

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**Prognosztikai faktorok és a kezelés során
fellépő mellékhatásokat befolyásoló tényezők
vizsgálata gyermekkori akut limfoid leukémiában
és oszteoszarkómában**



**Dr. Kovács Gábor
Semmelweis Egyetem
Általános Orvostudományi Kar
II. sz. Gyermekgyógyászati Klinika**

**Budapest
2017**

Tartalom

I. Bevezetés	4
II. Célkitűzések	5
III. Betegek	
III/1. Prognosztikai tényezők vizsgálata	6
III/2. A HD-MTX toxicitása és farmakokinetikája gyermekkori ALL-ben és OSC-ban	6
III/3. Farmakogenetikai vizsgálatok gyermekkori ALL-ben és OSC-ban	7
IV. Eredmények	
IV/1. Prognosztikai tényezők vizsgálata	9
IV/2. MTX farmakokinetikai és toxicitási vizsgálatok	10
IV/3. Farmakogenetikai vizsgálatok	13
V Összefoglalás	17
VI. A dolgozat legfontosabb (új) megállapításai	18
A disszertáció alapjául szolgáló angol nyelvű közlemények	21

I. Bevezetés

A gyermekkori malignitások túlélése ma már több mint 70 %, a haematológiai malignitásokban pedig 80-90 %. Ugyanakkor a mai intenzív kemoterápiás protolloknak számos korai és késői mellékhatása lehet, ami érintheti a gyógyultak szinte minden szervét. Természetesen ezek a potenciális mellékhatások érzékenyen befolyásolhatják az életminőséget, a társadalomba való visszailleszkedést. Az elmúlt évtizedben az új kemoterápiás protollok kidolgozásánál kiemelt szempont lett a protokoll toxicitása. Ma már nem csak a túlélési eredmények javítása, hanem a mellékhatások elkerülése és az életminőség is kiemelt szempontok.

A daganatos betegségek gyógyításának, túlélésének további javítására több út áll előttünk. Részben új, daganatspecifikus gyógyszerek, kezelési módok kifejlesztése, mint pl. a monoklonális ellenanyag kezelések ill. specifikus immunterápiák. A fejlődés másik lehetséges útja a kezelés **individualizálása** azáltal, hogy megkülönböztetjük azokat a betegeket, akik jobban tolerálják a nagy dózisú kemoterápiát azoktól, akiknél a szokványos adagok mellett is gyakrabban fordulnak elő toxikus tünetek.

A terápiás protollok egyénre szabásához szükséges az individuális toxicitási profilok meghatározása. A jelenlegi kutatások a gyermekgyógyászatban használatos különböző citosztatikus szerek farmakokinetikájának jobb megismerésével ill. a hatásmechanizmusban szerepet játszó gének polimorfizmusainak vizsgálatával (farmakogenetika) próbálják a terápiás protollokat hatékonyabbá tenni, és az egyénre szabott terápia lehetőségeit megteremteni.

Elsősorban azon génpolimorfizmusok meghatározására törekszünk, melyek előrevetítik a korai és késői szövődmények lehetőségét. Ezen polimorfizmusok ismeretében a maximális tolerálható dózis pontosabb becslésével el lehetne kerülni az életveszélyes akut mellékhatásokat, valamint a kemoterápia esetleges késői szövődményeit. Másrésztől meghatározhatók lennének azon betegcsoportok, amelyek a kemoterápiát jobban tolerálják, nagyobb dózist elviselnek és így a terápiájuk intenzifikálásával a túlélési esélyeik növelhetők.

Saját vizsgálatainkban a tudományos eredmények klinikai hasznosíthatóságára helyeztük a hangsúlyt. Új, klinikailag fontos prognosztikai faktorokat kerestünk akut limfoid leukémiában (ALL) és oszteosarkómában (OSC). Új módszereket igyekeztünk bevezetni a toxicitások kivédésére és kezelésére. Farmakokinetikai és farmakogenetikai vizsgálatainkkal pedig új információkat gyűjtöttünk a különböző kemoterápiás szerek toxicitására és azok megelőzésére, kezelésére vonatkozólag.

Mindezzel individualizált, kevésbé toxikus, ugyanakkor hatékony kezelési módokhoz, protokoll változtatásokhoz szerettük volna megteremteni az alapot, hogy a daganatos gyermekek gyógyulása mind tökéletesebb legyen és minél többen válhassanak a felnőtt társadalom teljes jogú tagjaivá.

II. Célkitűzések

Új prognosztikai faktorokat kerestünk gyermekkori ALL-ben és OSC-ban, melyekkel pontosabban megbecsülhetők a kezelési eredmények és a túlélés.

Különböző nagy-dózisú metotrexát (HD-MTX) kezelések toxicitását és farmakokinetikáját vizsgáltuk, összefüggéseket keresve a szérumszintek és a kezelések eredményessége és toxicitása között.

Farmakogenetikai vizsgálatokat is végeztünk gyermekkori ALL-ben és OSC-ban, azzal a céllal, hogy kapcsolatokat találjunk a különböző kemoterápiás szerek által okozott toxicitások és a potenciálisan ezek hátterében szerepet játszható gének polimorfizmusai valamint bizonyos genetikai eltérések és a kezelések eredményessége között.

A következő kérdésekre kerestük a választ:

1. Prognosztikai tényezők vizsgálata gyermekkori akut limfoid leukémiában és oszteosarkómában

a, Gyermekkori ALL-ben a 8., 15. és 33. terápiás napon mért abszolút (normál) limfocitaszám ill. az indukciós kezelések hossza mutat-e összefüggést a kezelés eredményességével, a túléléssel és a hagyományos, korszerű MRD (minimális maradék betegség) meghatározási módszerekkel (morfológia, flow citometria, PCR)?

b, Milyenek a túlélési eredmények és a prognosztikai markerek oszteosarkómában a magyarországi betegekben (retrospektív adatgyűjtés alapján)? Mutatnak-e összefüggést a különböző prognosztikai markerek, úgymint a betegség kiterjedése, az életkor, a nem, a műtét típusa, a lokalizáció, illetve a diagnózis ideje a kezelés eredményességével?

2. A MTX farmakokinetikája és toxicitása gyermekkori malignitásokban

a, Milyen mértékű a HD-MTX kezelések vesekárosító hatása különböző hidrálási protollok mellett?

b, Milyen szérumszintek érhetők el különböző adagú és típusú HD-MTX kezelések mellett a magyar betegpopulációban, ALL-ben?

c, Milyen farmakokinetikai paraméterek jellemzik a HD-MTX kezeléseket gyermekkori OSC-ban?

d, Milyen összefüggések tárhatók fel a különböző dózisú HD-MTX kezelések toxicitása és a szérumszintjei között gyermekkori ALL-ben és OSC-ban?

e, Vannak-e farmakokinetikai vagy toxicitási különbségek ugyanazon beteg ismételt HD-MTX kezelése során (ALL és OSC esetén)?

f, Milyen összefüggések találhatók a MTX gyógyszer szintek és a túlélés között OSC-ban?

3. Farmakogenetikai vizsgálatok gyermekkori akut limfoid leukémiában (ALL) és oszteosarkómában (OSC)

a, Van-e kapcsolat az antraciklinek kardiotoxicitásában potenciálisan szerepet játszó *ABCC1* gén polimorfizmusai és a kardiotoxicitás között?

b, Létezik-e asszociáció különböző membrántranszporter gének (*ABCB1*, *ABCG2*) egyes polimorfizmusai és az intenzív kemoterápiás kezelés alatti akut szövődmények (fertőzések, súlyos neutropénia, encefalopátia) között ALL-ben?

c, Hogyan befolyásolják az *ABCB1* és *ABCG2* gének polimorfizmusai a túlélést ALL-ben?
d, Van-e összefüggés bizonyos glukokortikoid receptor (GCR) génpolimorfizmusok (N363S, ER22/23EK, BCL1) és a szteroidok által okozott akut mellékhatások között ALL-ben.

e, Milyen összefüggések létezhetnek a fent említett *GCR* polimorfizmusok és a túlélés között?

f, Van-e kapcsolat a MTX metabolizmusában szerepet játszó gének (metabolikus enzimek, membrántranszporterek) egyes polimorfizmusainak a gyógyszer szintekre és a toxicitásra ALL-ben?

g, Van-e asszociáció OSC-ban a MTX metabolizmusában szerepet játszó gének bizonyos polimorfizmusainak a MTX farmakokinetikai paramétereire és toxicitására?

III. Betegek, módszerek

III/1. Prognosztikai tényezők vizsgálata

III/1/1. Prognosztikai tényezők vizsgálata gyermekkori ALL-ben

A 2002. december és 2011. június közötti időszakban összesen 133 gyermeket kezeltünk a Semmelweis Egyetem II. számú Gyermekgyógyászati Klinikáján ALLIC BFM 2002 protokoll szerint (47 lány, 85 fiú) (átlagéletkor $6,8 \pm 4,3$ év).

Lehetséges új prognosztikai markerként elemeztük a perifériás vérben az abszolút limfocitaszámot (ALC) a 8., 15. és 33. napon, és kiszámoltuk az indukciós kezelés hosszát.

III/1/2. Prognosztikai faktorok vizsgálata gyermekkori OSC-ban

A II.sz. Gyermekklinikán 1987 és 2006 között oszteosarkómával kezelt 122 beteg adatait elemeztük (átlagéletkor $13,8 \pm 3,6$ év). A betegek kezelése a COSS-86 illetve COSS-96 protokollok standard ága szerint történt.

Vizsgáltuk az általános (OS) és eseménymentes (EFS) túlélést, valamint a retrospektív adatfeldolgozás során elemeztük az adatokat a betegség kiterjedése, az életkor, a nem, a szövet-tan, a műtét típusa, a lokalizáció alapján, illetve a diagnózis ideje szerint.

III/2. A HD-MTX toxicitása és farmakokinetikája gyermekkori ALL-ben és OSC-ban

III/2/1. Betegek, módszerek – vesetoxicitási vizsgálat

Először egy 4 éves periódusban (1989-1992) összesen 39 beteg 97 MTX kezelésénél elemeztük a vesefunkciókat. Az első 2 évben 24 beteg (10 fiú és 14 lány, átlagéletkor $14,2 \pm 4,1$ év) 52 MTX kezelése során kevésbé intenzív hidrálást és alkalizálást alkalmaztunk: előhydrálást csak akkor végeztünk, ha a vizelet fajsúlya 1010 felett volt, ill. a kezelés utáni hidrálásban csak akkor alkalmaztunk vénás bikarbonátot, ha a vizelet pH 7 alá csökkent. Ebben a csoportban 10 oszteosarkómás, 9 ALL-s és 5 non-Hodgkin lymphomás (NHL) gyermek volt.

A második két évben minden beteg (11 fiú, 4 lány, átlagéletkor: $11,4 \pm 4,6$ év, összesen 45 MTX kezelés) intenzív elő- és utóhydrálást kapott ($3000 \text{ ml/m}^2/\text{nap}$) és a vizelet pH-tól

függetlenül folyamatos iv. bikarbonát kezelésben részesült ($120 \text{ mEq/m}^2/\text{nap}$). Ebben a csoportba 7 OSC és 8 ALL beteg került. A MTX adagja OSC esetében $12 \text{ g/m}^2/6$ óra, míg ALL és NHL esetében $5 \text{ g/m}^2/24$ óra volt.

Vizsgáltuk a kezelés előtt, alatt és után a szérum elektrolit, vese- és májfunkciós értékeket ill. MTX szinteket és 24 órás vizeletgyűjtések alapján számoltuk ki a különböző vesefunkciós paramétereket.

III/2/2. Betegek, módszerek – MTX farmakokinetika

A HD-MTX farmakokinetikai paramétereit összesen 153 ALL-s (diagnózis: 1998-2010) beteg összesen 583 HD-MTX kezelése során elemeztük. Az ALL-BFM 1995-ös és ALLIC 2002-es protokoll standard ága alapján $5 \text{ g/m}^2/24$ óra dózisú MTX kezelésre 65 gyermeknél (41 fiú és 24 lány) összesen 241 esetben került sor. A gyermekek átlagéletkora 7,2 év volt ($0,5-17,9$ év). Az ALLIC 2002-es protokoll kísérleti ágán 2 g/m^2 -es MTX kezelést 88 beteg kapott (50 fiú, 38 leány, átlagéletkoruk 6,1 év ($1,0-16,7$)) összesen 342 alkalommal.

Az OSC-s csoportban összesen 98 beteget tudtunk vizsgálni (765 MTX blokk). A betegek átlagéletkora $13,7 \pm 3,6$ év volt, és a betegek $12 \text{ g/m}^2/4-6$ óra adagban kapták a MTX-ot.

A szérum/likvor MTX és (7-OH-MTX)-szinteket nagy-nyomású folyadék kromatografiával (HPLC) (2006 előtti mérések), ill. enzim-immunoassay (EIA) módszerrel (2006 után) határoztuk meg. A betegekben a kezelés előtt és után (-1. nap - 1 hét) követtük a máj- és vesefunkciós értékeket, a szérum összfehérje és a vérkép változásait és az esetleges toxikus tüneteket, mellékhatásokat. Összefüggéseket kerestünk a farmakokinetikai paraméterek és a toxicitási tünetek, valamint a túlélés (csak OSC-ben) között.

III/3. Farmakogenetikai vizsgálatok gyermekkori ALL-ben és OSC-ban

Tekintettel arra, hogy a vizsgálatokat az elmúlt 20 évben, különböző betegpopulációkon és különböző módszerekkel és lehetőségekkel tudtuk csak vizsgálni, így a vizsgált kérdéskörökben a betegszám, időnként a kezelési protokoll, vagy a rendelkezésre álló módszer különböző volt.

III/3/1. Betegek, módszerek – antraciklin kardiotoxicitás ALL-ben

1990 és 2002 között 235 antraciklinnel kezelt ALL beteget (126 fiú, 109 leány) (átlagéletkor $5,7 \pm 3,7$ év) vontunk be a vizsgálatba. Az átlagos kapott antraciklin összdózis $218,4 \pm 44,1 \text{ mg/m}^2$ volt. Szív ultrahang (ECHO) vizsgálatokat végeztünk a diagnózis idején, a kemoterápiás kezelés befejezésekor (2 év), és az utolsó követéses vizsgálat alkalmával (átlag 6,4 évvel a kezelés befejezése után). Az *ABCC1* gén potenciálisan a kardiotoxicitás szempontjából szerepet játszó 9 SNP-jét vizsgáltuk.

Az *ABCC1* rs45511401 „single base extension” módszerrel SNaPshot Multiplex Kit és ABI 310 segítségével (Applied Biosystems), míg a többi *ABCC1* SNP-t GenomeLab SNPstream genotipizáló platformmal (Beckman Coulter) határoztuk meg.

III/3/2. Betegek, módszerek – immunszuppresszió, ALL

Ebben a tanulmányban 138 (72 fiú, 66 leány) ALL gyermeket (1-18 év, medián életkor 5,0 év) vontunk be, akiket az ALL BFM 95 kemoterápiás protokollok alacsony és közepes rizikójú ága szerint kezeltek a 8 hazai gyermek hemato-onkológiai centrum valamelyikében (dg. ideje: 1995-2003).

Összegyűjtöttük az antibiotikus (intenzív vénás, széles spektrumú kezelések) ill. antimikotikus kezelési napok számát az indukció során és a reindukciós fázisban, valamint értékeltük az intenzív kemoterápiás kezelés hosszát (halasztások idejét). A súlyos fertőzések esetén az intravénás kezelések hosszát vizsgáltuk a betegpopuláció medián értéke mentén (>18 nap) ill. a betegcsoport felső kvadránsa (leghosszabb, legsúlyosabb kezelések, >29 nap) alapján is. Megvizsgáltuk a súlyos (fvs<2 G/l) leukopéniás napok számát is a kezelések reindukciós szakaszában.

Az *ABCB1* 3435C>T, 2677G>T,A és 1236C>T genotípusát miniszekvenálással, multiplex „single base extension” módszerrel határoztuk meg, míg az *ABCB1* genotípusok detektálása ABI 310 Genetic Analyzer készülékkel történt.

Az *ABCG2* 34G>A és 421C>A genotípust Roche Light Cycler segítségével, olvadáspont analízissel, allél diszkriminációs rendszerrel határoztuk meg.

III/3/3. Betegek, módszerek – encefalopátia, ALL

A vizsgálat harmadik fázisában 275 ALL-s gyermek adatait analizáltuk (dg. ideje: 1991-2005) (medián életkor 4,2 év, 1-18 év). Ezen betegek az ALL BFM 90 és az ALL BFM 95 protokoll szerint kapták a kezelést.

Vizsgáltuk az intenzív kemoterápiás kezelés ideje alatt a központi idegrendszeri toxicitásokat: encefalopátia, görcs, eszméletvesztés, tudatzavar, bénulások. Elemeztük a különböző polimorfizmusok hatását külön-külön ill. csoportokban az idegrendszeri mellékhatásokra. Meghatároztuk az előbb feltüntetett (*ABCB1* és *ABCG2*) génpolimorfizmusokat (l. előbb).

III/3/4. Betegek, módszerek - *ABCB1* és *ABCG2* polimorfizmusok hatása az ALL túlélésére

A BFM ALL 90 és ALL 95 protokollal kezelt összesen 403 beteg esetén rendelkezünk genetikai adatokkal és klinikai (túlélés) eredményekkel. Az elemzést 2007-ben végeztük, átlagosan 6,5 év követési idő után.

III/3/5. Betegek, módszerek - GCR polimorfizmusok elemzése ALL-ben

Ebben a vizsgálatban 346 esetben (207 fiú, 139 leány) gyűjtöttünk DNS-t ALL-s betegekből, akik diagnózisa 1989 és 2004 közé esett (életkor 1-18 év). Ők a BFM ALL 90 és 95 protokoll szerint kapták a kezelésüket az ország különböző gyermekonkológiai központjaiban. A protokollban az indukcióban 3 hetes, 60 mg/m² prednizolon kezelés szerepel, míg a reindukciós fázisban (Prot. II.) 3 hetes dexametazon kezelés van (10 mg/m²).

Összegyűjtöttük a glukokortikoidok lehetséges mellékhatásaira vonatkozó toxicitási adatokat.

Allél-specifikus PCR segítségével analizáltuk a glucocorticoid receptor (GCR) N363S génpolimorfizmusát. Az ER22/23EK génpolimorfizmust olvadáspont analízissel határoztuk meg (Light Cycler). A BCL1-et RFLP-vel határoztuk meg. A polimorfizmus detektálására itt is allél specifikus PCR módszert használtunk.

III/3/6. Betegek, módszerek - MTX farmakogenetikai vizsgálatok ALL-ben

Összesen 118 betegről tudtunk DNS mintát gyűjteni (74 fiú, 44 leány, átlagéletkor 6,4 év), a MTX kezelések megegyeztek a korábban leírtakkal (n=463).

A toxicitás elemzéseknél (főleg hematológia, máj-, vesefunkciók) elsősorban a III./IV. toxicitási fokozatot vettük figyelembe. A kezelések utáni első hét legkiugróbb adatát használtuk az elemzéshez.

Az irodalom (GWAS) alapján 14 gént és 63 SNP-t választottunk ki, melyek kapcsolatban állhatnak az MTX metabolizmusával. A DNS izolálás hematológiai remisszióban levett perifériás vérmintákból történt, retrospektív mintagyűjtéssel. Az izoláláshoz a QIAmp DNA Blood Midi Kit-et (Qiagen, Hilden, Germany) használtuk. A genotipizálás Sequenom iPLEX Gold MassARRAY technológiával a kanadai (Montréal) McGill University and Genome Québec Innovation Centre-ben történt.

III/3/7. Betegek, módszerek - MTX farmakogenetikai vizsgálatok OSC-ban

A vizsgálatban 62 (32 fiú, 30 leány) oszteosarkómás gyermek (átlagéletkor 13,5 év) MTX kezelését (n=571) vettük alapul (a kezelési protokoll a korábbiakban leírtak megfelelő volt). Vizsgáltuk a hematológiai, máj- és vesetoxicitást a kezelés előtt és az azt követő 2 hétben.

A genetikai vizsgálatához 9 gén (*ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCC3*, *ABCC10*, *ABCG2*, *GGH*, *SLC19A1* és *SXR*) összesen 29 egy pontos nukleotid polimorfizmust tudtuk elemezni.

SLC19A1 80A>G polimorfizmus (rs1051266) és *GGH* -401C>T promoter-polimorfizmust perifériás vérből szeparált DNS-ből PCR-RFLP segítségével határoztuk meg.

Az *ABCC3* -211C>T (rs4793665) és *ABCC3*-211C>T vizsgálatához Real-Time PCR vizsgálatot végeztünk TaqMan módszerrel.

Az *ABCB1* polimorfizmusok, valamint az *ABCC2* (rs2273697) genotipizálása multiplex PCR-t követő multiplex miniszekvenálással, ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) készülékkel történt. Az *ABCG2* gén két polimorfizmusának vizsgálatához LightCycler PCR módszert használtunk. A régió amplifikálását célzó PCR reakciót követően olvadáspont-analízissel határoztuk meg a minták genotípusát. A többi polimorfizmus genotipizálása GenomeLab SNPstream rendszerrel (Beckman Coulter) történt.

IV. Eredmények, megbeszélés

IV/1. Prognosztikai tényezők vizsgálata

IV/1/1. Az ALC szerepe a kezelés különböző fázisaiban gyermekkori ALL-ben

A 33. napon mért ALC értékek (ALC33) szignifikáns összefüggéseket mutattak a betegek túlélésével. A 350 sejt/μl és 500 sejt/μl határértéket vizsgálva, azt találtuk, hogy a határértékeknél magasabb értékeket mutató gyermekek túlélése szignifikánsan jobbnak bizonyult (OS és EFS is; p<0,001).

Amennyiben határértéknek az 1000 sejt/μl-t vagy az 1500 sejt/μl-t tekintettük, akkor már nem kaptunk szignifikáns összefüggést. Multivariációs Cox analízissel is a 33. napi ALC a 350 sejt/μl-t határértéknek véve szignifikáns prognosztikai faktornak bizonyult.

A kapott eredmény különösen a 33. napon MRD negatív, az MR ágon kezelték és a 10 év felettiek esetében volt szignifikáns. Összefoglalva tehát, az ALC 33. napi értéke (cut-off 350-500/μl) a gyermekkori ALL kifejezett prognosztikai faktora, mely a korábban ismert és

a protokollok besorolásánál alkalmazott prognosztikai tényezőkhez (pl. életkor, genetika, terápiás válasz) hasonló erejű prediktív értékkel bír.

Megállapítottuk tovább, hogy az intenzív indukciós kezelés első 33 napjának ≥ 5 napos csúszása és az egész indukció (64 nap) ≥ 8 nap csúszása a HR betegek körében az OS-t szignifikánsan befolyásolta, vagyis a kevésbé intenzív kezelést kaptak (hosszabb indukciós szakasz) túlélése rosszabb volt.

IV/1/2. Prognosztikai tényezők vizsgálata gyermekkori OSC-ben

A túlélési adatok elemzése során betegeinkben az 5 éves OS 68 %, míg az EFS 61,5 % volt. Az áttét nélküli betegcsoportban a túlélés szignifikánsan jobb volt (OS 79 %, EFS 77 %), mint a korai vagy késői áttéteket mutató esetekben ($p=0,0002$). Azon betegek, akiknél a daganatot nem lehetett eltávolítani valamennyien meghaltak. Az eseménymentes túlélés amputáció esetében 57 %, végtagmegtartó műtét esetén 68 % volt ($p=nsz$).

A neoadjuváns kemoterápiára jól reagáló betegcsoport esetén az EFS 77 % volt, míg a rossz szul reagáló betegeké 50 % ($p=0,0182$).

A fiatalabb gyermekek gyógyulási eredményei szignifikánsan jobbak voltak. Az EFS a 14 év alattiakban 74,1 %, ugyanakkor a 14 évesnél idősebb gyermekek esetében 48,4 % ($p=0,0085$). A primer daganat kiindulási helye alapján azt találtuk, hogy a törzsi lokalizációjú tumoroknak rossz a prognózisa, az EFS 22,5 % ($p=0,01$). Az alsó vagy a felső végtagon elhelyezkedő tumorok esetében viszont nem volt különbség a túlélésben.

Nem találtunk szignifikáns különbséget a fiúk és a lányok túlélésében valamint a különböző szövettani altípusok tekintetében sem.

Saját adatainkat összefoglalva elmondhatjuk, hogy ma Magyarországon az oszteoszarkómás betegek kétharmada tartósan meggyógyítható intenzív kemoterápia és radikális műtét segítségével. Az esetek nagy részében az érintett végtag is megtartható, és így a betegek életminőségében jelentős javulást lehet elérni. Nagyon rossz azon betegek prognózisa, akiknél primeren tüdő metasztázis vagy multiplex csont áttét igazolható, illetve akiknél a radikális tumor eltávolítás nem kivitelezhető. Nincs szignifikáns különbség a túlélésben a nem, a szövettani altípus, a diagnózis felállításának ideje, az alkalmazott protokoll, illetve a műtét típusa szerint. Ugyanakkor a 14 év alatti, áttét nélküli, végtagi elhelyezkedésű OSC betegek túlélése eléri a 80%-ot.

IV/2. MTX farmakokinetikai és toxicitási vizsgálatok

IV/2/1. A HD-MTX vesetoxicitása különböző hidrálsási protokollok mellett

Az első, korai vesekárosodás vizsgálat során, HD-MTX kezelésnél a kevésbé intenzív hidrálsási ajánlás mellett (1. csoport) szignifikáns proteinuriát észleltünk a kezelés utáni 1. és 2. napon (fehérjeürítés a kezelés előtt: $0,12 \pm 0,03$ g/m²/nap ill. a kezelést követő 1. és 2. napon: $0,38 \pm 0,06$ és $0,39 \pm 0,11$ g/m²/nap). Az esetek 50 %-a (26/52) és 54 %-a (28/52) a kezelés utáni 1. és 2. napon $>0,2$ g/m²/nap emelkedést mutatott a fehérjeürítésben. A glomeruláris filtrációs ráta (GRF) átlaga nem változott a kezelés hatására, de a betegek 17 %-ában (9/52) a GFR >20 ml/min/1,73 m²-es csökkenése volt megfigyelhető. A Ca kiválasztás a betegek 43-48 %-ában emelkedett a MTX infúziók után. Az egyéb vizsgált tubuláris paraméterekben nem találtunk számottevő eltéréseket (nem közölt adatok).

Az intenzív hidráls és alkalizálás bevezetésével a MTX vesekárosító hatása jelentősen csökkent (2. csoport). A fehérjeürítés a kezelés előtt $0,03 \pm 0,02$ g/m²/nap, míg a kezelés utáni 1. és 2. napon: $0,05 \pm 0,03$ és $0,08 \pm 0,05$ g/m²/nap volt ($p<0,05$ 1. vs. 2. csoport). A betegek közel egyötödében (8/45) észleltünk csak szignifikáns proteinuriát a MTX kezelése után.

IV/2/2a. A MTX farmakokinetikája és toxicitása gyermekkori ALL-ben.

A MTX farmakokinetikai adatainak elemzésekor a gyógyszer eliminációja jelentős inter- és intraindividuális különbségeket mutatott. Ugyanakkor megállapítható volt, hogy a szérumban MTX és 7-OH-MTX szintek mindegyik vizsgált időpontban (24, 36, 48. óra) szignifikánsan magasabbak voltak az 5 g/m²/24 óra dózist (MTX5) kapott gyermekek HD-MTX kezelése során mint a 2 g/m²/24 óra adagot (MTX2) kaptak esetén.

Az alacsonyabb dózisu (2 g/m²) kezelések esetén a MTX szérumszintek nemcsak, hogy alacsonyabbak voltak, de a 24. órában mért értékek csak az esetek 32,3 %-ában érték el az optimális terápiás szintnek tekintett 30 μ mol/l koncentrációt, míg 5 g/m² esetén ez az arány 76,2 % volt ($p<0,0001$). A legalacsonyabb, 10 μ mol/l abszolút határt, amely még hatékonynak tekinthető a 24. órában, a 2 g/m² dózisu kezeléseket követően 9,9 %-ban, míg 5 g/m² esetén csak az esetek 1,67 %-ában nem lehetett elérni ($p=0,0007$). Ezzel szemben azonban az 5 g/m² dózisu kezelése 17,6 %-ában a MTX a 24. órában meghaladta a toxikus 100 μ mol/l értéket, míg ez az arány a 2 g/m² adagnál csupán 1,2 % volt ($p<0,0001$).

A 14 év feletti korosztályban magasabb volt a MTX szintje a szérumban a 24., 36., 48. órában, mint a 6 évnél fiatalabbakban. A különbség a 48. órában szignifikánsnak bizonyult 5 g/m² és 2 g/m² esetén is ($p=0,0013$ és $p=0,0021$).

Elhúzódó MTX eliminációt (48 órás MTX $> 0,5$ μ mol/l) az idősebbek 63 % ill. 21,7 %-ában (5 g ill. 2 g), míg a 6 év alattiak 31,2 %-ában ill. 7,6 %-ában tapasztaltunk ($p<0,05$).

A szérumszintekben tapasztalható különbségeknek megfelelően, szignifikáns különbséget találtunk a két különböző dózis esetén a 24. órában levett **likvor** MTX-szintekben ($p<0,0001$). A likvor MTX szintek mediánja 1,7 μ mol/l (95% CI: 1,41-2,09) volt az 5 g/m² adagnál és 0,62 μ mol/l (95% CI 0,59-0,88) a 2 g/m² adagnál, jelentős intra- és interperszonális különbségek mellett. A 24 órás szérumban és likvor MTX szintek között mindkét dózis mellett szignifikáns korreláció mutatkozott.

Ugyanakkor az intravénásan beadott HD-MTX központi idegrendszeri penetrációjának aránya nem különbözött a különböző MTX adagoknál. Ha a likvor MTX szinteket a szérumban szintekhez hasonlítottuk (szérumszint %-ában), akkor nem találtunk szignifikáns különbséget a két dózis között. A median érték 5 g/m² adagnál 0,023 (95% CI: 0,017-0,025) (vagyis 2,3 %), míg 2 g/m² esetén 0,028 (95% CI: 0,024-0,03) (vagyis 2,8 %) volt.

Toxicitás: Hematológiai toxicitásban nem volt különbség a két MTX dózis között a kezelése utáni első 2 napon. Ugyanakkor egy hét elteltével (kezelés 7. napja) szignifikánsan több GrIII/IV leukopénia fordult elő az 5 g/m² dózis esetén (57/155 eset 36,8 % vs 41/265 eset 15,5 %, $p<0,0001$). A Hb érték is magasabb volt egy hét elteltével a kisebb MTX dózis mellett ($112 \pm 14,1$ vs $99,6 \pm 17,0$ p $<0,05$).

Az esetek kb. felében a szérumban **összfehérje** értékek szignifikánsan lecsökkentek a MTX kezelést követő első vagy második napra (80/177 45,2 % 5 g/m² esetén és 189/283 66,8 % 2 g/m² esetén). Az átlagértékek 1 hét elteltével jórészt visszakérültek a normális tartó-

mányba, de az 5 g/m²-t kapott gyermekek esetében valamivel több esetben maradt meg a hipoproteinémia, mint a 2 g/m²-t kaptak között (14,8 vs 8,7 %) (p= nsz).

A kezelés utáni 1-7. napon az 5 g/m² dózisú kezelések esetén magasabb arányban alakult ki valamilyen **hepatotoxicitás** (GPT, GGT vagy sebi emelkedés) (22/178 eset 12,4 % vs 15/283 eset 5,3 %) (p=0,006). Az emelkedett májfunkciós érték a kezelés után 1 héttel is emelkedett volt mindkét csoportban, de itt a különbség már nem volt szignifikáns (17,6 % és 13,5 %).

A **vesefunkciós** érték (kreatinin) csak néhány esetben volt emelkedett, és nem volt különbség a különböző MTX adagot kaptak között.

A szérumszint MTX koncentráció és a hematológiai paraméterek vagy szérumszint kreatinin, összfehérje, bilirubin, GPT szintek között szignifikáns összefüggés nem állt fenn.

Ugyanakkor az 5 g/m² adag esetén a 24. órában mért 7-OH-MTX koncentráció és a szérumszint kreatinin szint emelkedés között szignifikáns összefüggés mutatkozott.

Hasonló módon 2 g/m² MTX adagnál, azon betegekben, akiknél a MTX kezelés utáni első héten (1-7. nap) valamilyen hepatotoxicitás (összesített adatok) alakult ki, a görbe alatti terület (AUCMTX) szignifikánsan emelkedettebb volt (p=0,005).

Megvizsgáltuk, hogyan változik ugyanazon gyermek MTX szérumszintje az **ismételten** kapott kezelések során. Az 1., 2., 3. és 4. kezelés után mért 24., 36., 48. órák MTX és 7-OH-MTX értékeit összehasonlítva azonban hasonló koncentrációkat mértünk az 5 g/m²-es és a 2 g/m²-es dózisok esetén is.

IV/2/2b. MTX farmakokinetikai vizsgálatok gyermekkori OSC-ban

A farmakokinetikai paraméterekben nem volt különbség a nemek, az életkor, a szövettani válasz és a metasztázis megléte szempontjából.

A magas rizikójú csoportban (HR) alacsonyabb volt a 48 órás görbe alatti terület (p=0,0018) és magasabb volt a MTX clearance (p=0,0001) a másik két rizikócsoporthoz képest.

Toxicitás: A kezelést követően a májfunkciós értékek szignifikánsan emelkedtek, a szérumszint összfehérje jelentősen csökkent a kezelés hatására (p<0,05). A vesefunkciós értékek átlagában nem következett be szignifikáns eltérés.

Azokban a betegekben, akikben az átlagos MTX csúcskoncentráció 1000 µmol/l felett volt, gyakoribb volt a III-IV fokú **májtoxicitás** (GPT), mint azokban a betegekben, akikben a csúcskoncentrációk átlaga nem érte el ezt az értéket (p=0,002).

Azokban a betegekben, akikben a GPT szintek átlaga a III. vagy IV. fokú toxicitási kategóriába esett, magasabb volt a MTX csúcskoncentráció (1183,8 µmol/l vs 999,1 µmol/l, p<0,0000001). Továbbá ezekben az esetekben jelentősen nagyobb volt a 48 órás koncentráció-idő görbe alatti terület (14425,2 µmol/l*h vs 12259,2 µmol/l*h, p<0,0000001), és kisebb a MTX clearance (medián 1,29 kg*1*h/ µmol vs 1,47 kg*1*h/ µmol, p<0,000005), mint az enyhén toxikus vagy normál májfunkciós értékek esetén.

A bilirubin-szintek esetében hasonló eredményeket kaptunk: a toxikus esetekben (grade I-IV.) szignifikánsan magasabb volt a csúcskoncentráció %-ában megadott 24 órák (p=0,026), a 48 órás MTX-szint (p=0,0007), a görbe alatti terület (p<0,00001), és a felezési idő (p=0,022), valamint alacsonyabb volt a MTX clearance, mint a nem toxikus esetekben (p=0,0001).

A **vesetoxicitást** vizsgálva az emelkedett szérumszint kreatinint (>100 µmol/l) értékeket mutató betegekben magasabb 24 órás MTX szinteket mértünk (3,74 µmol/l vs 2,2 µmol/l, p<0,0000001).

A **csontvelő toxicitás** előfordulása összefüggést mutatott a magasabb 24 órás MTX szintekkel (mielotoxikus betegcsoport átlaga: 2,4 µmol/l vs nem mielotoxikus betegcsoport átlaga: 2,1 µmol/l, p=0,0004) és a magasabb 48 órás MTX szérumszintekkel (mielotoxikus betegcsoport átlaga: 0,44 µmol/l vs nem mielotoxikus betegcsoport átlaga: 0,38 µmol/l, p=0,001). Az **ismételt** MTX kezelések során az a tendencia volt megfigyelhető, hogy a kezelés előrealadtával a májtoxicitás inkább csökkent, a III-IV.fokú toxikus esetek százalékos aránya csökkenő (de nem szignifikáns) tendenciát mutatott a blokkok előre haladtával. Ismétlődő kezeléseknél a vesetoxicitás a kezelés előre haladtával gyakoribb lett, azonban így is szinte minden blokkban 10% alatt maradt (p=nsz.).

Farmakokinetikai paraméterek és túlélés

A 24 órás és a 48 órás MTX szérumszint szignifikáns korrelációt mutatott az eseménymentes (p=0,0037 ill. p=0,047) és az általános túléléssel (p=0,02 ill. p=0,008) is. A nagyobb MTX koncentrációt mutató betegek túlélése volt jobb.

A MTX csúcskoncentráció ugyanakkor nem befolyásolta a túlélést (>1000 µmol/l vs <1000 µmol/l, p=0,06 EFS esetén és p=0,45 OS esetén).

A dózisintenzitás és az eseménymentes túlélés közötti összefüggés p-értéke éppen a szignifikanciahatáron volt (p=0,05), magasabb dózisintenzitás jobb EFS értékkel járt együtt, de OS tekintetében ez az összefüggés már nem állt fenn (p=0,217).

Összefoglalva, saját eredményeink alapján megállapítható, hogy magasabb MTX szérumszinteknél és elhúzódozó kiválasztásnál fokozott a máj-, csontvelő- (és vese-) toxicitás fellépésének a veszélye, de jobb a betegek gyógyulási aránya. Eredményeink alapján a MTX AUC meghatározása és a MTX egyéb farmakokinetikai paramétereinek figyelembe vétele fontos kiegészítője lehet az oszteosarkómás betegek rizikó besorolásánál.

IV/3. Farmakogenetikai vizsgálatok

IV/3/1. Cardiotoxicitás ALL-ben

A kemoterápia befejezése után mért utolsó követési időpontnál a szívUH vizsgálatnál az **ABCC1 rs246221 TC/TT** genotípusú betegeknek alacsonyabb volt a lineáris ejekciós frakció (linEF) értéke (38,4% és 38,5%), mint a CC genotípusúaknak (40,7%, p=0,027).

Az rs3743527TT genotípusú betegekben a kezelés befejezésekor mért pumpafunkció szignifikánsan alacsonyabb volt (34,0%), mint a CC (39,5%) és CT (39,3 %) genotípusú betegekben (p=0,001). Hasonló tendenciát figyeltünk meg az utolsó szívtultrahang mérés (a diagnózistól átlag 6,6 ± 2,7 év) alapján számolt FS értékeknél is. Az rs3743527TT genotípusú betegek utolsó követési időpontjánál mért FS 35,3%, a heterozigótáké 38,9%, a CC homozigótáké 38,7% volt, de ez a különbség nem volt szignifikáns.

Vizsgáltuk az előbb említett két SNP genotípus kombinációinak a hatását is. Összehasonlítottuk az rs3743527TT és rs246221TC vagy rs246221TT genotípusú egyének (TT-TC/TT 2. csoport) linEF értékét az összes többi genotípus-kombinációval (1. csoport). A diagnózis idején nem volt különbség a csoportok között. A kezelés befejezésekor viszont a TT-TC/TT genotípus-kombinációjú gyermekeknek szignifikánsan alacsonyabb volt az FS értékük (34,0%), mint a többieknek (39,4%) (p=0,001).

IV/3/2. Immunszuppresszív hatás ALL-ben

Az **ABCB1 3435TT** genotípust hordozók esetében az intenzív kemoterápia alatt több súlyos infekciós szövődmenyt észleltünk (TT: 67 % vs CC+CT: 46 % $p=0,035$) ill. az intenzív (hosszú antibiotikus kezelés, felső kvadráns) antibiotikus kezelést igénylő betegek száma nagyobb volt (TT: 44 % vs CC+CT: 21 % $p=0,009$).

A kemoterápiás kezeléseik hossza, vagyis a terápiás csúszások időtartama is nagyobb volt a TT genotípus esetén (200 ± 18 nap vs 212 ± 20 nap, $p=0,03$).

Az **ABCG2 421C>A** genotípus tekintetében nem volt különbség az immunszuppresszív hatásban.

IV/3/3. Enkefalopátia ALL-ben

ALL-es betegeink esetében az **ABCB1 transzporter 3435TT** genotípus csoportban nagyobb arányban fordult elő akut enkefalopátia (10,5 %), mint a 3435CC+CT hordozókban (4,2 %) (multivariáns analízis: OR=3,5; CI 95% 1,2-10,7; $p=0,03$).

Elkülöníthető volt egy veszélyeztetett betegcsoport, ha az **ABCB1 3435TT** genotípust kombinálva vizsgáltuk az **ABCG2 421AA/AC** genotípussal (27,8 % klinikai tünet vs 4,7 %) (multivariáns analízis: OR=10,0; CI 95% 2,5-40,0; $p=0,001$).

Mindezek alapján megállapítható, hogy bizonyos génpolimorfizmusok kombinációjával meghatározható egy olyan kis betegcsoport (**ABCB1 3435TT+ABCG2 421AA+AC**), ahol a toxikus komplikációk megjelenésének esélye különösen nagy.

IV/3/4. ABCB1 és ABCG2 génpolimorfizmusok és a gyermekkori ALL túlélése.

Az **ABCB1 3435T>C** genotípus csoportok eseménymentes túlélésében szignifikáns különbséget találtunk. A CC genotípust hordozók túlélése szignifikánsabb rosszabb volt a CT vagy TT csoportokhoz képest ($p=0,026$).

Nem találtunk szignifikáns különbséget a túlélés vonatkozásában az **ABCB1**-haplotípusok (TTT homozigóta vs egyéb) ill. az **ABCG2** genotípus csoportok között.

Eredményeinket összefoglalva megállapíthatjuk, hogy hasonlóan az irodalmi adatok többségével, az **ABCB1 3435T>C** és az **ABCG2 421C>A** polimorfizmusok valószínűleg funkcionális jelentőségűek. Mindezek alapján erősen felvetődik, hogy a jövőben az ABC polimorfizmusok (talán a leginkább az **ABCB1**) hasznosíthatók lesznek a kemoterápia individualizálására.

IV/3/5. Szteroid receptor polimorfizmusok szerepe a szteroidok hatásában és mellékhatásaiban gyermekkori ALL-ben

A **GCR N363S** esetében a ritka allélt hordozókban szignifikánsan több súlyos *májtoxicitást* észleltünk. A ritka allélt hordozókban 10/32 esetben, míg a többiekben 35/314 esetben lehe-tett Grade III/IV. hepatotoxicitást kimutatni (31,3 % vs 11,2 %, $p=0,004$, OR=3,6; CI-95%: 1,586-8,277).

Kóros *hiperglikémia* vagy glukózuria szintén gyakrabban fordult elő ritka allél esetén, 6/32 ill. 8/314 esetben (18,8 vs 3,8 %, $p=0,001$, OR=8,8, CI-95%: 2,847-27,372).

Nem találtunk korrelációt viszont az enkefalopátia (6,3 vs. 8,6 %, $p=1,0$), vagy a hipertonia (28,1 vs. 18,2 %, $p=0,171$) előfordulási gyakorisága és a vizsgált génpolimorfizmus között. Szintén nem volt összefüggés pancreatitis, szemészeti ill. csontelváltozások tekintetében.

A szteroid kezelés *terápiás hatását* vizsgálva azt találtuk, hogy a variáns allélt hordozókban minden esetben (32/32) jó terápiás választ kaptunk (perifériás blaszt szám <1 G/l), míg a vad allélt hordozókban csak 288/314 esetben (91,7%) ($p=nsz$).

A **363S/1220G** genotípussal rendelkezők körében az 5-éves eseménymentes túlélés szignifikánsan jobbnak mutatkozott ($p=0,012$) a nem hordozókhoz képest (5 év EFS 92 % vs 72 %). Hasonló értékeket kaptunk az általános túlélés tekintetében is (5 év OS 100 % vs 78 %, $p=0,013$).

Az **ER22/23EK polimorfizmust** és a **BCL1 polimorfizmust** vizsgálva nem találtunk szignifikáns összefüggéseket sem a különböző toxicitási paraméterekkel, sem a túléléssel.

Összefoglalásként megállapíthatjuk, hogy a **GCR N363S** polimorfizmus fennállása esetén szignifikánsan több szteroid toxicitással kell számolni, ugyanakkor a terápiás válasz jobbnak tűnik és így potenciálisan jobb túléléssel járhat együtt gyermekkori ALL-ben. Ezen összefüggéseket elsőként mutattuk ki az irodalomban.

IV/3/6. A MTX és a 7-OH-MTX szintek, valamint a toxicitási paraméterek összefüggései a genetikai változókall ALL-ben

A 2 g/m² MTX dózis esetén, az rs4948496 (**ARID5B**) szignifikáns összefüggést mutatott a MTX szérumszintekkel ($p=0,011$). A CC genotípus esetén magasabb MTX szérumszinteket mértünk, mint a CT vagy TT genotípus esetén. Ugyanebben a betegcsoportban, akik az rs4948496 CT+TT genotípussal rendelkeztek, az rs4149056 (**SLC01B1**) is szignifikáns összefüggést mutatott az MTX szintekkel ($p<0,001$). Az rs4149056 TT genotípus esetén alacsonyabb volt a szérum MTX szint, mint a CT+CC genotípust hordozókban.

Mindkét MTX dózis esetén az rs4948502 (**ARID5B**) szignifikáns összefüggést mutatott a 7-OH-MTX szintekkel is ($p=0,015$ és $p<0,001$). Az rs4948502 (**ARID5B**) mindkét dózis esetén szignifikáns összefüggést mutatott a görbe alatti területtel ($AUC_{7-OH-MTX}$) ($p<0,001$).

Összefoglalva, az irodalomban elsőként mutattuk ki, hogy az **ARID5B** gén polimorfizmusai közül kettő (**rs4948502**, **rs4948496**) szignifikáns összefüggést mutat a szérum MTX és 7-OH-MTX szintekkel.

Az 5 g/m² MTX-ot kapott betegekben szignifikáns összefüggés mutatkozott a kialakult *hepatotoxicitás* (emelkedett Sebi) és az rs7499 (**SLC19A1**, $p=0,003$) valamint az rs4948502 (**ARID5B**, $p=0,007$) között. Azokban az esetben ($n=13$), ha a beteg az rs7499 AA és az rs4948502 TT genotípussal rendelkezett, kórosan magas bilirubin szintet **nem** regisztráltunk. Az egyéb hepatotoxicitási paraméterek (GPT, γ GT) nem mutattak összefüggést a vizsgált változókall.

Eredményeink alapján tehát, elsőként írtuk le, hogy az **ARID5B** gén rs4948502 és az **SLC19A1** gén rs7499 polimorfizmusa korrelációt mutat a MTX kezelést követő májkárosodással.

A CART elemzés a nagyobb MTX dózis esetén szignifikáns összefüggést mutatott az rs4149183 (**SLC22A8**) és a 7. napon fellépő *nefrotoxicitás* (szérum kreatinin emelkedés) között. A CC genotípussal rendelkező betegekben szignifikánsan gyakrabban alakult ki nefrotoxicitás, mint a CT+TT genotípussal rendelkezőkben (25% vs 1%, $p=0,001$).

Az 1-7. napon fellépő *hipoproteinémia* (szérum összfehérje szint <60 g/dl) 14,8 %-ban (5 g/m²) és 8,7 %-ban (2 g/m²) fordult elő ($p=nsz$). Szignifikáns összefüggés mutatkozott a kisebb MTX dózist kapott csoportjában a 7. napon fellépő hipoproteinémia és az rs4948487

(*ARID5B*, $p=0,004$) valamint az rs1076991 (*MTHFD1*, $p<0,001$) között. Gyakrabban regisztráltunk hipoproteinémiát az rs4948487 AA genotípussal (24 % vs 4 %) és az rs1076991 GG genotípussal rendelkező (23 % vs 5 %) betegek esetén (2 g/m² MTX dózisok esetén).

IV/3/7. Farmakogenetikai vizsgálatok gyermekkori OSC-ban

A 48 órás szérumszint MTX értékei szignifikánsan alacsonyabbak voltak a *GGH-401 TT* genotípusú betegeknél, mint a C allélt hordozó beteg csoportban ($p=0,016$),

Az *SLC19A1 80G>A* polimorfizmusok és a 48 órás MTX szintek között nem találtunk szignifikáns különbséget ($p=0,53$).

A súlyos akut **májkárosodás** (Gr III-IV) előfordulása ritkább volt a *GGH-401TT* csoportban, mint a C allélt hordozókban ($p=0,00061$), és gyakoribb az *SLC19A1 80AA* homoizógóta betegeknél, mint a G allélt hordozóknál ($p=0,00245$). A különbség még kifejezettebb volt az *SLC19A1 80AA* és a *GGH-401CC/CT* kombinációja esetén ($p=0,00014$).

Eredményeink első csoportját **összefoglalva** megállapíthatjuk, hogy a *GGH-401TT* genotípusú betegeknél a MTX-eliminációja gyorsabb és a súlyos mellékhatások előfordulása ritkább, mint a *-401CC/CT* genotípust hordozóknál. Az *SLC19A1 80AA* genotípusú esetekben a súlyos mellékhatások előfordulása gyakoribb volt. A legkifejezettebb toxicitást az *SLC19A1 80AA* és a *GGH-401CC/CT* kombinációja mellett észleltük, vagyis azokban az esetekben, ahol a toxikus hatásokért felelős *SLC19A1 80A* allél van jelen és ugyanakkor hiányzik a *GGH-401TT* genotípus, mely csökkent toxicitással és bizonyos „védő” hatással hozható összefüggésbe. Mindezek alapján az *SLC19A1*-nek a MTX kinetika kezdeti fázisában lehet szerepe, míg a *GGH*-nak az ún. celluláris eliminációs fázisban.

Bayes-i elemzés során egyváltozós **BMLA** módszerrel elemeztük, hogy a 29 SNP milyen hatással van a farmakokinetikai tényezőkre és a toxicitásra (a posztteriori valószínűség).

A MTX **csúcskoncentrációt** nagy valószínűséggel befolyásolja az *ABCB1* rs9282564 (0,7), az *ABCC3* rs4793665 (0,6), *SXR* rs3814058 (0,58). A **görbe alatti területet** befolyásolhatja az *ABCB1* rs9282564 (0,47), *ABCC3* rs4793665 (0,31), *GGH* rs3758149 (0,45) és az *SXR* rs3814058 (0,38). A **májkárosodásra** az *ABCC1* rs246219 (0,6), míg a **csontvelő károsodására** az *ABCC2* rs717620 (0,56) polimorfizmus bír hatással.

A **több célváltozós BMLA** elemzésünkben a célváltozóhalmaz (MTX farmakokinetikai és toxicitási adatok) összes lehetséges kapcsolatrendszer és a magyarázó változók (életkor, nem, dózis, infúzió hossza és a 29 SNP) minden lehetséges kapcsolatrendszer mellett megvizsgáltuk, hogy mely változók relevánsak a célváltozók szempontjából.

Az *ABCB1* rs928256 (0,6) SNP, melynek az egyváltozós elemzésben is kimutatható hatása volt a görbe alatti területre és a csúcskoncentrációra, a több célváltozós elemzésben is befolyásoló tényezőnek mutatkozott ezen paraméterekre. További hatásként kimutattuk az *ABCC3* rs4793665 (0,48) és a *GGH* rs3758149 (0,41) variánsok hatását a görbe alatti területre (hasonlóan az egyváltozós elemzésben kapott adatokhoz). Hatásosnak találtuk még az *SXR* rs3814058 (0,44) SNP-t, mely egyváltozós BMLA módszerrel a farmakokinetikai adatokkal, míg egyváltozós asszociációs módszerrel pedig a toxicitás megjelenésével mutatott összefüggést.

V. Összefoglalás és eredményeink klinikai hasznosítása

Vizsgálatainkban feltérképeztük hazai ALL-s betegeknél a korábban már ismert és lehetséges új prognosztikai faktorok szerepét. Az intenzív kezelés végén (33. nap) mért abszolút limfocitaszám (ALC) egy potenciális új prognosztikai faktor, mely egyszerűen megjósolhatja a betegség kimenetelét.

Az intenzív kemoterápiás kezelés hossza (a kezelés intenzitása) is fontos lehet bizonyos betegcsoportokban, bár az egyértelmű következtetések levonásához még további adatgyűjtés szükséges.

Az OSC túlélésének javítása szempontjából döntő jelentősége van a korai diagnózisnak, mert ezzel lehet a primeren metasztatikus esetek számát csökkenteni (mely esetek túlélése lényegesen rosszabb). Eredményeink alapján a korszerű végtagmegtartó ortopédiai műtétek legalább olyan hatékonyak, mint a korábbi végtag amputációk. Továbbá megfigyeltük, hogy az OSC-s betegek diagnóziskori életkorát is figyelembe lehetne venni az oszteosarkómás betegek rizikó besorolásánál (a fiatalabb gyermekeknek jobb a prognózisa).

Kutatásaink alapján a gyermekkori kemoterápiás kezelések hatékonysága és veszélyei, toxicitása vonatkozásában is sok fontos, új információt nyertünk.

Új információkat szereztünk a MTX farmakokinetikájáról, kiemelve pl. a bomlástermék 7-OH MTX fontos szerepét.

Különböző statisztikai módszereket felhasználva új összefüggéseket tártunk fel a kemoterápiás kezelése alatt fellépő mellékhatások hátterében álló bizonyos genetikai tényezőkkel kapcsolatban és új asszociációkat írtunk le a MTX különböző farmakokinetikai paraméterei és az ezek hátterében potenciálisan szerepet játszó farmakogenetikai eltérések között gyermekkori akut limfoblasztos leukémiában és oszteosarkómában.

Eredményeink alapján a gyermekek kezelésében több változtatást is bevezettünk.

Rendszeresen vizsgáljuk ALL-ben az intenzív kezelés során az abszolút limfocita számot, mint a kezelés hatékonyságának egy potenciális új markerét.

Minden gyermek ma már intenzív hidrált és alkalizált nagy-adagú MTX kezelés során, hogy a potenciális vesefunkció károsodást megelőzzük.

Amennyiben a szérumszint összeférje szint szignifikánsan alacsony a HD-MTX kezelést követően és a betegben a szérumszint MTX szintek a toxikus tartományban vannak, akkor humanalbumin infúzióval csökkentjük a toxicitást és segítjük elő a MTX ürülést.

Javasoltuk a 7-OH-MTX szintek rutinszerű meghatározását is MTX kezeléseket követően. A likvorszint MTX szintek meghatározása céljából az intratekális MTX kezelést az infúzió 24. órájában adjuk be rendszeresen, hogy az iv. kezeléssel elért likvorszinteket meg tudjuk határozni.

Vizsgálati eredményeink és az irodalmi adatok alapján nem egyértelműen eldönthető, hogy bizonyos diagnózisok esetén milyen adagú és formájú MTX kezelés az ideális. Ennek eldöntésére, ALL betegeknél, több ezer fős multinacionális vizsgálat indult az optimális MTX adag kiválasztására. A vizsgálat tervezésében és irányításában Magyarország döntő szerepet játszik (BFM ALLIC 2009).

Egységes, országos ajánlást állítottunk össze a különböző gyermekkori daganatos betegségekből gyógyultak hosszú távú követésére. Meghatároztuk az elvégzendő vizsgálatok milyenségét és gyakoriságát.

Jelenleg folyik – egy nemzetközi együttműködés keretein belül – a kemoterápiás kezelések akut toxicitásának monitorizálására és ellátására szolgáló ajánlások elkészítése ALL-ben.

A génpolimorfizmus vizsgálataink alapján találtunk olyan betegeket, betegcsoportokat, akikben bizonyos szövődmények, mellékhatások gyakrabban fordulnak elő. A pontosabb genetikai háttér további, részletesebb feltárással előre megelőzhetők lehetnének a súlyos, akár életveszélyes mellékhatások és tovább javíthatók a gyógyítási esélyek. A farmakokinetikai ismeretek szélesítésével pedig az optimális adagolási módokat lehetne meghatározni, mellyel a gyermekek a legnagyobb hatékonysággal és a legkevesebb szövődménnyel kezelhetők. A génpolimorfizmus vizsgálatokat fokozatosan beillesztjük a leukémiás betegek protokolljába (az anyagi és technikai lehetőségeknek megfelelően).

VI. A dolgozat legfontosabb (új) megállapításai

1. Prognosztikai faktorok gyermekkori ALL-ben és OSC-ban

a/1, A legújabb nemzetközi adatoknak megfelelően megerősítettük, hogy gyermekkori ALL-ben a 33. napon mért abszolút limfocita szám egy új és szignifikáns prognosztikai faktor lehet, különösen MR és HR betegeknél. Saját eredményeink alapján a 350 sejt/μl és az 500 sejt/μl feletti ALC értékek voltak a jobb túléléssel szignifikánsan összefüggésbe hozhatók.

a/2, Az egyéb prognosztikai faktorokat vizsgálva kiemelendő, hogy a kezdeti kemoterápiás kezelési protokollban, főleg az indukciós terápiában bekövetkező több mint 5 napos csúszás szignifikánsan rosszabb általános túléléssel járt együtt HR betegeknél.

b/1, Saját adataink alapján kimutattuk, hogy a gyermekkori OSC-ban a magyar túlélési eredmények megegyeznek a legjobb nemzetközi adatokkal, és a végtagmegtartó műtétek eredményei nem különböznek a korábbi amputációk eredményeitől.

b/2, A nemzetközi irodalomban található ellentmondásos eredmények mellett, mi azt találtuk, hogy OSC-ban a fiatalabb (<14 év) gyermekek túlélése jobb, mint az idősebbeké.

2. MTX farmakokinetika és toxicitás

a, Bebizonyítottuk, hogy intenzív hidrállással és alkalizálással a HD-MTX kezelések vesetoxicitása csökkenthető OSC-ban és hematológiai malignitásokban egyaránt.

b/1, ALL-ben az 5 g/m² MTX dózisokkal lényegesen magasabb szérumszinteket lehetett elérni mint 2 g/m² adagnál és nagyobb arányban lehet elérni az optimálisnak gondolt gyógyszer szinteket, valamivel több toxicitás mellett.

b/2, A központi idegrendszerbe, ALL-ben, az alkalmazott dózistól független arányban jut be a MTX (kb. 2,5-3 %), és a nagyobb gyógyszeradaggal megbízhatóbban és nagyobb arányban lehet elérni a liquorban a citotoxikusnak vélt 1 μmol/l szintet.

c, OSC-ban a magas rizikójú csoportban (HR) alacsonyabb a 48 órás görbe alatti terület és magasabb a MTX clearance a másik két rizikócsoporthoz képest.

d, Kimutattuk, hogy a MTX bomlásterméke, a 7-OH-MTX szérumszintje (görbe alatti terület) jobb korrelációt mutat ALL-ben és OSC-ban a különböző toxicitási (máj, vese) paraméterekkel, mint a MTX önmagában, így hasznos mutatója lehet a toxicitásnak.

e, Megállapítottuk, hogy a sorozatos MTX kezelések nem jelentenek fokozódó veszélyt a toxicitás szempontjából, hiszen a farmakokinetikai paraméterek és mellékhatások nem különböztek szignifikánsan az ismételt kezelések során (ALL-ben és OSC-ban egyaránt).

f, OSC-ban kimutattuk, hogy magasabb MTX szérumszintek esetén, bár nagyobb a toxicitás kockázata, jobb a túlélés. A görbe alatti terület nagysága és a MTX clearance is összefüggést mutatott a túléléssel.

3. Farmakogenetika

a, Az *ABCC1* gén egyes polimorfizmusai szignifikáns összefüggést mutattak az antraciklinek által okozott kardiotoxicitással ALL-ben. Elsőként írtuk le, hogy az rs246221 T allél jelenléte esetén a betegek késői kardiotoxicitásra vonatkozó rizikója nagyobb (alacsonyabb linEF értékek). Továbbá, a kemoterápiás kezelés (és a potenciális kardiotoxikus gyógyszerek) befejezése után az rs3743527TT genotípusú betegek pumpafunkciója (linEF) szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a CC és CT genotípusú betegeké. A két potenciálisan kardiotoxicitásra hajlamosító SNP kombinált vizsgálata esetén meghatározható volt egy olyan kis betegcsoport, akinek a szívkárosodásra való hajlama a legnagyobb és a bal kamra funkciója a legalacsonyabb volt a kezelés végeztével a többi beteghez képest (rs3743527TT - rs246221TC/TT genotípus).

b, ALL-es betegeknél a vizsgált membrántranszporterek (MRD1, BCRP) közül az *ABCB1* 3435TT és/vagy 1236TT-2677TT-3435TT kombinációk esetén több súlyos fertőzés fordult elő, több volt a felhasznált antibiotikumok aránya és az intenzív kezelés hosszabb ideig tartott.

- Szignifikánsan több súlyos **enkefalopátia** fordult elő az ALL intenzív kemoterápiás kezelése alatt az *ABCB1* 3435 TT genotípus esetén. Ezen kívül meghatároztunk egy kis betegcsoportot (*ABCB1* 3435TT és *ABCG2* 421AA/CA genotípusúak), akik rendkívül veszélyeztetettek ezen adverz reakciókra.

c, Az *ABCB1* 3435T>C polimorfizmusánál a CC genotípust hordozók eseménymentes túlélése szignifikánsan rosszabb volt.

d, A „vad” típushoz képest az *N363S GCR* polimorfizmust hordozó betegeknél szignifikánsan több **szteroid** toxicitást (pl. máj, cukoranyagcsere és többszörös toxicitások), ugyanakkor jobb szteroid választ találtunk gyermekkori ALL betegeknél. Ugyanakkor az ER22/23EK és a *BCL1* polimorfizmusai esetén, ugyanezekkel a paraméterekkel, szignifikáns eltéréseket nem találtunk.

e, Az *ABCB1* 3435T>C polimorfizmuson belül a CC genotípust hordozók eseménymentes túlélése rosszabb volt gyermekkori ALL-ben (a CT vagy TT csoportokhoz képest). Az *N363S GCR* polimorfizmust hordozó betegeknél szignifikánsan jobb általános és eseménymentes túlélést találtunk a vad típust hordozókhoz képest szintén gyermekkori ALL-ben.

f/1, Elsőként igazoltuk, hogy az *ARID5B* gén egyes polimorfizmusai (rs4948502, rs4948496) összefüggést mutatnak a szérumszint MTX és 7-OH-MTX szintekkel gyermekkori ALL-ben.

f/2, Az *SLCO1B1* rs4149056 polimorfizmusa szerepet játszhat a MTX ürülésében és szignifikánsan befolyásolni képes a szérumszint MTX szinteket.

f/3, A MTX kezelése után megfigyelhető különböző toxicitásokkal (máj, vese, csontve-

lő, hipoproteinémia) összefüggésben, új, eddig kevésbé vizsgált SNP-k lehetséges szerepét tártuk fel, az *SLC19A1* (rs7499), az *SLC22A8* (rs4149183), az *MTR* (rs3768142), a *MTHFD1* (rs1076991) és az *ARID5B* (rs4948487) gének esetén ALL-ben.

g/1, OSC-ban a *GGH* -401 C>T polimorfizmusa összefüggést mutatott a szérumszintekkel és a hepatotoxicitással. A *GGH* -401TT genotípus esetén a MTX kiürülése gyorsabb és a mellékhatások előfordulása ritkább.

g/2, Szintén OSC-ban az *SLC19A1* 80AA genotípusú betegcsoportban a súlyos májkárosodás előfordulása gyakoribb volt, és ez az összefüggés még kifejezettebb azon betegekben, akikben nincs jelen a *GGH* -401TT genotípus.

g/3, Többféle statisztikai módszert, köztük Bayes-i elemzést használva, vizsgáltuk 12 gén 29 releváns polimorfizmusát szintén OSC-ban. A nemzetközi irodalomban elsőként összefüggéseket találtunk a **MTX farmakokinetikai paramétereit, valamint a következő SNP-k között: *ABCB1* rs928256, *ABCC3* rs4793665, *GGH* rs3758149, *SXR* rs3814058. A ritka allél varánsok befolyásolták a MTX AUC-t ill. csúcskoncentrációt (általában magasabb szérumszintekkel voltak kapcsolhatók). A vizsgált máj- és csontvelői **toxicitás** bizonyos SNP-k mellett kifejezettebb volt (*ABCC1* rs246219, *ABCC2* rs717620, *ABCC2* rs2273697), míg másoknál kisebb mértékű (*SXR* rs3732361, rs3814058, rs6785049) a „vad” allélt hordozókhoz képest.**

A disszertáció alapjául szolgáló angol nyelvű közlemények

1. **Kovacs GT**, Erlaky H, Tóth K, Horváth E, Szabolcs J, Csóka M, Jókúti L, Erdélyi D, Müller J: Subacute cardiotoxicity caused by anthracycline therapy in children: can dexrazoxane prevent this effect?
Eur J Pediatr 16: 1187-8, 2006. **IF: 1,277**
2. Erdélyi DJ, Kamory E, Zalka A, Semsei AF, Csokay B, Andrikovics H, Tordai A, Borgulya G, Magyarosy E, Galantai I, Fekete G, Falus A, Szalai C, **Kovacs GT**: The role of ABC-transporter gene polymorphisms in chemotherapy induced immunosuppression, a retrospective study in childhood acute lymphoblastic leukaemia.
Cell Immunol 244: 121-4, 2006 **IF: 1,709**
3. Erdélyi DJ, Kamory, Csokay B, Andrikovics H, Tordai A, Kiss C, Felne-Semsei A, Janszky L, Zalka A, Fekete Gy, Falus A, **Kovacs GT**, Szalai C: Synergistic interaction of ABCB1 and ABCG2 polymorphisms predicts the prevalence of toxic encephalopathy during anticancer chemotherapy.
Pharmacogenomics J, 8: 321-7, 2008 **IF: 5,435**
4. Hegyi M, Semsei ÁF, Jakab Zs, Antal I, Kiss J, Szendrői M, Csóka M, **Kovács G**: Good prognosis of localised osteosarcoma in young patients treated with limb-salvage surgery and chemotherapy.
Ped Blood Cancer, 57: 415-22, 2011 **IF: 1,891**
5. Semsei A, Erdélyi DJ, Ungvari I, Csagoly E, Hegyi M, Kiszél PS, Lautner-Csorba O, Szabolcs J, Masat P, Fekete Gy, Falus A, Szalai Cs, **Kovacs GT**: ABCC1 polymorphism in anthracycline induced cardiotoxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia.
Cell Biol Int 36: 79-86, 2012 **IF: 1,64**
6. Hegyi M, Gulácsi Á, Csagoly E, Csordás K, Eipel O, Erdélyi DJ, Müller J, Nemes K, Lautner-Cs O, **Kovács GT**: Clinical relations of methotrexate pharmacokinetics in the treatment for pediatric osteosarcoma.
J Cancer Res Clin Oncol, 138: 1697-1702, 2012 **IF: 2,914**
7. Eipel O, Németh K, Török D, Csordás K, Hegyi M, Ponyi A, Ferenczy A, Erdélyi DJ, Csóka M, **Kovács GT**: The glucocorticoid receptor gene polymorphism N363S predispose to more severe toxic side effects during pediatric acute lymphoblastic leukemia (ALL) therapy.
Int J Hematol, 97: 216-22, 2013 **IF: 1,681**
8. Csordas K, Hegyi M, Eipel O, Muller J, Erdélyi DJ, **Kovacs GT**: Comparison of pharmacokinetics and toxicity after high-dose methotrexate treatments in children with acute lymphoblastic leukemia.
Anticancer Drugs, 2013, 24(2): 189-97 **IF: 2,232**
9. Lautner-Cs O, Gézsi A, Erdélyi DJ, Hullám G, Antal P, F-Semsei Á, Kutszegi N, **Kovács G**, Falus A, Szalai Cs: Roles of genetic polymorphisms in the folate pathway in childhood acute lymphoblastic leukemia evaluated by Bayesian relevance and effect size analysis.
PLoS One 8(8): e69843, 2013 **IF: 3,73**

10. Csordas K, Lautner-Csorba O, F. Semsei A, Harnos A, Hegyi M, Erdelyi DJ, Eipel OT, Szalai Cs, **Kovács GT**: Association of novel genetic variations in the folate-related and ARID5B genes with the pharmacokinetic and toxicity of high-dose methotrexate in paediatric acute lymphoblastic leukaemia. Br J Hematol 166: 410-420, 2013 **IF: 4,942**
11. Eipel O, Hegyi M, Csordás K, Németh K, Semsei Á, Luczay A, Török D, Csoka M, Erdélyi D, **Kovács G**: Some GCR polymorphisms (N363S, ER22/23EK and BCL1) may influence steroid-induced toxicities and survival rate in children with ALL. J Pediatr Hematol Oncol, 38(5): 334-340, 2016 **IF: 0,48**
12. Sági JC, Kutszegi N, Kelemen A, Fodor LE, Gézsi A, **Kovács GT**, Erdélyi DJ, Szalai Cs, F. Semsei Á: Pharmacogenetics of anthracyclines. Pharmacogenomics, 17(9): 1075-87, 2016 **IF: 2,71**
13. Hegyi M, Arany A, F. Semsei A, Csordas K, Eipel O, Gezsi A, Kutszegi N, Csoka M, Muller J, Erdelyi DJ, Antal P, Szalai Cs, **Kovács GT**: Pharmacogenetic analysis of high-dose methotrexate treatment in children with osteosarcoma. Oncotarget, 2017 (publishing e-head) **IF:5,008**
14. Farkas T, Müller J, Erdélyi DJ, Csoka M, **Kovács GT**: Absolute lymphocyte count (ALC) after induction treatment predicts survival of pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. Pathol Oncol Res DOI 10.1007/s12253-017-0192-8, 2017 **IF:1,94**

A disszertáció alapjául szolgáló magyar nyelvű közlemények

1. Erlaky H, Tóth K, Szabolcs J, Horváth E, Kemény V, Müller J, Csoka M, Jókúti L, Erdélyi D, **Kovács G**: Az antraciklinek kardiotoxikus hatásának kivédése gyermekekben. Magyar Onkológia, 50: 25-32, 2006
2. **Kovács G**: Újdonságok a hematológiában. Orvostudomány, 82: 82-3, 2007
3. **Kovács G**: Az individualizált kezelés lehetőségei a (gyermek)hematológiában. Hematológia Transzfúziológia, 40 (suppl 1): 7-8, 2007
4. **Kovács G**, Erdélyi D, Csoka M, Müller J, Szalai Cs, Fekete Gy: Az egyénre szabott kezelés lehetőségei a hematológiában/onkolológiában. Gyermekgyógyászat, 59: 143-17, 2008
5. **Kovács G**: Új irányvonalak a gyermekhematológiában. Orvostudomány, 85(2): 91-92, 2010
6. Csordás K, Eipel O, Hegyi M, Csoka M, Pap É, **Kovács G**: Nagy dózisú methotrexatkezelések farmakokinetikai vizsgálata gyermekkori hematológiai malignitásokban. Orvosi hetilap 152(40): 1609-17, 2011
7. Hegyi M, Félné Semsei Á, Jakab Zs, Antal I, Kiss J, Szendrői M, Csoka M, **Kovács G**: Az osteosarcoma kezelésének eredményei gyermekkorban – hazai adatok. Magyar Onkológia 56: 30-37, 2012

8. Semsei Á, Lautner-Cs O, Kunszegi N, Schermann G, Eipel O, Falus A, Szalai Cs, **Kovács G**, Erdélyi D: A gyermekkori akut limfoid leukémia farmakogenetikája egy gyógyszer-mellékhatás példáján. Magyar Tudomány 2012/6: 90-7, 2012
9. Erdélyi D, Müller J, **Kovács G**: Minimális reziduális betegség – egy fontos új fogalom. Gyermekgyógyászat 64: 221-223, 2013
10. **Kovács G**: Gyermekkori akut leukémiák. Gyermekgyógyászati Továbbképző Szemle, 18: 153-155, 2013
11. **Kovács G**, Müller J, Erdélyi D, Csoka M: Malignus hematológiai betegségek tünettana és kezelése gyermekkorban. Magyar Orvos 6-7: 26-31, 2014

Egyéb, a témához kapcsolódó angol nyelvű publikációk

1. Haltrich I, Müller J, Szabó J, **G Kovács**, R Koós, A Poros, M Dobos, Gy Fekete, Donor-cell myelodysplastic syndrome developing 13 years after marrow grafting for aplastic anemia. Cancer Gen Cytogen 142(2): 124-128, 2003 **IF: 1,542**
2. Müller J, Garami M, Constantin T, Schmidt M, Fekete Gy, **Kovács G**: Meropenem in the treatment of febrile neutropenic children. Pediatr Hematol Oncol 22: 277-84, 2005 **IF: 0,532**
3. Haltrich I, Kost-Alimova M, **Kovács G**, Klein G, Fekete G, Imreh S: Multipoint interphase FISH analysis of chromosome 3 abnormalities in 28 childhood AML patients. Eur J Haematol, 76: 124-33, 2006 **IF: 1,863**
4. Haltrich I, Kost-Alimova M, **Kovács G**, Krivan G, Tamaska J, Klein G, Fekete G, Imreh S: Jumping translocation of 17q11-qter and 3q25-q28 duplication in a variant Philadelphia t(9;14;22)(q34;q32;q11) in a childhood chronic myelogenous leukemia. Cancer Genetics and Cytogenetics, 164: 74-80, 2006 **IF: 1,544**
5. Constantin T, Ponyi A, Varga E, Dankó K, Fekete Gy, **Kovács G**: Antiphospholipid syndrome accompanied by a silent splenic infarct in a patient with juvenile SLE (letter). Rheumatol Int 26: 951-2, 2006 **IF: 1,070**
6. Müller J, Garami M, Hauser P, Schuler D, Csoka M, **Kovács G**, Rényi I, Marosi A, Galántai I, Békési A, Kajtár P, Kiss Cs, Nagy K, Bartyik K, Masáth P, Kriván G: Hungarian experience with Langerhans cell histiocytosis in childhood. Pediatr Hematol Oncol, 23: 135-42, 2006 **IF: 0,529**
7. Haltrich I, Kost-Alimova M, **Kovács G**, Dobos M, Klein G, Fekete Gy, Imreh S: Multipoint interphase FISH in childhood T-acute lymphoblastic leukemia detects subpopulations that carry different chromosome 3 aberrations. Cancer Genetics Cytogenetics, 172: 54-60, 2007 **IF: 1,559**

8. Rényi I, Bárdi E, Udvardi E, **Kovács G**, Bartyik K, Kajtár P, Masát P, Nagy K, Galántai I, Kiss Cs: Prevention and treatment of hyperuricemia with rasburicase in children with leukemia and non-Hodgkin lymphoma.
Pathol Oncol Res, 13: 57-62, 2007 **IF: 1,272**
9. Erlaky H, Müller J, Csoka M, Karadi Z, **Kovacs G**: Treatment of invasive aspergillosis with voriconazole in a patient with acute myeloid leukaemia.
Hemat Trans 40: 263-5, 2007
10. Katona G, Csákányi Zs, **Kovács G**: Precursor B-cell lymphoblastic lymphoma presenting as a malignant ear tumour in a five-month-old child.
Int J Pediatr Otorhinolaryngol. Extra, 3(2): 85-89, 2008 **IF: 0,85**
11. Müller J, Csoka M, Jakab Zs, Ponyi A, Erlaky H, Garami M, **Kovacs G**: Treatment of pediatric non-Hodgkin lymphoma in Hungary: 15 years experience with NHL-BFM90 and 95 protocols.
Pediatric Blood Cancer 50: 633-5, 2008 **IF: 2,394**
12. Semsei ÁF, Erdelyi ED, Ungvári I, Kámory E, Csókay B, Andrikovics H, Tordai A, Cságoly E, Falus A, Kovács GT, Szalai Cs: Association of some rare haplotypes and genotype combinations in the MDR1 gene with childhood acute lymphoblastic leukemia.
Leuk Res, 32: 1214-20, 2008 **IF: 2,39**
13. **Kovacs GT**, Barany O, Schlick B, Gado J, Nemeth J, Ponyi A, Müller J, Csoka M, Hauser P, Erdelyi D: Late immune recovery in children treated for malignant diseases.
Pathol Oncol Res 14: 391-97, 2008 **IF: 1,26**
14. Müller J, Kralovanszky J, Adleff V, Pap É, Németh K, Komlósi V, **Kovacs G**: Toxic encephalopathy and delayed MTX clearance after high-dose Methotrexate therapy in a child homozygous for the MTHFR C677T polymorphism.
Anticancer Res 28: 3051-54, 2008 **IF: 1,39**
15. Müller J, Illés Á, Molnár Zs, Rosta A, Váróczy L, **Kovács G**: Adolescent Hodgkin lymphoma: Are treatment results more favorable with pediatric than with adult regimens?
J Pediatr Hematol Oncol, 33: 60-3, 2011 **IF: 1,159**
16. Pállinger É, Horváth Zs, Csoka M, **Kovács GT**, Csaba G: Decreased hormone content of immune cells in children during acute lymphocytic leukemia (ALL) – effect of treatment.
Acta Microbiol Immunol Hun, 58: 41-50, 2011 **IF: 0,787**
17. Lautner–Cs O, Gézsi A, Semsei Á, Erdélyi DJ, Antal P, Schermann G, Kutszegi N, Csordas K, Hegyi M, **Kovács G**, Falus A, Szalai Cs: Candidate gene association study in pediatric acute lymphoblastic leukemia evaluated by Bayesian network based Bayesian multilevel analysis of relevance.
BMC Med Genomics, 5: 42, DOI: 10.1186/1755-8794-5-42, 2012 **IF: 3,466**
18. Haltrich I, Csoka M, **Kovacs G**, Török D, Alpar D, Ottoffy G, Fekete Gy: Six cases of rare gene amplifications and multiple copy of fusion gene in childhood acute lymphoblastic leukemia.
Pathol Oncol Res, 19: 123-8, 2013 **IF: 1,555**

19. Nemes K, Sebestyén A, Márk Á, Hajdu M, Kenessey I, Sticz T, Nagy E, Barna G, Váradi Zs, **Kovács G**, Kopper L, Csoka M: Mammalian target of rapamycin (mTOR) activity dependent phospho-protein expression in childhood acute lymphoblastic leukemia.
PloS One, 8(4): e59335, DOI: 10.1371, 2013 **IF: 3,73**
20. Zombori L, **Kovacs G**, Csoka M, Derfalvi B: Rheumatic symptoms in childhood leukemia and lymphoma -a ten-year retrospective study.
Ped Rheumat, 11: 20-25, 2013 **IF: 1,469**
21. Bárdi E, Csoka M, Garai I, Szegedi I, Müller J, Györke T, Kajáry K, Nemes K, Kiss Cs, **Kovács G**: Value of FDG-PET/CT examinations in different cancers of children, focusing on lymphomas.
Path Oncol Res, 20: 139-43, 2014 **IF: 1,555**
22. Pállinger É, **Kovács G**, Horváth Zs, Müller J, Csaba Gy: Changes in the hormone (ACTH, insulin, epinephrine) content of immune cells in children having acute lymphocytic leukemia (ALL).
Acta Microbiol Immunol Hun, 60: 423-31, 2013 **IF: 0,646**
23. Stary J, Zimmerman M, Campbell M.....**Kovacs G**.....Schrappe M: Intensive chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia: Results of the randomized intercontinental trial ALL IC-BFM 2002.
J Clin Oncol 32:174-184, 2014 **IF: 18,038**
24. Ottoffy G, Horvath P, Muth L, Solyom A, Garami M, **Kovacs G**, Nyári T, Molnár D, Pauler G, Jankovics I: Immunogenicity of a 2009 pandemic influenza virus A H1N1 vaccine, administered simultaneously with the seasonal influenza vaccine in children receiving chemotherapy.
Pediatr Blood Cancer, 61: 1013-6, **IF: (2,353)**
25. Gézsi A, Csorba-Lautner O, Erdélyi DJ, Hullám G, Antal P, Kutszegi N, Hegyi M, Csordás K, **Kovács G**, Szalai C: In interaction with gender a common CYP3A4 polymorphism may influence the survival rate of chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia.
Pharmacogenom J, 15: 241-7, 2015
26. Kutszegi N, Semsei AF, Gezsi A, Sagi JC, Nagy V, Csordas K, Jakab Z, Lautner-Csorba O, Gabor KM, **Kovacs GT**, Erdelyi DJ, Szalai C: Subgroups of Paediatric Acute Lymphoblastic Leukaemia Might Differ Significantly in Genetic Predisposition to Asparaginase Hypersensitivity.
PLOS ONE 10:(10) p. e0140136, 2015 **IF: 3,57**
27. **Kovács G**, Wachtel AE, Basharova EV, Spinelli T, Nicolas P, Kabickova E: Palonosetron versus ondansetron for prevention of chemotherapy-induced nausea and vomiting in paediatric patients with cancer receiving moderately or highly emetogenic chemotherapy: a randomised, phase 3, double-blind, double-dummy, non-inferiority study.
Lancet Oncology 17(3): 332-44, 2016 **IF: 26,509**

Tudománymetriai adatok

Folyóiratcikk: **127**
 szakcikk, nemzetközi folyóiratban, idegen nyelvű: **57**

IF: **154,395**
 IF 2000- : 134,525
 első szerző: 10 IF: 41,122
 utolsó szerző: 20 IF: 39,042
 Közlemény, magyar nyelvű: 68
 első szerző: 17
 utolsó szerző: 31
 Konferenciaközlemény: 2
 További tudományos művek: 14
 Könyvrészlet: 30
 felsőoktatási tankönyvfejezet: 14
 magyar nyelvű: 16
 Idézett absztraktok: 8
 Absztrakt, Poszter, Előadás: 359
 Hirsch index: **17**
 g index: 26
 Idézettség száma:
 Összes: **814**
 Független: 694

Első szerzős folyóiratcikkek száma:	28	Összes hivatkozás:	142
Utolsó szerzős tudományos cikkek száma:	52	Összes hivatkozás:	196

Az utolsó tudományos fokozat elnyerése utáni teljes tudományos folyóiratcikkek száma:	47	Összes hivatkozás:	247
Az utolsó 10 év (2007-2017) tudományos teljes, lektorált folyóiratcikkeinek száma:	79	Összes hivatkozás:	371
A legmagasabb idézettségű közlemény idézettsége (az összes idézettség százalékában) :	73	Összes hivatkozás:	8,97 %-a

MTMT-ben rögzített összes adatrekordok száma: 534
 MTMT-ben rögzített idézők összesen, minden típus, minden jelleg:
 Független: 740
 Összes: 883

