

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**Az autológ haemopoetikus őssejttranszplantációt követő
fertőzőeses szövődmények, a megtapadási folyamat és a
haemostatikus aktivitás vizsgálata**

Dr. Radnay Zita Brigitta

Témavezető: Prof. Dr. Kiss Attila



DEBRECENI EGYETEM

LAKI KÁLMÁN DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2023

Az autológ haemopoetikus őssejttranszplantációt követő fertőzőes szövődmények, a megtapadási folyamat és a haemostatikus aktivitás vizsgálata

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a Klinikai orvostudományok tudományágban

Írta: Dr. Radnay Zita Brigitta, okleveles általános orvos

Készült a Debreceni Egyetem Laki Kálmán Doktori Iskolája
(Hematológiai doktori programja) keretében

Témavezető: Prof. Dr. Kiss Attila

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Kiss Csongor, MTA doktora

tagok: Dr. Szeréfi László, kandidátus

Prof. Dr. Takács István, PhD

A doktori szigorlat időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK,
Gyermekehematológiai-Onkológiai Tanszék oktatóterem
2023. július 10. 12 óra

Az értekezés bírálói:

Dr. Földeák Dóra Melinda, PhD

Dr. Nagy Béla, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Kiss Csongor, MTA doktora

tagok: Dr. Szeréfi László, kandidátus

Prof. Dr. Takács István, PhD

Dr. Földeák Dóra Melinda, PhD

Dr. Nagy Béla, PhD

Az értekezés védésének időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK,
Belgyógyászati Intézet A Épület tanterme
2023. július 10. 14 óra

1. Bevezetés

A haemopoetikus őssejttranszplantáció (HSCT) elsődleges célja a malignus hematológiai betegség eradikációja. A HSCT során kemoterápiát és bizonyos esetekben sugárterápiát (kondicionáló kezelés) követően őssejteket juttatnak a recipiens szervezetébe, és a megtapadási folyamat (engraftment) eredményeképpen az új sejtvonalak benépesítik a csontvelői mikrokörnyezetet. A HSCT-hez kapcsolódó immunszupprimált állapot a fertőzőeses szövődmények nagyobb kockázatát hordozza. A mannóz-kötő lektin (mannose-binding lectin, MBL) egy akut fázis fehérje, amely a veleszületett immunválaszban játszik szerepet. A szérumban MBL szintet genetikailag meghatározott és meglehetősen stabil. Irodalmi adatok szerint, a kisebb szérumban MBL koncentráció és a súlyos fertőzések között összefüggés észlelhető. A HSCT folyamata során több tényező miatt bekövetkező endothelsérülés thrombotikus szövődmények kialakulásához vezethet. A véralvadási szövődmények elsősorban a vérelemezkek, a keringésben lévő von Willebrand factor (VWF) és specifikus proteáza, az ADAMTS13 közötti egyensúlyi állapot felborulásának következményei. A VWF a kiserekben érsérülés vagy áramlási sebesség növekedés esetén közvetíti a trombocyták adhézióját, aggregációját és további érkárosodáshoz, vérrögképződéshez vezethet. A HSCT-hez kapcsolódó endothel károsodás, a nem megfelelően működő véralvadási rendszer és gyulladás összefüggései, komplex kölcsönhatásaik intenzív kutatások tárgya.

Munkánk során autológ HSCT-ben részesülő betegeknél az MBL szint és a HSCT utáni immunszupprimált időszakban tapasztalt fertőzőeses szövődmények kialakulása, gyakorisága, súlyossága közötti kapcsolatot elemeztük, egyéb infekcióra utaló laboratóriumi paraméterekkel összefüggésben. Autológ HSCT-ben részesülő lymphomás és myeloma multiplex betegcsoportot összehasonlítva, prospektíven elemeztük a trombocyták számát, VWF szintet, ADAMTS13 aktivitást és a C-reaktív proteint (CRP) értékek terápia következtében bekövetkező változását és a HSCT utáni 100. napnál, a csontvelő regeneráció idején a remisszió állapottal észlelhető összefüggést. A HSCT utáni cytopeniás időszak és a megtapadás során zajló komplex folyamatok, diffúz endothelium károsodás követésére alkalmas haemostasis paraméterek és szolubilis markerek változását és klinikai jelentőségét vizsgáltuk.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. A haemopoetikus őssejttranszplantáció

A haemopoetikus őssejttranszplantáció (HSCT) potenciálisan gyógyulást eredményező kezelése lehet számos, a életet veszélyeztető daganatos és nem malignus megbetegedésnek. HSCT során magától a betegtől (autológ HSCT) vagy egészséges donortól (allogén HSCT) származó haemopoetikus progenitor sejteket alkalmazunk. Az első HSCT elvégzése 1957-ben E. Donnell Thomas nevéhez fűződik. A HSCT-hez a megfelelő betegek kiválasztása, a transzplantációs technológia, a megelőzésre alkalmazott és a szupportív terápiák figyelemreméltó fejlődése eredményezi a korai és hosszútávú kimenetel jelentős javulását. Az évente elvégzett őssejttranszplantációk száma fokozatosan emelkedik a gyors fejlődésnek köszönhetően. A fejlődés része többek között allogén HSCT esetén az idősebb betegeknél a redukált intenzitású kondicionálás (RIC) lehetősége, a HSCT sürgősségi indikációinak figyelembe vétele, és a szélesebb körű donor regisztereknek is köszönhetően, több típusú graft forrás áll rendelkezésre.

2.2. Az őssejtgyűjtés folyamata

A nagy dózisú és őssejtekre toxikus hatású kemoterápiás kezelést megelőzően történő őssejtgyűjtés és a kondicionálást követően az őssejtek beadása nélkülözhetetlen az optimális időben történő megtapadáshoz. A haemopoetikus őssejtek felszínén CD34 expresszió mérhető, mely alapján a sejtek szeparálhatók. Az őssejtgyűjtést korábban a csípőcsontból többszöri aspirációval végezték, de ezt követően a kevésbé fájdalmas, perifériás vérből történő őssejtgyűjtés vált elterjedtté, amely esetén a megtapadási idő is kedvezőbb. Az őssejtek perifériás vérbe történő mobilizációja kemoterápiát követően vagy önmagában alkalmazott granulocita-kolónia stimuláló faktor (G-CSF) adásával történhet. Myeloma multiplex esetén cyclophosphamid adásával, lymphomáknál a betegség-specifikus salvage kezelést követően indítják a perifériás vérbe történő mobilizációt. Allogén HSCT esetén az egészséges donortól G-CSF adása után perifériás vérből történik az őssejtgyűjtés. A beadásig -70 °C fokon fagyaszttva tárolják az

őssejteket dimetil szulfoxid (DMSO) hozzáadásával. A HSCT-hez szükséges minimális mennyiségű CD34+ őssejtszám 2×10^6 sejt/kg, de a kedvezőbb megtapadási időkhöz $4-6 \times 10^6$ sejt/kg mennyiségre kell törekedni. Az őssejtgyűjtést optimális esetben ≥ 20 CD34+ sejt/ μ l esetén kezdik el. Elégtelen mobilizáció esetében a G-CSF mellett plerixafor adása is szükséges a gyűjtéshez. A plerixafor általi CXCR4 receptor gátlás eredményeképpen az őssejtek gyorsan mobilizálódnak a csontvelőből.

2.3. A kondicionáló kezelés

A HSCT folyamata során a betegek kondicionáló kezelést kapnak az őssejt graft beadását megelőzően. A kondicionálás célja hematológiai malignus betegség esetén a kóros sejtek eradikációja, a megfelelő immunszuppresszió biztosítása a megtapadáshoz és a rejekció illetve GVHD kivédéséhez, a csontvelőben fészkek (nichek) kialakítása az új őssejtek számára. A kondicionálási protokollt a diagnózisnak, a betegség státuszának, a HSCT típusának, az őssejt donornak és a beteg állapotának, társbetegségeinek és korának megfelelően választjuk meg. Lymphoma esetén leggyakrabban a BEAM protokollt alkalmazzák, mely során használt szerek a BCNU, etopozid, Ara-C és melphalan. Follikuláris lymphomás betegnél a kondicionálás részeként a korábbi években radioaktív izotóppal jelzett anti-CD20 monoklonális antitestet, itrium-90-ibritumomab tiuxetan (Zevalin) szert is használtak, de alkalmazása visszaszorult, nem javította a teljes túlélést. Myeloma multiplex esetén nagy dózísú melphalant kapnak a betegek kondicionáló kezelésként. A kondicionálás része lehet ritkább esetben a teljes test besugárzás (TBI) is.

2.4. A megtapadási folyamat (engraftment)

A kondicionáló kezelést követően a megfelelő mennyiségű CD34+ őssejt infúziója kiemelkedően fontos a vérképzőrendszer optimális időben történő helyreállításához, a sejtvonalak megtapadási folyamatához, autológ és allogén HSCT esetén is. A HSCT során az egészséges őssejtek megtapadnak a csontvelői niche-kben, ott osztódnak és termelődnek a haemopoetikus sejtek. A folyamat sikerességének korai

és releváns jelzője a fehérvérsejtek és thrombocyták számának növekedése. Stabil és hosszan tartó megtapadás elérése a legfőbb cél a HSCT folyamata során, a vérképzési rendszer működésének megfelelő alakulásához, az immunrendszer funkciójának helyreállításához. Az Európai Csontvelő Transzplantációs Bizottság (EBMT) meghatározása alapján a leukocyta engraftmentet jelenti a harmadik nap a három egymást követő napból, amikor 0,5 G/l értéknél nagyobb abszolút neutrophil szám (absolute neutrophil count, ANC) mérhető. A thrombocyta megtapadás ideje a 20 G/l értéket meghaladó thrombocyta (Thr) számmal járó három egymást követő napból a harmadik nap. A vizsgálatunkban a Klinikánkon alkalmazott kritériumoknak megfelelően a neutrophil megtapadás idejének tekintettük azt a napot, amikor az ANC 0,5 G/l értéknél nagyobb, illetve Thr megtapadás esetén a napot, amikor a Thr 20 G/l, és ezt megelőzően két napon keresztül thrombocyta transzfúzió nem volt szükséges vagy három egymást követő napon keresztül a Thr >20 G/l volt.

2.5. Transzplantációs Központ a Debreceni Egyetemen

Debrecenben Magyarország 5. Haemopoetikus Óssejt Transzplantációs Központja 2003 szeptemberében kezdte meg működését, az EBMT 648-as alközpontjaként. Főként myeloma multiplex (MM) és nagy számban lymphomás (non-Hodgkin lymphoma, NHL és Hodgkin lymphoma, HL) betegek esetén végeztünk autológ HSCT-t az évek során egyre növekvő számban. A betegek indukciós kezelése, a HSCT-ig eljuttatása, a transzplantáció során a megfelelő terápia és szupportáció, valamint a HSCT utáni további követése nagyon átgondolt, jól szervezett, a lapos terápiás és diagnosztikus döntéseket tesz szükségessé, melyhez elengedhetetlen a hematológus, transzplantációs és infektológus szakorvosok csapatmunkája. 2016-ban az allogén HSCT végzését is elkezdtük. Kezdetben humán leukocyta antigén (HLA) - identikus testvérdonoros allogén HSCT-t végeztünk, majd a következő években egyre több matched unrelated donor (MUD) és haploidentikus allogén HSCT-vel kapcsolatos tapasztalatot is szereztünk.

2.6. A HSCT utáni fertőzések megelőzése

A transzplantációs részlegeken az izolációs és sterilitási protokollok szigorú betartása, higiénés kézfertőtlenítés és személyi védőfelszerelés használata, protektív izoláció, pozitív légnyomás különbség a kórterem és a folyosó között kiemelkedő jelentőségű. Az invazív eszközök, centrális véna kanülök fertőzéseinek megelőzése is alapvetően fontos. Szűrt és irradiált vérkészítmények adása, neutropeniás étrend és a fertőtlenítő tisztálkodáshoz klórhexidines fürdő szükséges.

Az autológ HSCT esetén a HSCT-t követően G-CSF ajánlott a neutropenia időtartamának csökkentéséhez. Antibakteriális, antivirális és antifungális profilaxisban részesülnek a betegek a HSCT folyamata során. Az antibiotikum profilaxisra korábban elterjedten fluorokinolonokat alkalmaztak, a helyi protokolloknak és antibiotikum rezisztencia adatoknak megfelelő profilaxis alkalmazása ajánlott. Ha az antimikrobiális terápiának toxikus hatásai is vannak, akkor a profilaxis helyett a pre-emptív terápiát is alkalmazhatjuk (pl. cytomegalovírus esetén rendszeres PCR vizsgálat a fertőzés korai felismerésére). A *Pneumocystis carinii* pneumonia (PCP) profilaxisához trimetoprim-sulphamethoxazol adása szükséges az immunszupprimált állapotban. Az intravénás immunglobulin (IVIG) rutinszerű alkalmazására nincsen ajánlás, nem mutatott jelentős hozzájárulást a túlélési eredmények javításához, az infekciók vagy egyéb szövődmények megelőzéséhez.

Az immunrendszer helyreállítását követően, főként allogén HSCT esetén a védőoltások beadása és ismétlése fontos a védettség kialakulásához, mivel a recipiens a korábbi immunizációknak köszönhető védettségét a kondicionálás és HSCT-t követően elveszíti. Az immunrendszer helyreállítását követően, az mRNS alapú COVID-19 vakcinák alkalmazása ajánlott, valamint az immunsuppresszív terápiában részesülő betegeknél a tixagevimab-cilgavimab injekció adható a súlyos fertőzés megelőzéséhez.

2.7. A HSCT utáni fertőzések szövődmények

A fertőzések kockázata több tényező kölcsönhatásától függ: a kórokozó virulenciájától és az expozíció mértékétől, a beteg specifikus immunreakciójától és immunrendszerének működésétől, az immunsuppresszió mértékétől valamint a szöveti és szervkárosodás fokától, invazív eszközök jelenlététől. A fertőzések kockázata mérséklődik a vérképző rendszer újjászerveződését, főként a veleszületett és szerzett sejtvesztés helyreállítását követően. Fertőzések fokozott kockázatával jár az idősebb életkor, több komorbiditás, a hematológiai alapbetegség miatti több ciklusból álló, nagyobb toxicitású kezelés, korábbi HSCT, korábbi fertőzések és a vastűlterhek. A HSCT-hez kapcsolódó tényezők közül a fertőzések nagyobb kockázatát okozhatja a myeloablatív kondicionálás, haploidentikus transzplantáció, a T-sejt depléción és az immunsuppresszív terápia. Immungenetikai tényezők és a hosszabb és nagyobb mértékű neutropenia szintén a fertőzések kialakulásának rizikóját emeli. A neutropenia hossza az alapbetegség, a korábbi kezelések, az őssejt mennyiség, a kondicionáló kezelés és a graft minőségének a függvénye. A bélflóra mikrobiom diverzitásának csökkenése is a fertőzések valószínűségét növelő tényező. Allogén HSCT esetén fertőzések fokozott esélyéhez vezethet a graft elégtelenség, akut és krónikus GVHD, immunmodulációt okozó vírusok (CMV).

A HSCT utáni időszakot a jellemzően előforduló fertőzések alapján három részre érdemes felosztani: a megtaadás előtti (pre-engraftment) időszak a HSCT és a neutrophil sejtvonal helyreállása közötti 20-30 napban, a korai post-engraftment (az engraftment és a 100. nap között) és a késői post-engraftment időszak (a 100. nap után). Allogén HSCT esetén mindhárom időszakban, autológ HSCT-nél az első két periódusban jellemző a fertőzések nagyobb száma. A fertőzések szövődmények nagyobb kockázata nemcsak a neutropeniás időszakra jellemző, hanem az autológ HSCT esetén 6-12 hónapon keresztül, allogén HSCT-nél 12-24 hónapig, a B- és T-sejtes immunválasz helyreállításáig.

A pre-engraftment időszakban a bőr és a nyálkahártya rétegek károsodása, a neutropenia és a fagocitáló képesség csökkenése a fertőzések kialakulása szempontjából fontos rizikótényezők. A neutropeniával a háttérben infekciót okozó góc csak az esetek

20-30%-ában igazolható. Neutropeniás láz esetén vett hemokulturákban 10-25%-nál észlelhető bakteriémia, aerob Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok főként. Pneumonia és gasztrointesztinális traktust érintő fertőzések (neutropeniás enterocolitis) is kialakulhat. A tüdőben lévő infiltrátumok lehetnek noduláris elhelyezkedésűek vagy diffúzak, és az engraftment szindrómaként említett, citokinek által vezérelt gyulladásos folyamatok is okozhatják. A neutropeniás időszakban alkalmazott antibiotikum profilaxis csökkenti a súlyosabb infekciós szövődeményeket. A hosszan fennálló láz hátterében az adott antibiotikumra rezisztens baktérium, gombafertőzés vagy a szövetkárosodás miatti gyulladásos reakció állhat. A centrális véna kanülökhöz társuló fertőzések esetén a kanülből vett vérből, illetve a kanül bemeneti nyílásánál a bőrből vett minták szükségesek, Staphylococcus előfordulhat, de gyakran nem igazolódik kórokozó. A véráram fertőzések a centrális véna kanülökhöz vagy nyálkahártya sérülésekhez kapcsolódva alakulhatnak ki, Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok és Candida fertőzés is előfordulhat.

A Gram-pozitív coccusok felelősek a HSCT utáni véráram fertőzések többségéért, a gyakoribb kórokozók a koaguláz-negatív Staphylococcus, Streptococcus viridans, Staphylococcus aureus (methicillin rezisztens, MRSA), Enterococcus és Staphylococcus epidermidis. A fluorokinolon profilaxis csökkentette a Gram-negatív fertőzések arányát, de kisebb hatékonysága van a Gram-pozitív kórokozók ellen. A rezisztens Gram-negatív bakteriémia előfordulása növekszik az intravaszkuláris eszközök és a fluorokinolon profilaxis elterjedt alkalmazásának eredményeként. A PCP előfordulása csökkent a trimethoprim-sulphamethoxazol profilaxisnak köszönhetően. A PCP diffúz pulmonális infiltrátumot, interstitialis pneumonitist hozhat létre, súlyos hypoxiához vezet, magas lázzal, száraz köhögéssel jár. A PCP kockázati tényezői a hosszú ideig alkalmazott immunszuppresszív terápia, szteroidok adása, krónikus GVHD, rituximab korábbi alkalmazása, csökkent T-lymphocyták száma és a relapszus.

A korai post-engraftment időszakban a fertőzések rizikófaktora a továbbra is fennálló mucositis, nyálkahártya barrier károsodások, neutropenia és alogén HSCT esetén az akut GVHD és az immunszuppresszív terápia. A vírusfertőzések előfordulása a HSCT utáni 31-100. nap közötti időszakban jellemző, a leggyakoribb a

cytomegalovírus (CMV) pneumonia és gastrointesztinális érintettség. A CMV diffúz pulmonális infiltrátumot okozhat. A reaktiváció rizikótényezője a GVHD és immunszuppresszív terápia, korábbi CMV viremia. Elengedhetetlen a CMV profilaxis vagy pre-emptív terápiához a rendszeres szerológia, PCR vizsgálat, és CMV fertőzés esetén az azonnali kezelés és a terápia hatásának követésére a kópiaszám figyelése. A legáltalánosabban előforduló korai vírusfertőzés a herpes simplex vírus (HSV), gingivostomatitist okoz. A HSV reaktivációja az orális mucositis kialakulásában és rosszabbodásában is közrejátszhat. A gyakori légúti vírusok felső- és alsó légúti tüneteket okozhatnak. Az adenovírus fertőzés reaktivációja ritkán eredményez súlyos megbetegedést. Az EBV reaktiváció és a csökkent T-lymphocyták szám szerepet játszik a post-transzplantációs lymphoproliferatív betegség kialakulásában, melynek tünetei a láz, nyirokcsomó megnagyobbodás, extranodális lymphoma proliferáció különböző szervekben (májban, tüdőben, csontvelőben, központi idegrendszerben). Allogén HSCT esetén a korai post-engraftment időszakban fordulhat elő a BK polyomavírus által okozott haemorrhagiás cystitis. A BK vírus tartósan károsítja a vese tubuláris epithelialis sejteit és az urothel sejteket. Kialakulásában a myeloablatív kondicionálásnak, haploidentikus HSCT-nek, post-transzplantációs cyclophosphamid kezelésnek van szerepe.

A HSCT-t követő gombafertőzések előfordulását a fluconazol profilaxis csökkentette. A két leggyakoribb, klinikailag releváns kórokozó a Candida és Aspergillus. Az invazív gombafertőzések a malignus hematológiai betegségek kezelését követően, különösen az allogén HSCT után, életet veszélyeztető szövődmények közé tartoznak. Ritkább, de potenciálisan letális gombafertőzéseket okozhat a mucormycosis és Fusarium valamint egyéb oportunisták. A fertőzések eredetű hasmenés gyakoribb kórokozói a Clostridium difficile, CMV, adenovírus és enterális vírusok (pl. rotavírus), hajlamosító tényező a lymphopenia.

A késői post-engraftment időszakban főként allogén HSCT-t követően lehet fertőzések előfordulására számítani, kockázatát fokozza a myeloablatív kondicionálás, CMV szeronegatív donor és szeropozitív recipiens, súlyos krónikus GVHD és az immunrendszer késői helyreállása. Sinusitis, felső légúti fertőzések, pneumonia és

meningitis háttérében sokkal gyakoribbak a baktériumok, amelyek bakterémiát okozhatnak ezeken kívül Staphylococcus és Gram-negatív baktériumok is. A baktériumfertőzés mellett CMV, Pneumocystis carinii és Aspergillus is előfordulhat. Varicella-zoster vírus (VZV) reaktiváció szintén a késői időszakban jellemző.

2.8. A mucositis

Az orális mucositis gyakori toxikus mellékhatás a nagy dózisú kemoterápiában és HSCT-ben részesülő betegek esetén. A kondicionáló kezelés a gyomor-bélrendszer nyálkahártya gyulladást és károsodást okoz. A myeloablatív kondicionálásban részesülő betegek kb. kétharmada esetén súlyos fokú mucositis alakul ki. A nagy dózisú kemoterápia megváltoztatja a kiserek strukturális integritását és a mucosa vérellátása szabálytalanná, egyenetlenné válik a submucosában lévő kapillárisok perfúziójának csökkenésével. Az orális mucositis időbeli alakulására jellemző a HSCT utáni 6. és 12. nap közötti csúcspont, és a következő 7-14 napban a lassú fokozatos javulás. A tünetek csökkentésére lokális kezeléseket, helyi krioterápiát, fotobiomodulációt, például mint alkalmaznak és súlyosabb esetekben fájdalomcsillapító kezelés is szükségessé válhat. A mucositis miatti nagyfokú fájdalom a megfelelő mennyiségű folyadék- és kalória-bevitelt gátolja. A súlyos fokú mucositis a kezelés kimenetelét ronthatja a fertőzések kockázatának növelése által, az enterális vagy parenterális táplálás szükségessé tételével és a kórházi tartózkodás meghosszabbításával.

2.9. A veleszületett immunrendszer és a mannóz-kötő lektin

A veleszületett immunválasz a fertőzésekkel szemben azonnali védekezést jelent és aktiválja a szerzett specifikus immunválaszt. A veleszületett (innate) immunrendszer jelenti a fertőzésekkel szembeni elsődleges védelmet a szerzett immunválasz éretlen vagy csökkent működése esetén. A mannóz-kötő lektin (mannose-binding lectin, MBL) az innate immunitásban központi szereppel rendelkező C-típusú szérum lektin. Az MBL a májban termelődik és a kutázis fehérjeként funkcionál. Akut

fázis reakció esetén az MBL szint növekedése lassú (az indukáló esemény után 1-2 héttel) és mérsékelt (legfeljebb háromszoros emelkedés).

Az MBL a plazmában szerin proteázokkal (MBL-associated serine proteases, MASPs) kapcsolódik. Az MBL/MASP komplexben a MASP-2 a C4 komplementfaktor aktivációjához szükséges enzim. Az MBL a kórokozók felszíni szénhidrát mintázatahoz kötődve, direkt módon valamint a lektin komplement útvonal aktivációján keresztül közvetít az opszono-fagocitózis folyamatához. Az MBL tud kötődni a *Staphylococcus aureus* és a β -hemolizáló *Streptococcus A* csoport tagjaihoz, de több baktériumtípus esetén csak egy részük (*E. coli*, *Klebsiella species*, *Haemophilus influenzae*) mutatott szignifikáns kötődést, a sokkal rendelkező kórokozók pedig gátolják az MBL kötődést. Az MBL lehetővé teszi az opszonizációt az invazív gombafertőzések legfőbb kórokozói, az *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* és *Cryptococcus neoformans* esetén is. Az MBL részt vesz az apoptotikus és nekrotikus sejtek és az oxidatív stresszhatásnak kitett endothelium sejtek felismerésében. A malignus betegségek gyakran megváltozott sejtfelszíni glikozilációs mintázattal járnak, így az MBL felismerheti a kóros sejteket. Az MBL reaktív szénhidrát epitópok néhány daganatos sejtvonal felszínén is előfordulnak, így a malignus hematológiai betegeknél lehetséges az MBL deficiencia nagyobb kimutathatósága a sejtfelszínhez kötődés miatt.

A kisebb MBL szérumszint oka a kisebb aktuális MBL koncentráció vagy a funkcionális aktivitás csökkent szintje. A szérum MBL koncentráció 5 és 5000 ng/ml közötti, a génben és promoter régiójában lévő genetikai mutációk következtében. Az általános populáció több mint 10%-a MBL deficiens. Az MBL-deficiens emberek egészséges, fertőzések iránti nagyobb fogékonyság nélkül, de az immunrendszer további károsodása esetén fokozódhat a fertőzések kockázata. Szoros összefüggés van az MBL koncentráció és a genotípus között, de azonos genotípusú egyének között az MBL szintben 10-szeres különbségek is lehetnek. Az MBL2 genotípustól függ az MBL koncentráció növekedési kapacitása lázas neutropenia ideje alatt. A normál MBL haplotípus akut fázis reakció során növekvő MBL koncentrációval jár, míg az 1-es exonban lévő mutációval rendelkező betegek többsége nem képes működő MBL

szintézisére és akut fázis reakció során sem emelkedik a szérum MBL szint. A nem megfelelő polimerizáció kisebb MBL szintet és károsodott MBL funkciót okoz.

A nem megfelelő MBL funkció fertőzésekkel szembeni nagyobb fogékonysághoz vezethet, a myeloszuppresszív kemoterápiában részesülő betegek esetén fertőzések rizikótényezője. A mikrobiológiailag bizonyított szisztémás és disszeminált fertőzések gyakoribbak azoknál a nagy dózisu kemoterápiában és autológ HSCT-ben részesülő betegeknél, akik MBL deficiensek. A neutropenia időtartama és mélysége befolyásolja a fertőzések gyakoriságát és súlyosságát. Az MBL deficiens betegek esetén hosszabb ideig tarthat a lázas neutropenia. A neutropenia ideje alatt az MBL effektor funkciója súlyosan veszélyeztetett, mivel az MBL-indukált komplement aktivációt követően neutrophilok lennének szükségesek a fokozott fagocitózishoz. Néhány tanulmány szerint nem volt megfigyelhető az MBL deficiencia és láz előfordulása, lázas időszakok időtartama között összefüggés, nem találtak kapcsolatot az MBL szint és a kemoterápiához kapcsolódó fertőzések között, illetve az MBL2 gén mutációi és a HSCT utáni első fertőzés előfordulása között.

2.10. A HSCT utáni véralvadási szövődmények

Az autológ HSCT korai thrombotikus szövődmények kialakulásával járhat, mely a HSCT során bekövetkező endothelsejt (EC) aktivációval és sérüléssel függ össze. Az endothelsejt aktiváció fontos a HSCT utáni véralvadási komplikációk, mint a májban lévő sinusoidokban kialakuló veno-okkluzív betegség (VOD), a mikroangiopathiás hemolízis és a thrombotikus mikroangiopathia (TMA) létrejöttében.

A VOD egy fájdalmas májmegnagyobbodással, sárgasággal, ascitissel, folyadék felszaporodással és testtömeg gyarapodással járó klinikai szindróma. Többnyire a HSCT utáni +35. nap előtt következik be. A VOD patofiziológiája véralvadási, immunológiai, cytotoxikus és gyulladásos tényezőket foglal magában. A VOD oka a sinusoidok endothelsejtjeinek és a májsejteknek az elsődleges, és a centrális venulák következményes károsodása. A citokinek és a VWF felszabadulása stimulálja a vérlemezkék adhézióját és aggregációját. A VOD esetén gyakori a vérlemezke

koncentrátumra refrakter thrombocytopenia, a lépben történő felhalmozódás és az endothelsejt károsodás miatti fokozott thrombocyta felhasználódás következtében.

A VOD kockázati tényezői a korábban fennálló májkárosodás, a kondicionáló kezelés és citotoxikus terápia (nagy intenzitású kondicionálás, idegen donoros HSCT esetén, cyclophosphamid, per os busulphan), TBI, korábbi sugárterápia a hasi régióra, allogén HSCT, hepato-nephrotoxikus szerek (vancomycin, acyclovir, amphotericin) a kondicionálás alatt, egyéb gyógyszerek a HSCT során (kombinálva a cyclosporin és methotrexat GVHD prophylaxisra, ketoconazol), és genetikai tényezők.

A hepatikus VOD profilaxisa szükséges a kondicionálás kezdetétől a HSCT korai időszakán keresztül a neutrophil megtapadásig vagy a HSCT után 1-3 hónapig. Kis molekulásúlyú heparin (LMWH) vagy kis dóziszú heparin, és profilaktikus urzodezoxikólsav alkalmazás jótékony hatású. A VOD kezelésében a defibrotid olyan szer, amely modulálja az endothelsejt sérülést a vérzéses szövödmények kockázatának növelése nélkül, és a citotoxikus terápia tumorelles hatását nem ellensúlyozza.

A HSCT-hez kapcsolódó TMA incidenciája változó, 0,5% és 70% közötti. A TMA a HSCT utáni első 100 napban alakulhat ki, autológ HSCT-t követően kisebb gyakoriságú (legfeljebb 2,6%) mint allogén HSCT esetén (közel 10%). Magas a mortalitás (60-90% közöttire becsülhető), és a kezelésre szerény lehetőségek vannak. Az endothelsejt sérülés beindítja a mikrocirkulációban bekövetkező thrombosit és fibrin felhalmozódást, felhasználódásos thrombocytopeniát eredményez, és a vörösvérsejteket is fragmentáló shear stressz keletkezik.

2.11. Az endothelsejt károsodás okai

Az endothelsejt diszfunkció okai multifaktoriálisak. Az EC a HSCT során elsősorban a kondicionáló kezelés során a kemo-irradiáció alkalmazása, majd a sérült szövetekből felszabaduló citokinek által sérülhet. A későbbiekben endothelkárosodást eredményezhet a gasztrointesztinalis traktus sérült falán keresztüli bakteriális endotoxin transzlokáció. A kemoterápia, növekedési faktorok, intra vénás katéterek és GVHD következtében kialakuló endothelsérülés és a jelentős thrombocytopenia fontos a véralvadási szövödmények kialakulásában. Az endothelsejt sérülés mértékét néhány

szolubilis marker, mint a plazma thrombomodulin (TM), von Willebrand faktor (VWF) és adhéziós molekulák mennyisége jól jellemzi. A szisztémás fertőzések során a kapillárisok permeabilitásának és az endothel barrier integritásának megváltozása szintén közrejátszik a prokoaguláns állapot, thrombotikus szövődmények létrejöttében.

Az irodalom szerint, a HSCT-t követő 14. napon a kondicionáló kezelés előtti naphoz képest szignifikáns mértékben nagyobb VWF expresszió észlelhető, mely ezt követően csökkenő tendenciát mutat. A megtapadás és a G-CSF is szerepet játszik a +14. naphál látott endothel sérülés kialakulásában. A kemoterápia nagymértékben befolyásolja az endothelium és a vérlemezkék állapotát és működését, ezáltal emelve a bakteriális fertőzések, immunreakciók és véralvadási szövődmények kockázatát.

2.12. A HSCT utáni véralvadási szövődményekkel kapcsolatos laboratóriumi markerek

A vérlemezkék és a VWF érzékelik az áramlási erőhatásokat és aktivált állapotba kerülnek, a gyulladás fokozódik és a VWF-on keresztül a vérlemezkék és a sérült endothelsejtek közötti helyi reakciók további érkárosodást és vérrögképződést eredményeznek. A VWF multimer glikoprotein a megakaryocytákban és endothelsejtekben keletkezik és a vérlemezkék alfa granulumában valamint az endothelsejtekben lévő Weibel-Palade testekben tárolódik. Az endothelsejtek és thrombocyták stimulációja indukálja az aktív, nagy VWF multimerek felszabadulását. A szekréciót követően, az ADAMTS13 (a disintegrin-like and metalloproteinase with thrombospondin type-1 motifs 13) proteolitikusan hasítja a nagy VWF multimereket. A keringésben a VWF féléletideje 12,4 $\pm$ 2,5 óra. A VWF szabályozza a thrombocyta adhéziót és aggregációt az érsérüléseknél a kiserekben. Az ADAMTS13 és a VWF aktivitás egyensúlya feltétlenül szükséges a nagy VWF multimerek felhalmozódásának és a következményes vérlemezkeaggregáció és vérrögképződésnek a megelőzéséhez.

A C-reaktív protein (CRP) májban történő *de novo* szintézise akut fázis stimulus hatására fokozódik és a plazmában akár 1000-szeresére is nőhet a szintje a normál, 5 mg/l-nél kisebb értékhez képest. A szintézis aránya határozza meg a

keringésben lévő CRP szintet, így direkt módon reagál a patológiás folyamatok intenzitására. A keringésben lévő CRP koncentráció rapidan csökken a stimulus megszűnését követően. A CRP félléletideje a plazmában 19 óra.

Az ADAMTS13 általi proteolitikus hasítás következményeként a szokatlanul nagy méretű (unusually/ultra large) VWF multimerek (UL-VWFM) kisebb méretű multimerekre darabolódnak. Az UL-VWF multimerek elégtelen fiziológias feldolgozási folyamata kedvez a vérlemezkék az erősen thrombogén multimerekhez történő adhéziójának, amely thrombocyta aggregációt és a kiserek elzáródását eredményezi. Irodalmi adatok szerint az ADAMTS13 aktivitás szignifikánsan csökkent mértékű VOD esetén, már a kondicionáló kezelés megkezdése előtt is. Az UL-VWF multimerek jelen lehetnek a plazmában VOD előfordulása esetén és VOD nélkül is, a VWF antigénszint és aktivitás növekedésével együtt. A normál plazmában nincs jelen UL-VWFM. A HSCT utáni TMA esetén nem észlelhető súlyos ADAMTS13 deficiencia.

3. Célkitűzések

Az infekciók és a thrombotikus események a HSCT utáni időszak fenyegető veszélyei. Munkánk arra irányult, hogy ezen veszélyeket jelző markereket találjunk.

Infekciókra különösen fogékony esetekben fontos lenne az antimikrobiális terápia korábbi megkezdésének szükségességét jelző teszt. Az MBL szint meghatározása segítséget jelenthet az antibiotikus kezelés tervezésében, MBL-deficiencia esetén korábban megkezdett és erőteljesebb kezelés lehet indokolt. A szérum MBL szint és a HSCT utáni időszakban kialakuló fertőzések közötti összefüggések vizsgálatát tűztük ki egyik célunkként, hogy választ kapjunk azokra a kérdésekre hogy (1) az MBL deficiens csoportban az immunszupprimált, neutropeniás időszakban több súlyos fertőzésre számíthatunk-e, (2) a rutinszerűen használt CRP meghatározás mellett az MBL szint mérése indokolt lenne-e.

A primer haemostasis változása okozta thrombotikus események jelzői (thrombocyta szám, VWF, ADAMTS13) jónéhány közlemény témája, de a kezelési ajánlásokban nem szerepel ezek együttes elemzése. Ennek oka lehet, hogy sok ellentmondás van a korábbi irodalmi eredményekben. Célunk volt az ellentmondások okának feltárása. Autológ HSCT-ben részesülő lymphomás és myeloma multiplexes betegcsoport primer haemostasis paramétereit mértük öt reprezentatív időpontban meghatározva és az adatok összehasonlításával három kérdéscsoportra kerestük a választ: (1) hogyan változik a terápia következtében a thrombocyta szám, a VWF szint az ADAMTS13 aktivitással együtt, illetve a CRP szint, (2) ezek a paraméterek egymással összefüggést mutatnak-e és (3) a csontvelő regenerációjának idején a remisszió állapottal összefüggenek-e. Habár számos tanulmány már vizsgálta ezeknek az értékeknek a szerepét a HSCT folyamata során, egyik sem tanulmányozta és hasonlította össze külön-külön az autológ HSCT-ben részesülő lymphomás és MM betegcsoportokra bontva, a kezelés során több időponton keresztül a paraméterek közötti összefüggéseket.

4. Betegek és módszerek

4.1. Az MBL szint és az autológ HSCT utáni fertőzések szövődmények elemzése

A Debreceni Egyetem Transzplantációs Központjában végzett autológ HSCT-t követően 186 betegnél a szérumban MBL szint és a HSCT utáni fertőzések gyakorisága, súlyossága és előfordulása közötti összefüggést vizsgáltuk, a helyi Etikai Bizottság engedélyével (DE OEC RKEB/IKEB 3633-2012). CRP mérés klinikai döntésnek megfelelően történt a betegek esetén, és a HSCT utáni első 14 napban a legnagyobb CRP szintet vettük számításba.

Diagnózis szerinti alcsoportok, MM, NHL és HL különválasztása után hasonlítottuk össze a fertőzések szövődeményeket. A vizsgált betegek között, az NHL betegek száma 63 (nő/férfi: 25/38, kor (év, mean $\pm$ SD): 52 $\pm$ 11), HL 27 esetben (nő/férfi: 12/15, kor: 34 $\pm$ 9), és MM 94 esetben (nő/férfi: 55/39, kor: 56 $\pm$ 8). Két beteg egyéb diagnózissal szintén szerepelt a vizsgálatban. A kontroll csoport 296 korban és nem szerint illesztett egészséges egyénből állt (nő/férfi: 156/140, kor: 50 $\pm$ 16 év). A kontroll egyéneknek nem volt hematológiai vagy májbetegsége. Összehasonlítottuk a szérumban MBL szintet és az MBL deficiencia előfordulását az egészséges és a hematológiai betegségben szenvedő egyének csoportjában. Vizsgáltuk MBL szint alapján a mikrobiológiai eredmények megoszlását, és a hipotézist, hogy HSCT-t követően a progresszió, relapszus kapcsolatban áll az MBL szinttel és a fertőzésekkel szembeni fogékonysággal, más paraméterek mellett.

Az MBL szint tartománya az egészséges populációban 5 és 5000 ng/ml közötti, <100 ng/ml értékek MBL deficienciát jelentenek. Az MBL antigén szintet a HSCT után 100 nappal mértük, aktív fertőzéstől mentes időszakban. Az MBL szint genetikailag meghatározott és meglehetősen stabil. Az a kut fázis reakció alatt kismértékű növekedést észlelünk. Néhány esetben az MBL koncentrációt a HSCT előtt és 100 nappal HSCT után megmértük, és majdnem egyenlő volt. A vizsgált betegek aláírták a tájékoztatott beleegyező nyilatkozatot. Vérminta vételét követően, a natív csöveket centrifugáltuk 15 percig 3000 RPM-en, ezt követően a szérummintákat -70 °C-on tároltuk kis aliquotokban a mérésig. Az MBL szint meghatározáshoz dupla monoklonális antitest

szendvics ELISA rendszert használtunk, Minchinton és munkatársai módszere alapján, a Debreceni Egyetemen a Klinikai Kutató Központban.

A folytonos változókat átlag és standard deviáció (mean, SD) vagy medián és interquartilis range (median, IQR) értékekkel fejeztük ki és Mann-Whitney U-teszt vagy Student-féle T-teszttel hasonlítottuk össze. Kolmogorov-Smirnov és Chi-square tesztekkel használtunk a változók megoszlásának elemzéséhez, és Kruskal-Wallis ANOVA by Ranks módszert több mint két csoport adatainak összehasonlításához. A változók összefüggését Spearman korrelációs teszttel elemeztük. $P < 0,05$ értéket tekintettük szignifikáns változásként. ROC görbe analízist használtunk az MBL küszöbérték (cut-off) meghatározásához. GraphPad Prism 5 és MedCalc programot alkalmaztunk.

4.2. A HSCT során végzett haemostasis vizsgálatok és a HSCT utáni szövődmények elemzése

Egyszáznégy beteg (45 lymphomás és 59 MM beteg) szerepelt a vizsgálatban, akik autológ HSCT-ben részesültek 2010 és 2013 között, a Debreceni Egyetemen, a CIC 648 számú Transzplantációs Részlegen. A helyi Etikai Bizottság engedélyével történt a vizsgálatba beválasztás (DE OEC RKEB/IKEB 3633-2012), írásos beleegyező nyilatkozatot követően. A HSCT folyamata az EBMT irányelveinek megfelelően történik. Az őssejtgyűjtést perifériás vérből végeztük és ezt követően -70°C hőmérsékleten tároltuk. A lymphomás betegek esetén a kondicionáló kezelés BEAM protokoll szerint történt: egyszeri adagban 300 mg/m^2 intravénás (iv.) BCNU (carmustine) a második napon; 200 mg/m^2 etoposide naponta egyszer és Ara-C naponta kétszer adva iv. négy egymást követő napon át; és egyszeri adagban 140 mg/m^2 melphalan a hatodik napon. A follikuláris lymphomás betegek a kezelés kiegészítéseként kaptak ibritumomab tiuxetan-t is ($n=8$; Zevalin, Z-BEAM). A kondicionáló kezelés MM esetén egyszeri adagban 200 mg/m^2 melphalan ($n=53$), veseelégtelenség esetén 140 mg/m^2 adagra csökkentve ($n=6$). Minden MM beteg anti-angiogenezis terápiában is részesült az indukciós kezelése során.

A HSCT folyamata során minden beteg profilaxisként LMWH-t kapott, szorosan monitorozott vesefunkció és Thr szám szerinti a dagolással. Amikor a Thr szám 40 G/l alá csökken, az LMWH helyett folyamatos iv. Na-heparint alkalmazunk a megtapadásig. A Na-heparint leállítottuk amikor a Thr szám 20 G/l alá csökkent és vérzés vagy láz jelentkezett, vagy ha 10 G/l alá csökkent, amikor thrombocyta transzfúzió volt szükséges. Urzodezoxikólsavat folyamatosan adtunk a HSCT utáni naptól a megtapadásig. A neutropeniás időszakban az összes beteg antibiotikum, antivirális és gombaelleni szereket kapott megelőzésként. A betegeket a megtapadást követően a kórházból hazabocsátották (medián és IQR: 12 és 11-14 nap). Két-három hét elteltével kontrollra jelentkeztek a transzplantációs ambulancián. A HSCT után 100 nappal állapotfelmérés történt komplett vagy parciális remisszió (Cr/Pr) megítélése céljából, amely lymphoma esetén PET/CT vizsgálat eredményén alapult (Cheson kritériumok), MM esetén csontvelő vizsgálat és szérum fehérje elektroforézis készült (IMWG kritériumok), valamint mindkét csoport esetén a csontvelő regeneráció laboratóriumi markerei (vérkép, CRP) kerültek meghatározásra. A statisztikai elemzésekhez, MM esetén a nagyon jó parciális remisszió (VGPR) és a parciális remisszió csoport együtt, parciális remisszió csoportként szerepelt.

A vérminta vételhez 3,2%-os Nátrium-citrátos, K₂EDTA, és natív csöveket használtunk. Centrifugálást követően (1500 g, szobahőmérsékleten, 15 percig) a plazma és szérum mintákat aliquot egységekben, -70°C hőmérsékleten tároltuk a mérés idejéig. A mintavétel időpontjai: a kondicionáló kezelés megkezdésének napja (preconditioning; Dpre, ami megfelel D-7 lymphoma és D-2 MM esetén); az őssejttranszplantáció napja (HSCT, D0); és a HSCT utáni 5±1 (D5), 11±1 (D11 vagy megtapadás=engraftment) és 100±5 napok (D100 vagy csontvelő regeneráció). A vérkép, hemosztázis értékek, vese- és májenzim értékek meghatározása a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében történt.

A VWF antigénszint és kolla génkötő aktivitás (VWF:Ag és VWF:CB) mérését ELISA módszerrel végeztük, nyúl primer és szekunder antitestek használatával. Humán kolla gén III. típusával történt a “coating” VWF:CB ELISA során. Az optikai denzitást Tecan Infinite 200M fotometerrel mértük, Magellan szoftver segítségével és

négyparaméteres Marquardt görbe illesztéssel számoltattuk a VWF:Ag koncentrációt és a VWF:CB aktivitást.

ADAMTS13 aktivitás mérése fluoreszcens rezonancia energia transzfer (FRET) assay-vel történt Kokame et al. szerint, egy szintetikus 73-tagú peptid használatával (FRET-S-VWF73), a Semmelweis Egyetem III. Belgyógyászati Klinika, Klinikai Kutató Laboratóriumában, Budapesten, a betegek Dpre és D11 napi mintáiból. A VWF:CB és az ADAMTS13 aktivitást VWF:Ag értékre normalizáltuk, és VWF:CB/Ag és AD13/VWF rövidítéssel jelöltük.

A statisztikai elemzéshez és grafikus megjelenítéshez Microsoft Excel 16.16.24 és GraphPad Prism 9.0.0. programokat használtunk. A változókat normalitás és lognormalitás szempontjából is elemeztük. Mivel a távoleső értékek (outliers) a betegség állapotával függenek össze, így azok is szerepeltek az analízisekben. A változók közötti különbségek elemzéséhez one-way ANOVA és Bonferroni korrekciót; a változók összefüggéseinek vizsgálatához Pearson korrelációt és Benjamini és Hochberg módszert; a funkcionális kapcsolatok és prediktív szerep megítéléséhez lineáris és logisztikus regresszió módszert alkalmaztunk.

5. Eredmények

5.1. A HSCT utáni fertőzések és az MBL meghatározás eredményeinek összefüggése

A 186 vizsgált, malignus hematológiai betegségben szenvedő egyén közül 21 beteg volt bizonyítottan MBL deficiens. Az MBL deficiens csoportban 51 fertőzéses epizód (nagyobb CRP érték, láz, fertőzés klinikai tünetei) volt észlelhető, és a megfelelő MBL szinttel rendelkező csoportban pedig 372 fertőzést találtunk a HSCT-t követő első 360 nap során. A HSCT utáni első fertőzés kialakulásának medián ideje +7. nap [3-8] volt az MBL deficiens és +6. nap [4-8] a nem MBL deficiens betegek között.

Spearman korrelációs teszttel összefüggést találtunk a logaritmikusan transzformált (log) MBL/CRP arány és az első fertőzés kialakulásának ideje között ($p=0,04$, és miután figyelembe vettük censoring variációként a fertőzés előfordulását,

$p=0,0001$), és a log CRP és a HSCT utáni első fertőzés ideje között ($p<0,05$). Az első fertőzés ideje nem korrelált az MBL szinttel sem és a log MBL értékkel sem ($p=0,35$). A log MBL és a log CRP közötti összefüggés majdnem szignifikáns ($p=0,052$), a log MBL és a log MBL/CRP arány közötti korreláció a vártak megfelelően szignifikáns volt ($p=0,001$).

A fertőzések előfordulása hasonló volt az MBL deficiens és MBL kompetens egyének között (2,429 [1,478-3,379] vs 2,248 [1,993-2,516] fertőzések epizód/beteg). A HSCT utáni fertőzések száma összefüggést mutatott a CRP értékkel és az MBL/CRP aránnyal, de nem korrelált szignifikánsan az MBL szinttel (Spearman korrelációs teszt, $r=0,37$, $-0,17$ és $0,07$; $p=0,02$ és $0,34$, respektíven). Mann-Whitney U-teszt nem mutatott szignifikáns kapcsolatot az MBL szint és a HSCT utáni első fertőzés előfordulása között ($p=0,37$), valamint az MBL szint és a HSCT utáni első 14 napban és a HSCT utáni első 100 napban kialakult infekciók száma között. A log MBL szint valamint a fertőzések előfordulása az első 14 napban, a HSCT utáni 100 napban és az ANC $>1,5$ G/L elérése előtti időszakban nem volt szignifikáns összefüggésben páratlan T-teszt alapján. De szignifikáns volt a kapcsolat a log CRP, log MBL/CRP arány valamint a HSCT utáni 14 napban, a HSCT utáni 100 napban és a neutrophil engaftment előtti időszakban az első fertőzés előfordulása között.

Az MBL cut-off értéke a HSCT utáni súlyos fertőzések előfordulását figyelembe véve, ROC görbe analízis szerint meghatározva 823 ng/ml. Az elvégzett ROC görbe analízis AUC értéke 0,51, p -értéke 0,815 volt. Az MBL cut-off szerint elkülönített két betegcsoport értékei Spearman korrelációs tesztel voltak összehasonlítva. A fertőzések száma ($p=0,0611$) és a HSCT utáni első fertőzés kialakulásának ideje ($p=0,0905$) közel szignifikánsan eltérő volt. A HSCT utáni fertőzések előfordulása ($p=0,0480$) és a HSCT utáni első év során a pre-engaftment időszakot követően (a 14-360. nap közötti időszakban) a fertőzések előfordulása ($p=0,0389$) szignifikánsan különböző volt az MBL cut-off érték szerint különválasztott betegcsoportok esetén.

Érdekes módon, az MBL szérumkoncentráció szignifikánsan nagyobb volt a vizsgálatban résztvevő malignus hematológiai betegek esetén összehasonlítva az

egészséges kontroll populációval (MBL medián, 1479 [380,8-2849] vs 1067 [253,5-2121], páratlan t-teszt, $p=0,005$, szignifikánsan különböző). Az abszolút MBL deficiencia előfordulása nem volt szignifikánsan különböző a hematológiai betegek és az egészséges kontrollok között (11,4% vs 13,9%). Az MBL deficiensek aránya a legnagyobb a HL betegek között volt. Az MBL koncentrációt összehasonlítottuk a kontroll populációban és a vizsgált betegek között diagnózis szerint csoportosítva (NHL, HL, MM). A medián MBL szint a legnagyobb az NHL betegek között volt. Az első fertőzés kialakulása a HL betegek között volt a legkorábbi.

A leggyakoribb fertőzések a HSCT után a légúti fertőzések és a nagy CRP értékkel, lázzal és súlyos fokú mucositisel járó infekciók voltak. A neutrophil engraftment ideje az MBL szinttel szignifikáns kapcsolatban áll az MM csoportban (Spearman korreláció, $p=0,024$). Jelentős összefüggés volt kimutatható a Thr engraftment ideje és az MBL/CRP arány között HL betegek esetén ($p=0,003$). Az összejszám és az engraftmentig eltelt idő jól korrelált ($p<0,001$). A Gram-pozitív és Gram-negatív baktérium típusok megoszlását elemeztük a betegek centrális véna kanüljéből vett mintáiban és vérmintáiban. A centrális véna kanülből vett minták pozitív eredményei ($n=25$) függenek a log MBL és MBL/CRP aránytól, de az összefüggésük nem volt szignifikáns (t-teszt, $p=0,23$ és $0,15$).

Vizsgáltuk a progresszió, HSCT utáni relapszus összefüggését a betegek MBL szintjével. A relapszus előfordulása és a log MBL vagy log MBL/CRP arány között nem volt szignifikáns összefüggés (t-teszt, $p=0,9$ és $0,76$). A vizsgált betegek között 23 betegnél tapasztaltunk relapszust a HSCT utáni első év során és másik 45 beteg esetén később. A relapszusig eltelt idő nem állt összefüggésben az MBL szinttel és az MBL/CRP aránnyal.

5.2. A HSCT során végzett haemostasis vizsgálatok és a HSCT utáni szövődményekkel kapcsolatos eredmények

A 104 beteg (55 nő és 49 férfi) hematológiai malignus betegségei a következőképp oszlottak meg: 34 NHL, 11 HL és 59 MM beteg. A vércsoportok megoszlása és a rutin laboratóriumi paraméterek (vérkép, vese- és májfunkció,

véralvadási értékek, CRP) szerint a lymphoma és MM csoport között statisztikai különbséget nem találtunk. A neutropenia és a súlyos thrombocytopenia időtartama hosszabb volt lymphoma esetén, mint MM-nél. A thrombocyta megtapadás eléréséhez több idő szükséges lymphoma esetén, mint myelománál, de a neutrophil engraftment eléréséhez szükséges idő egyforma volt a két csoportnál. Tíz lymphomás és öt MM beteg esetén alakult ki súlyosabb baktériumfertőzés, amely két lymphomás és egy myelomás beteg esetén halálos kimenetellel járt. Thrombotikus szövődmény nem igazolódott a betegeknél. Komplet vagy parciális remissziót sikerült elérni a HSCT utáni 100. napi állapotfelmérés alapján mindkét csoportnál, a megnagyobbodott nyirokcsomók teljesen vagy részlegesen eltűntek az összes lymphomás beteg esetén.

A Thr szám és az ADAMTS13 aktivitás csökkent, míg a VWF:Ag, VWF:CB és CRP szint nőtt HSCT-t követően. A kondicionálás előtt a VWF:Ag és VWF:CB értékek mediánjai a referencia intervallum felső határán voltak. Ezzel ellentétben, az AD13/VWF arány mediánja a referencia tartomány alsó határa alá csökkent. A Thr szám fokozatos csökkenése és a VWF valamint CRP érték emelkedése a kemoterápia első napjától kezdve megfigyelhető volt, és a HSCT utáni 100. napra minden érték visszatért a normál referencia tartományba. A VWF:CB aktivitás a VWF:Ag értékkel párhuzamosan nőtt, míg az arányuk (VWF:CB/Ag) állandó maradt mindvégig. Ezért a továbbiakban VWF-ként említve a VWF:Ag értékeket tárgyaljuk.

A változókat a kondicionálás előtti értékeikhez viszonyítva normalizáltuk, időbeli alakulásuk elemzéséhez. Lymphomás betegeknél a Thr szám a kiindulási érték 50%-ára csökkent a HSCT időpontjára, és a kritikus szint (20 G/l érték) alá csökkent a HSCT utáni 4-13. nap közötti időtartamban. MM-nél a Thr szám a HSCT-kor a kezdeti érték 80%-a volt és 6 nappal a HSCT után csökkent a kritikus szint alá.

A VWF fokozatosan nőtt és kétszeresére emelkedett a 11. napra mindkét betegcsoport esetén, míg az AD13/VWF arány a kezdeti érték 30-40%-ára csökkent ugyanebben az időszakban. A CRP érték 26-szorosára nőtt a HSCT-t követően az 5. napra a lymphomás betegcsoportban és 13-szorosára a 11. napra a MM csoportban, amely a kondicionálás CRP értékre gyakorolt hatását mutatja, mivel a kondicionálás

kezdeti napjáhozképest egyformán 12-13 nap telt el a legnagyobb CRP érték eléréséig mindkét csoport esetén.

A lymphomás és MM csoport összehasonlítása one-way ANOVA módszert követően Bonferroni korrekcióval történt. A Thr szám HSCT utáni csökkenése és a CRP érték emelkedése egymással párhuzamosan történt, és a változás szignifikánsan nagyobb volt a lymphoma csoportban, mint MM esetén. A VWF emelkedése és az AD13 aktivitás csökkenése egymáshoz hasonló mértékű volt a két csoport esetében.

A Thr szám, VWF, ADAMTS13 aktivitás és a CRP értékek időbeli alakulását egymással összehasonlítottuk, a különböző változók és a csontvelő regeneráció idején a remisszió státusz közötti összefüggések elemzéséhez, a kritikus sejtszámok és a remissziós státusz függvényében is. A korreláció szignifikáns, amikor a Pearson korrelációs koefficiens (r) $+0,4$ feletti vagy $-0,4$ alatti, és a q kisebb mint a küszöbérték P ($Q=5\%$), a Benjamini és Hochberg módszer alkalmazásával számolva. Multivariációs regressziós analíziseket végeztünk a folytonos változók különböző kombinációi között, de a legjobb eredményeket az univariábilis párok között észleltük. A VWF_{pre} negatív korrelációt mutatott a Thr_{100} ($R=-0,627$), Hgb_{100} ($R=-0,512$) értékekkel, és pozitív összefüggést a CRP_{100} ($R=0,497$) értékkel a lymphoma csoportnál. A VWF_{pre} a csontvelő regeneráció idején a remissziós státusszal is összefügg. Az ADAMTS13 aktivitásnak és ezeknek a változóknak az összefüggése nem volt szignifikáns. A Thr_{pre} és Fvs_{100} között találtunk kapcsolatot, de az ADAMTS13_{pre}, CRP_{pre} , és egyéb paraméterekkel nem találtunk. A MM csoportban, a Thr_{pre} szignifikáns összefüggést mutatott a Thr_{100} ($R=0,564$) és Fvs_{100} ($R=0,388$) értékekkel. A HSCT idején észlelt kisebb Thr szám összefüggésben állt hosszabb thrombocytopeniás időszakkal.

A változók közötti korreláció a HSCT-től az engraftmentig a kritikus sejtszámok esetén volt csak szignifikáns. Statisztikailag szignifikáns korreláció volt észlelhető a 11. napi Thr szám és a thrombocytopeniás időszak között az MM csoport esetén. A lymphoma csoportban, a 11. napi Thr szám összefügg a thrombocytopeniás időszak hosszával és a kritikus Thr szám elérési idejével. Az utóbbi összefüggést mutatott a neutropenia időszak hosszával és az ANC küszöbérték elérésének idejével.

A kritikus sejtszámok alakulása nem jelezte előre a csontvelő regeneráció idején a remissziós státuszt egyik csoportban sem.

A HSCT során beadott őssejtszám szignifikáns összefüggésben volt a thrombocytopeniás időszak időtartamával, a kritikus Thr szám eléréséhez szükséges idővel, és a megtapadás idején mért Thr számmal, mindkét betegcsoport esetén. Másrészt, nem találtunk szignifikáns összefüggést az őssejtszám és a neutropenia időtartama valamint a csontvelő regeneráció idején a remissziós státusz között.

A fertőzések előfordulásával egyik paraméter sem mutatott statisztikusan szignifikáns összefüggést. Szintén nem találtunk szignifikáns összefüggést a kondicionálás előtt mért májfunkció és a rutin véralvadási értékek valamint a HSCT-t követően vizsgált laborértékek illetve a csontvelő regeneráció idején észlelt státusz között.

6. Megbeszélés

6.1. A HSCT-t követő fertőzések szövődményekkel kapcsolatos megfigyeléseink megbeszélése

A HSCT-t követően a megtapadás folyamatát és a haemopoiesis helyreállítását betegől, betegségtől és kezeléstől függő változók befolyásolják. A megtapadás előtti időszakot a neutropenia, károsodások a muco-cutan barrieren és a beteg ellátásához szükséges invazív eszközök alkalmazása, míg a megtapadás utáni időszakot a nem megfelelően működő sejt-mediált immunitás jellemzi.

A komplement rendszer aktivációja a klasszikus, az alternatív és a lektin útvonalon keresztül történhet. Az MBL felismeri a sejtfelszíni szénhidrát mintázatot. Az ismétlődően jelentkező baktérium fertőzések és autoimmun betegségek gyakran kapcsolatban állnak komplement deficienciával. Az MBL szérumban lektin, a szénhidrát-kötő régiók lehetővé teszik a kapcsolatot a kórokozók felszínén lévő ismétlődő szacharidokkal, de ritkán kapcsolódnak emlősnél jelenlévő nagy mannóztartalmú struktúrákkal. Az MBL deficiencia a nem megfelelő szerkezetű, stabilitású multimer eredménye. Az MBL a Toll-like receptor (TLR) co-receptoraként is funkcionál, amely

képessé teszi a molekulát a veleszületett immunrendszer koordinálására és szinkronizálására. A működőképes MBL szérumszintje összefügg az MBL2 genotípussal, a promoterrégióban és a gén 1-es exonjában lévő polimorfizmusokkal.

Az irodalmi adatok szerint, az MBL deficiencia összefügg a fertőzésekkel szembeni fokozottabb fogékonysággal, főleg amikor a szerzett immunitás az optimális működésében gátolt (korai gyermekkorban vagy kemoterápiát követően). Szignifikáns összefüggés volt kimutatható a kisebb MBL koncentráció és a kemoterápiához kapcsolódó súlyos fertőzések között. Az MBL deficiensek esetén több súlyos fertőzés észlelhető és a HSCT után az első súlyos fertőzés korábban alakul ki, a nem MBL-deficiensekkel összehasonlítva. A kisebb MBL szint és a fertőzések közötti összefüggés független attól, hogy a betegek kapnak-e antibiotikum profilaxist illetve G-CSF-t.

Az MBL szint tartománya 5 és 5000 ng/ml közötti, <100 ng/ml esetén MBL deficiencia észlelhető. A szérum MBL koncentráció meglehetősen stabil, kismértékben növekszik akut fázis reakció során. A vizsgálatban résztvevő 186 beteg közül 21 egyén volt MBL deficiens. A HSCT utáni első fertőzés kialakulása nem függött össze szignifikánsan a log MBL értékkel, de jelentős összefüggés volt észlelhető a log MBL/CRP arány és a HSCT utáni első fertőzés ideje között. A HSCT utáni fertőzések száma az MBL/CRP aránnyal összefüggést mutatott, de az MBL szinttel nem korrelált. Az MBL szint és a fertőzések előfordulása, gyakorisága és ideje között nem találtunk szoros összefüggést. Ennek magyarázata lehet, hogy az MBL-indukált komplement aktivációt követő fokozott phagocitózishoz neutrophilok szükségesek, így a neutropeniás időszakban az MBL effektor funkciója súlyosan károsodott. ROC analízis alapján az MBL cut-off érték alapján különválasztott csoportok között a fertőzések száma és a HSCT utáni első fertőzés ideje közel szignifikánsan különböző volt. Az MBL cut-off érték szerint különválasztott csoportok között szignifikánsan különbözött a fertőzések előfordulása a HSCT utáni első év során a pre-engraftment időszakot követően. A HSCT utáni időszakban a súlyos fertőzések előfordulását figyelembe véve az MBL cut-off szintje 823 ng/ml volt. Az MBL szint szignifikánsan nagyobb volt a vizsgált betegek esetén az egészséges kontroll populációval összehasonlítva.

A fertőzések kemoterápia halasztáshoz, adagok csökkentéséhez vezethetnek, a terápia hatékonyságát ronthatják, és az összejek megtapadását is késleltethetik, így megelőzésük és időben elkezdett kezelésük nagyon fontos. Az MBL szint mérése hasznos lehet az antibiotikum terápia meghatározásában, MBL deficiencia esetén hamarabb elkezdett és erőteljesebb antimikrobiális kezelés lehet szükséges. A leggyakoribb fertőzések HSCT-t követően a légúti fertőzések és a nagy CRP értékkel, lázzal és súlyos mucosissal járó fertőzések. Az előforduló szepszisek többsége a centrális véna kanül bemeneti részének fertőzéséhez kapcsolódik. Legtöbbször Gram-pozitív baktériumok mutathatóak ki a betegek centrális véna kanüljéből és véréből vett kultúrából. A centrális véna kanülből származó minták pozitív eredményei valamint a log MBL és MBL/CRP arány között nem találtunk szignifikáns összefüggést. A fertőzéseket megfelelő, célzott antibiotikum terápiával kezeljük és néhány esetben a centrális véna kanül eltávolítása is szükségessé válhat. A vizsgált betegeknél a relapszus és a log MBL vagy log MBL/CRP érték között nem találtunk szignifikáns kapcsolatot.

Az orális mucositis grádua nem különbözött szignifikánsan az MBL deficiens és MBL kompetens betegek között. A mucositis a teljes tápcsatornát érintheti, irodalmi adatok szerint az MBL deficiens kevésbé képesek megakadályozni a baktériumok átjutását a bélből a keringésbe.

Az MBL2 genotípust nem határoztuk meg, mivel az ugyanazzal a genotípussal rendelkező egyéneknek az MBL szintjében 10-szeres különbség lehet. A szérumban MBL szint ELISA módszerrel történő mérése lehetővé teszi az *in vivo* MBL útvonal funkcionális aktivitásának megbízható mennyiségi követését. A vizsgálat idején a CRP szintet használtuk rendszeresen a fertőzések laboratóriumi monitorozására osztályunkon. A szepszis és súlyos fertőzések esetén a CRP mellett a prokalcitonin (PCT) szinttel történő monitorozás a későbbi években vált a klinikai gyakorlat részévé, és az MBL koncentráció meghatározása is javasolt lenne a fertőzésekre fogékonyabb betegek megfelelő antimikrobiális terápiajának tervezéséhez.

6.2. A HSCT-hez kapcsolódó endothelkárosodás és véralvadási szövődményekkel kapcsolatos megfigyeléseink megbeszélése

A HSCT előtti haemostasis paramétereknek, sejtes és szolubilis markereknek és a kondicionáló kezeléshez vagy a HSCT folyamatához kapcsolódó faktoroknak a HSCT-t követő thrombotikus szövődmények kialakulásával észlelhető összefüggése intenzív kutatási terület. A HSCT-t követő korai időszakban VOD, TMA vagy főként a centrális vénás kanülöknél előforduló vénás thrombosis sok közlemény témája. A kondicionáló kezelés, főként teljes test besugárzással együtt, endothel sérülést okozhat amely az endothelsejtek felszínét prokoagulánssá alakítja. A TMA a kiserekben az endothel sérülést okozó hatásokat követően fellépő szövetkárosodás eredményeként alakul ki. A TMA kiváltó tényezőiként vagy súlyosbításában a gyulladásos állapotban megváltozott kapilláris permeabilitás miatt a fertőzések és a komplement rendszer rendellenes működése is szerepet játszik. Azt is leírták, hogy a HSCT utáni nagyobb VWF antigén és aktivitás szereppel bír a nagyobb relatív áramlási sebességű mikrokerekben a VOD és mikrothrombotikus szövődmények kialakulásában.

A célunk a Thr szám, VWF szint, ADAMTS13 aktivitás, CRP érték és a remissziós státusz közötti összefüggések feltárása volt az autológ HSCT során, lymphomás és MM betegcsoportokat összehasonlítva, a kondicionálás kezdetétől a csontvelő regeneráció idejével bezárólag. Az eddigi közleményekhez képest munkánkban új a mért paraméterek elemzése csak autológ HSCT esetén, betegcsoportokra bontva.

A lymphoma és MM csoportok között a Thr szám, VWF és CRP időtől függő változásai közötti különbségek a neutropenia és thrombocytopenia időszak hosszának különbségéhez kapcsolódhatnak. A lymphoma csoportban hosszabb volt a neutropeniás időszak három nappal és a thrombocytopenia időszaka öt nappal, a másik csoporthoz képest. A neutrophil megtapadás eléréséhez szükséges idő a lymphoma csoportnál hasonló volt a Karolinska study eredményeihez. A Thr megtapadáshoz szükséges idő rövidebb volt a mi betegcsoportunkban, összehasonlítva Ungerstedt és munkatársai publikációjában szereplővel, de az ő tanulmányukban a kritikus Thr szám 50 G/l, transzfúzió nélkül.

A csontvelő regeneráció idején a Thr- és fehérvérsejtszámok a kondicionálás előtti Thr számmal összefüggnek a MM csoportban, míg a remisszió státusz nem mutatott kapcsolatot a vizsgált paraméterekkel. A kezeléselőtti Thr szám az őssejtgraft és a mikrokörnyezet minősége szempontjából meghatározó tényező. A kondicionálás következtében kialakuló jelentős fokú Thr szám csökkenés megerősíti a korábban közölt eredményeket.

Fontos megfigyelésünk, hogy a lymphomás betegeknél, a kondicionálás előtti VWF szint negatív korrelációt mutatott a csontvelő regeneráció idején mért Thr számmal és a hemoglobinszinttel, és pozitív összefüggést a CRP értékkel. A kondicionálás előtti VWF szint a remisszió státusszal is kapcsolatban állt. A VWF, a thrombocytá adhézió kofaktora, az endothelsejtek sérülésének jól ismert markere. A kondicionáláselőtt mért nagy VWF szint, amely a HSCT-t követően további növekedést mutat lymphoma és MM csoport esetén, korábban is megfigyelésre került és a diffúz endothelium károsodáshoz kapcsolódik. Ezek a tanulmányok a hematológiai malignus betegségek és a HSCT típusa szerint nem elemezték betegcsoportokra bontva az eredményeket.

Az endothelsejtek sérülését a kemoterápia, a súlyos mértékű thrombocytopenia, a cytopeniás időszakban kialakuló súlyos fertőzések és az intravénás kántülök alkalmazása együttesen okozzák. Az erek tónusának és áteresztő képességének szabályozása, a thrombocytá aktiváció, a véralvadási kaskád, thrombotikus és gyulladásos folyamatok és az erek képződése egymással összefüggő folyamatok, melyeknek következménye a thrombocytopenia és a VWF szintjének emelkedése, amelyek a HSCT-hez kapcsolódó véralvadási szövődményekhez vezethetnek. Az autológ HSCT során az ADAMTS13 aktivitás és a VWF szint változása közötti fordított korrelációt a kemoterápia toxicitásához kötődő endothelium károsodás magyarázhatja, a korábbi megfigyeléseket alátámasztva. A HSCT előtt az átlagos ADAMTS13 aktivitás normál tartományon belül volt, az első hetekben a kezdeti aktivitásnak kevesebb mint felére csökken. A HSCT utáni TMA nem áll összefüggésben súlyos ADAMTS13 deficienciával, a nagyobb VWF szint a diffúz endothel károsodással függ össze. Az ADAMTS13 aktivitás mérése nem szükséges a HSCT-t követő TMA esetén, mivel

nem mutat összefüggést a betegség kialakulásával, súlyosságával és a terápiára adott válasszal.

A VWF növekedés üteme hasonló volt a HSCT során a lymphoma és MM csoportban, míg a Thr szám csökkenése különböző kinetikájú volt. Az eredményeink indirekten mutatják, hogy a thrombocytákból származó VWF, amely a teljes VWF mennyiség kb. 25%-át jelenti a keringő vérben, a HSCT folyamata során nem járult hozzá a megváltozott plazma VWF szinthez, amely így a plazmában a VWF szint növekedés endothelsejt eredetét támasztja alá.

A MM betegek indukciós kezelése anti-angiogenetikus szereket is magában foglal, amelyek az endothelsejtek működését hosszútávon befolyásolhatják, így a VWF szintézist is. A transzplantációra készülő betegek esetén az indukciós kezeléssel remisszió állapotot igyekszünk elérni, és ebben a kedvező állapotban kezdjük el a HSCT-t, azonban ezek a korábban alkalmazott terápiák befolyásolhatják a kondicionálás kezdetén észlelt paramétereket. Az endothelium működési zavara, az angiogenesis és a thrombocyta működés egymással összefüggő folyamatok, tehát, a thrombocyták és a VWF termelődését valószínűsíthetően befolyásolja a specifikus csontvelői niche-k és a haemopoetikus őssejtek sejtvonalukhoz fűződő elkötelezettsége. A lymphomás és myeloma multiplex betegcsoport között észlelhető különbség miszerint lymphoma esetén a kondicionálás előtt mért VWF szint, myelománál pedig a kondicionálás előtti thrombocyta szám mutatott összefüggést a csontvelő regeneráció idején mérhető paraméterekkel, a diagnózisnak megfelelő, eltérő kondicionáló kezeléssel is magyarázható. Lymphománál BEAM és Z-BEAM, myeloma multiplex esetén pedig melphalan kondicionálást alkalmaztunk a vizsgálat idején. A lymphoma nagyon heterogén betegcsoport, főként a nyirokrendszer érintett, a csontvelőben is lehetnek daganatos sejtek. Myeloma multiplex esetén csontvelői érintettség jellemző. A két csoport között jelentős a különbség a csontvelői mikrokörnyezet, a citokinek és az immunmechanizmusok szabályozása között.

A fertőzések a leggyakoribb szövődmények, hasonlóan más eredményekhez, azonban ott az allogén és autológ HSCT-ben részesülő betegek nem voltak különválasztva. A VWF szint változás kinetikája a CRP alakulásával nem mutatott

összefüggést, a VWF növekedés nem kizárólag a kut fázis reakció eredménye, ráadásul a VWF féléletideje a CRP féléletidőtől rövidebb is. A CRP érték fokozatos növekedés után, a kondicionálás kezdetéhez képest 11 nappal később érte el legnagyobbat értékét mindkét csoportnál. Az eredmények a CRP növekedés és a kondicionáló terápia közötti kapcsolatot mutatják. A HSCT-t követő CRP változás üteme és a diagnózis szerinti csoportok között nem észleltünk összefüggést, korábbi megfigyelésekhez hasonlóan. A CRP-t a májsejtek termelik, a proinflammatorikus IL-6 citokin szabályozása alatt, amelyet az endothelsejtek érzékelnek endothelium működési zavar idején.

A HSCT során beadott nagyobb mennyiségű őssejtszám összefüggésben állt a thrombocytopeniás időszak rövidebb időtartamával és a kritikus Thr szám eléréséhez szükséges rövidebb idővel mindkét betegcsoport esetén. A megfigyeléseink megerősítik az őssejtek thrombocyta képződési sejt vonalhoz fűződő elköteleződését. Ajánlott az apheresis időszakának meghosszabbítása, hogy elérjük az optimális mennyiségű CD34+ őssejt/kg dózist a megfelelő ütemű thrombocyta megtapadás biztosításához. Ezzel szemben, sem a neutropenia idejét, sem a remisszió státuszt nem jelezte előre az őssejtszám a vizsgált betegcsoportok esetén. A HSCT során a megfelelő mennyiségű és minőségű őssejt beadására törekedni kell a megtapadási idő javításához és a fertőzőes szövődmények csökkentéséhez. A HSCT utáni túlélés a cytoereduktív terápia hatásai utáni felépülés ütemétől, az eredményes megtapadástól, a fertőzések és a thrombotikus szövődmények megelőzésétől és az a lapbetegség eradikációjának sikerességétől függ. A nem megfelelő májfunkció direkt hatással bír a bél integritására, lehetővé téve baktériumokból származó termékek átjutását a portális keringésbe, ahol gyulladásos folyamatot indíthatnak el. A károsodott májműködés a baktériumok nem megfelelő clearance-t eredményezi, a baktérium termékek és a citokinek prokoaguláns állapot kialakulásához vezethetnek.

A tanulmányunk limitáló tényezői voltak, hogy nem tudtunk elérni minden beteget a megfelelő időpontban, így a minták száma eltérő a különböző vizsgálati időpontokban, és HSCT utáni thrombotikus szövődményt nem tudtunk bizonyítani, habár májmegnagyobbodáshoz társuló hasi fájdalom, oedema, folyadékretenció miatti testsúly fokozódás előfordult, de ezeket az eseteket külön nem elemeztük.

7. Új megállapítások

Az autológ HSCT utáni első év során az első fertőzés kialakulásáig eltelt időtartam és a fertőzések száma nem különbözött az MBL deficiens valamint a normál/emelkedett MBL szintet mutató betegek között. A HSCT utáni fertőzések előfordulása és száma ugyanakkor az MBL/CRP aránnyal jól korrelált, így a fertőzéses szövődmények előrejelzésében lehet hasznos biomarker.

A HSCT utáni első évben a pre-engraftment időszakot követően a fertőzések előfordulása szignifikánsan különbözött az MBL 823 ng/ml-es cut-off értéke alapján, ezért a beavatkozás előtti, fertőzéstől mentes időszakban történő MBL szint meghatározás segítheti az antimikrobiális kezelés tervezését.

Autológ HSCT-t követően a lymphomás és myelomás betegcsoportban a vérlemezkék megtapadása emelkedett VWF szinttel, és egyidejűleg csökkent ADAMTS13 aktivitással járt együtt, ami jól követte a megtapadási folyamatot.

A lymphomás betegcsoportban a kondicionálás előtti VWF szint szignifikáns inverz összefüggést mutatott a csontvelő regeneráció idején mért thrombocyta számmal és hemoglobin koncentrációval, míg a 100. napon mért CRP-vel és a remisszió státusszal pozitív korrelációt jelzett. Ezzel szemben a myeloma multiplex csoportban a kondicionálás előtti thrombocyta szám a csontvelő regeneráció idején mérhető thrombocyta- és fehérvérsejt számmal mutatott szoros kapcsolatot.

8. Köszönetnyilvánítás

Elsősorban szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Kiss Attila Professzor Úrnak, hogy már ötödéves hallgató koromban, TDK munkám témavezetőjeként felkeltette érdeklődésem a haematológia és elsősorban az őssejttranszplantáció iránt, mely azóta is töretlenül megmaradt és tovább fokozódott. Köszönöm tanításait, kitartó támogatását és biztatását, érdeklődését az eddigi munkám és az elmúlt évek során.

Köszönöm szépen Illés Árpád Professzor Úrnak, hogy folyamatosan figyelemmel kíséri orvosi és tudományos tevékenységemet, és segítségére, tanácsaira mindig számíthatok.

Nagyon köszönöm Hársfalvi Jolán Tanárnő segítségét a laboratóriumi munka tervezésében és kivitelezésében, a statisztikai számítások végzésében, eredményeink összegzésében és a közlemény megírásában és javításában. Hálás vagyok a sok támogatásért amit a közös munkánk évei során kaptam, és hogy kitartó és lelkiismeretes munkára bízott mindvégig.

Köszönöm Udvardy Miklós Professzor Úrnak a tudományos munka megkezdésekor nyújtott iránymutatást és a további támogatást, és Papp Mária Professzornőnek a segítő tanácsait, ösztönzését és a tudományos tevékenység végzésének kiemelkedő példáját.

Köszönöm közleményeim társszerzőinek, munkatársaimnak és barátainak segítségüket és támogatásukat eddigi munkám során. Gergely Lajos Tanár úrtól és Szász Róbert adjunktus úrtól kapott támogatásért, haematológiával és HSCT-vel kapcsolatos tanításaiért, szakmai tanácsaikért különösen hálás vagyok, és köszönöm hogy mindig számíthatok a segítségükre. Köszönöm a Haematológiai Tanszéken és a Transzplantációs Részlegen dolgozó munkatársaimnak a mintavételekben nyújtott segítséget és a mindennapi támogatást.

Köszönöm a laboratóriumi tevékenységeim során Tömöri Jánosné Éva, Sándor Ágnes és Sinkovits György segítségét és tanítását. Szeretném megköszönni a statisztikai számításokban Hodosi Katalinnak és Karányi Zsoltinak a segítséget.

Hálásan köszönöm Családom minden tagjának, különösen Féjjemnek, Szüleimnek és testvéremnek a sok támogatást, bátorítást és segítséget, mellyel tanulmányaim, munkám és tudományos tevékenységem során mindig kitartanak mellettem, szeretnek és biztatnak.

9. Közlemények



Nyilvántartási szám: DEENK/496/2022.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Radnay Zita

Doktori Iskola: Laki Kálmán Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Radnay, Z.**, Illés, Á., Udvardy, M., Prohászka, Z., Sinkovits, G., Csányi, M. C., Kellermayer, M., Kiss, A., Hársfalvi, J.: Von Willebrand Factor and Platelet Levels before Conditioning Chemotherapy Indicate Bone Marrow Regeneration following Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation.
Transplantation and Cellular Therapy. 28 (12), 830.e1-830.e7, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtct.2022.08.028>
IF: 5.609 (2021)*
2. **Radnay, Z.**, Udvardy, M., Papp, M., Hársfalvi, J., Rejtő, L., Pál, I., Illés, Á., Kiss, A.: Evaluation of Mannose-Binding Lectin is a Useful Approach to Predict the Risk of Infectious Complications Following Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation.
Transplant. Proc. 48, 3397-3405, 2016.
IF: 0.908



* A folyóirat előzménye: *Biology of Blood and Marrow Transplantation* (ISSN 1083-8791), Impact Factor: 5,609 (2021).



További közlemények

3. Szász, R., **Radnay, Z.**, Telek, B., Molnár, S., Illés, Á.: Richter-transzformáció sikeres kezelése célzott hatásmechanizmusú szerekkel = Successful treatment of Richter syndrome with targeted drugs.
Hematol. Transzfuziol. 52 (3), 189-191, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/2068.2019.52.3.5>
4. Pál, I., Illés, Á., Gergely, L., Pál, T., **Radnay, Z.**, Szekanecz, Z., Zilahi, E., Váróczy, L.: The Impact of Drug Metabolism Gene Polymorphisms on Therapeutic Response and Survival in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Patients.
Isr. Med. Assoc. J. 20 (4), 217-221, 2018.
IF: 0.828
5. Pál, I., Zilahi, E., Illés, Á., Gergely, L., **Radnay, Z.**, Váróczy, L.: Gyógyszermetabolizmus-gének polimorfizmusának vizsgálata diffúz nagy B-sejtes lymphomás betegeinknél.
LAM. 24 (12), 577-583, 2014.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 7,345

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
6,517**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2022.12.13.

