést, egy beteg a diagnózis előtt meghalt. Myelodysplasia diagnózisa esetén 37 esetben végeztünk transzplantációt, 4 esetben a szoros megfigyelést választhattuk. A juvenilis myelomonocyter leukemiában szenvedő 5 betegnél transzplantáció történt.

3.2. Vírus-specifikus T-sejt terápia

Az osztályunkon egy év alatt elvégzett 43 allogén transzplantáció esetén 9 beteg esetén állt fenn a T-sejt kezelés indikációja. A sejterápiát indikáló vírus-betegségek CMV pneumonitis és colitis, adenovírus enteritis és cystitis, valamint EBV indukált PTLD voltak. A sejteket CliniMACS Prodigy CCS (IFN-gamma) rendszerrel állítottuk elő, a mononukleáris apheresis után 24 órán belül.

3.3. Antithymocita-globulin és bradycardia

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 vitális paramétereket a következő szakaszokra bontva elemeztük: ATG kezelés előtt, a kezelés utáni 0-3 nap, 4-7 nap és 8-14 nap.

3.4. Köldökvér-transzplantáció veleszületett betegségekben

3.4.1. Köldökvér-transzplantáció Lesch-Nyhan szindrómában

Betegünk esetében myeloablatív kondicionálás után idegen köldökvér-egység transzplantáció történt a gyermek 2 éves korában. A HLA-egyezés 6/6 volt, antigén szinten egyeztetve a HLA-A és HLA-B locusokon, allél szinten a HLA-DRB1 locuson. Az infundált teljes magvas sejt tartalom $3,6 \times 10^7/\text{kg}$ volt.

3.4.2. Köldökvér-transzplantáció WHIM szindrómában

Betegünk kilenc éves korában myeloablatív kondicionálás után újszülött fiútestvére köldökvér egységével vértképző őssejt-transzplantációt végeztünk.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Szerzett csontvelő-elégtelenségek

Akut graft versus host betegség II-IV súlyossággal 22,6%, III-IV súlyossággal 6,8%-ban jelentkezett, míg betegeink 11,2% krónikus graft versus host betegségben szenvedett. 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%. A medián követési idő 30,4 (1,1-62,5) hónap volt. 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 ($p=0,000026$).

4.2. Vírus-specifikus T-sejt terápia

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). Egy beteg CMV pneumonitis miatt, légzési

elégtelenségben meghalt. A másik két haláleset nem a vírusbetegség következménye, mindkét beteget invazív aspergillosisban veszítettük el.

4.3. Antithymocya-globulin és bradycardia

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 ($F=8.518$, $p=0.006$, $\eta^2=0.179$). 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, $p<0.001$).

4.4. Köldökvér-transzplantáció veleszületett betegségekben

4.4.1. Lesch-Nyhan syndroma

A transzplantáció utáni 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.

4.4.2. WHIM syndroma

Betegünk a transzplantáció óta eltelt közel 10 évben teljes életet él, szövődmények nélkül, teljes donor kimérizmussal és kiváló immunfunkciókkal.

5. KÖVETKEZTETÉSEK

5.1. 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.

5.2. 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. Megmutattuk, hogy a HLA vizsgálatnak nincs kötelező szerepe a donorok kiválasztásában, mindezzel idő nyerhető.

5.3. Antithymocya-globulin 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.

5.4. Köldökvér-transzplantáció veleszületett betegségekben

5.4.1. Lesch-Nyhan syndroma

A világon harmadszor végeztünk vérképző őssejt-transzplantációt Lesch-Nyhan syndromában, és elsőként a beteg számára klinikailag is észlelhető jótékony hatásokkal. Átmeneti rosszabbodás után fejlődés-neurológiai javulást észleltünk, az öncsonkító viselkedés elmaradásával. Bár betegünket teljesen meggyógyítani nem tudtuk, ezek a hatások is komoly terhet vesznek le a család válláról.

5.4.2. WHIM syndroma

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..

6. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

6.1. 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.

6.2. 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-Sprie G, Uddin MA, Jenkin P, Alsultan A, Buechner J, Stein J, Kelemen A,

- Jarisch A, Soerensen J, Salzmann-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 gyulladásoos myofibroblastos tumor. Szemészet, 153: 67-70.