



Válaszok Prof. Dr. Kappelmayer János opponensi véleményére

Mindenek előtt nagy megtiszteltetésnek tartom és köszönöm, hogy a Professzor Úr elvállalta munkám bírálatát és nagy alaposággal, hozzáértéssel elemezte és nagyon pozitívan értékelte.

Külön köszönöm, hogy kiemelte a hazai és a nemzetközi tudományos életben való részvételemet, szerepemet. Nagyra értékelte a dolgozat és a tudományos kérdésfelvetések napi klinikai jelentőségét.

Kérdéseire, megjegyzéseire a következő válaszokat adom.

1. Az értekezés felépítésére vonatkozó megjegyzések.

Válasz:

A bevezetés valóban kicsit hosszúra sikerült, de a szerteágazó vizsgálatok miatt szerettem volna minden felmerült témáról legalább néhány mondatot írni. Azokat a molekula és transzporter csoportokat is a próbáltam bemutatni, ahol csak részben végeztünk vizsgálatokat, mert így éreztem teljesnek az összefoglalót.

Az ábrák idézésénél törekedtem arra, hogy a legutolsó megjelenést idézzem, valamint sok ábrát közösen készítettünk el PhD hallgatóimmal, így azokra más forrást nem lehetett idézni. A saját munkacsoportunkban elkészült ábrák mindegyikét nem szerettem volna újra szerkeszteni, viszont korrektnek úgy éreztem, hogy a fiatalok munkáit is idézzem!

A célkitűzések talán valóban nagyon részletesek és sokrétűek. Természetesen a több évtizedes munka során, az eredmények és a tovább gondolkodás tükrében, felvetődtek új és új problémák. Kezdetben valóban kevesebb célkitűzésünk volt, de a menet közben felvetődő kérdéseket is célszerűnek láttam feltüntetni. A megértést is talán jobban segíti, ha részletesek és egyértelműek a fejezetek.

A 8. táblázatban a három megadott időpont (15., 33. nap, ProtM előtt) a jelenleg alkalmazott BFM protokollok kitüntetett, klinikai jelentőséggel bíró pontjai. Jelenleg mi a rizikó besoroláshoz a 15. és a 33. napi MRD értékeket használjuk. Ugyanakkor a BFM más protokolljaiban (amiket a jövőben esetleg mi is használni fogunk) a 78. napi MRD

szintén jelentőséggel bír. A ProtM előtti MRD érték ezt az időpontot jeleníti meg (mi nem követtük pontosan a 78. napot, hanem a csontvelő regenerációjának időpontjában végeztük el a csontvelő vizsgálatot). Amennyiben a jövőben ezen időpont is kulcsfontosságú lesz a besorolás szempontjából, akkor felvetődik, hogy pontosan a 78. napon végezzük el ezt a vizsgálatot (jelenleg még nem így történt).

Igyekeztem mindenhol 3 tizedesjegyre megadni a p-értékeket, ha ez esetleg nem mindenhol sikerült, akkor elnézést érte.

Valóban elkerülte a figyelmemet, hogy a 48-52 ábrákon belül a számozásra került kis boxokra nem utaltam külön a szövegben. Remélem, így is érthetőek és követhetőek voltak az eredmények.

Törekedtem természetesen az egységes szövegszerkesztésre végig a dolgozat során, sajnos, ezek szerint 3 alfejezetben a sorkiegyenlítés nem volt egységes.

2. A MTX monitorizálására vonatkozó kérdések.

Válasz:

A MTX kezdeti megoszlási térfogata a vérben és az interstitiumban történő megoszlásra utal.

A biohasznosulás a per os adagolás mellett értendő, hiszen a MTX jól felszívódik a vérben és per os is hatékonyan alkalmazható.

A gyógyszer szint meghatározások valóban nem olcsók, nem laboratóriumi szakember révén nem voltam teljesen tisztában az árakkal. Az ECLIA módszer valóban hasznosabb a klinikai gyakorlatban, elnézést, ha nem fogalmaztam pontosan.

Amikor a MTX mérések HPLC-vel történtek, akkor a gyógyszer szintek levétele a reggeli, délelőtti órákban történt, és kb. délután 5-6 körül volt eredmény. Vagyis összesen kb. 6 órát vett igénybe a meghatározás, és még aznap megvolt az eredmény (ami azért fontos, mert a leukovorin adagokat ennek megfelelően kellett módosítani).

3. A malignus betegségek kivizsgálásra vonatkozó kérdések.

Válasz:

Csak két igazi bilineáris eset volt, akiket kizártunk a vizsgálatból.

A flow MRD analízis – amennyiben lehetséges volt – min. 200.000 esemény elemzésén alapult (15., 33. napon és ProtM előtt is) a 2011 előtti méréseknél. A legújabb protokollban pedig (ALLIC 2009, Mo-on 2011-től) már 300.000 élő esemény megmérésére volt szükség a pontos besoroláshoz. Kb. az esetek 10 %-ában ennél kevesebb esemény kiértékelésére volt csak lehetőség, főleg a 15. napon.

A morfológiai MRD vizsgálatok (fénymikroszkópos blaszt-szám meghatározás) a jelenleg használt protokollok előtti vizsgálatokban mindenhol a besorolás elemi részét

képezték. A betegek alap szintű besorolására alkalmas volt (alacsony – közepes – nagy rizikó). Ma már a finomabb MRD meghatározások korszakában természetesen háttérbe szorul, de évtizedekig segítette a munkát. Egyes közepes finanszírozású országokban, jelenleg is a rizikó besorolás alapját képezi. A határértéknek az 5% tekintendő, valóban ez alatt további megkülönböztetésre nem alkalmas.

A 157. oldalon említett pumpafunkció a szív működésére vonatkozik, ezt mértük a lineáris ejekciós frakció segítségével. Elnézést, ha a fogalmazás nem volt teljesen pontos, és a megjegyzés nem a membrán transzporterre vonatkozik, hiszen azt nem mértük. Feltételezni természetesen lehet, hogy a membrántarnszporterben megjelenő funkció különbség vezet a szív kamrafunkciójának változásához, de ezt mi nem vizsgáltuk.

Valóban bonyolult kérdés, hogy az in vitro vizsgálatok során kapott eredmények, sokszor miért nem érvényesülnek az emberi szervezetben. A P-glikoproteinek elleni gátlószerek sem váltották be általában a hozzájuk fűzött reményeket, pedig joggal volt feltételezhető az előkísérletek alapján, hogyha gátoljuk a MDR fehérjék hatását, akkor talán jobb citosztatikus ill. terápiás hatást kaphatnánk. Az ellentmondásnak valószínűleg több oka van. Először is kérdéses, hogy a gyógyszer formájában bejuttatott molekula eljut-e ill. megfelelő koncentrációban jut-e el a támadásponthoz? További lehetséges magyarázat, hogy lehet hogy nem ismerünk még minden transzportfolyamatot és elképzelhető, hogy az egyik gátlása vagy csökkentése, aktivál más hasonló membránfolyamatokat, melyek kompenzálják a gátló hatást. Ugyanazon anyagok membránon való átjutásában sokszor több transzporter is szerepet kap (pl. Stacy AE et al, Molecular Pharmacology 2013, N Anreddy et al, Oncotarget 2015). Megint további lehetőség, hogy az élő szervezetben molekulák milliói vannak a keringésben, ezek kölcsönhatásait nem lehet teljes mértékben vizsgálni in vitro körülmények között. Sok párhuzamos jelátviteli folyamat játszik szerepet, melyek közül egynek egynek a befolyásolása 1-1 molekula révén lehet, hogy kevésbé befolyásolja a végső folyamatokat. nagyon sokszor a mellékhatások, a toxicitás a limitáló tényezők. Ugyanakkor a kérdés továbbra is intenzív kutatások tárgyát képezi és az elmúlt években is jelentke meg biztató eredmények (Biochem Pharmacol. 2018 Apr 16;154:10-17. doi: 10.1016/j.bcp.2018.04.013, Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2018 Apr;18(4):266-271. doi: 10.1016/j.clml.2018.02.004, J Exp Clin Cancer Res. 2018 Feb 20;37(1):31. doi: 10.1186/s13046-018-0690-x).

Pontos válasz azonban valóban nem adható arra, hogy az MDR gátlószerek miért nem váltak be a klinikai gyakorlatban.

4. Laboratóriumi mérések és mértékegységek használatával kapcsolatos észrevételek.

Válasz:

Az 59. oldalon valóban kétféleképpen adtam meg a vérszámokat, célszerű lett volna egységesíteni.

Számtalan új biokémia markert vizsgálnak, melyek jelzői lehetnek korai, vagy enyhe nephrotoxitásnak, pl. clusterin, calbindin, cystatin C és még sok más. Ezek közül talán a cystatin C a legrégebben vizsgált marker. Az irodalmi adatok alapján a cystatin C mérések jó markerei a vesetoxitásnak, korábban és szenzitív módon jelzi a vesekárosodást (mint pl. a kreatinin). A legtöbb ajánlás ma már tartalmazza, bár a rutin diagnosztikában egyelőre nem terjedt el (legalábbis Magyarországon). Vannak mostanában megjelent közlemények is, melyek ajánlják, használják a cystatin C-t a nephrotoxitás korai monitorizálásra (Clin Kidney J. 2017 Oct;10(5):639-647. doi: 10.1093/ckj/sfx007, Int J Mol Sci. 2017 Jun 22;18(7). pii: E1333. doi: 10.3390/ijms18071333, Clin Toxicol (Phila). 2017 Nov;55(9):970-976. doi: 10.1080/15563650.2017.1326607.). Korábban mi is terveztük a nephrotoxitási vizsgálatok kiterjesztését cystatin C-vel és mikroalbuminuria mérésekkel. Ezekre a vizsgálatokra egyelőre nem került sor, mert kutatásaink közben más irányt vettek. Köszönöm a felvetést, a jövőben átgondoljuk, hogy milyen formában tudnánk bevezetni a cystatin C méréseket a nephrotoxitás monitorizálásra.

A 8. napi perifériás blaszt szám 2 alkalommal technika hiba miatt nem kerülhetett értékelésre. Egyszerűen nem készültek el a kenetek a kérdéses napon.

Az össz fehérje értékeket nem normáltuk. Természetesen a hidrálás a szérum fehérje értékeket is befolyásolhatta, de ezt külön nem vizsgáltuk. A hidrálást követően a szérum össz fehérje értékek nagy változatosságot mutattak, nem mindenkinek csökkentek szignifikánsan.

A hidrálás továbbá természetesen befolyásolhatja a fehérje ürítést. Pontosan ez is volt az egyik megfigyelésünk, ha kevesebb nem standardizált hidrálást kaptak a betegek, akkor több fehérjét ürítettek. Ha forszírozott hidrálást és alkalizálást kaptak, akkor ez minimálisra visszaszorult. Nem dönthető el egyértelműn, hogy ebben mennyi szerepe van az alkalizálásnak és mennyi a hidrálásnak. Ugyanakkor megjegyzendő, hogy kevésbé intenzív hidrálás mellett sem volt mindenkinek szignifikáns fehérje ürítése. Tehát a jelenség minden bizonnyal több összetevővel bír. Még ugyanazon beteg ismételt kezelése során sem voltak az értékek mindig hasonlóak.

A kétféle MTX adag alkalmazásánál a kiindulási GPT értékek között volt eltérés. Az itt bemutatott adatokban ugyanazon beteg több MTX kezelését összesítettük, tehát az emelkedettebb GPT értékek a korábban már kapott MTX dózistól is függtek. A

nagyobb MTX adag mellett kissé emelkedettebb GPT értékeket mértünk, de klinikailag ez az eltérés nem volt jelentős.

A bilirubin szinteknél a 17 $\mu\text{mol/l}$ feletti értéket már kórosnak vettük, mivel kevés volt a jelentős eltérés.

5. Egyéb észrevételek, kérdések.

Válasz:

A rövidítések tekintetében törekedtem a teljességre. Így fordulhatott elő, hogy olyan rövidítések is szerepelnek a rövidítés jegyzékben, amelyek csak 1-2-szer fordulnak elő.

A 10. oldalon a csecsemőkre vonatkozó megjegyzése természetesen igaz a Professzor Úrnak, feleslegesen írtam le kétszer ugyanazt a korosztályt.

Nemzetközileg is ismert, hogy a T-sejtes ALL túlélése kissé rosszabb, mint a klasszikus pre-B-sejtesé. A legjobb amerikai és európai központokban általában a különbség kicsi, 3-4 % és nem szignifikáns (Möricke A et al: Blood, 2016, 127:2101-2112). Ugyanakkor pl. Japánban igen kifejezett szignifikáns különbséget találtak a pre-B és a T ALL-s gyermekek között (91 % vs. 71 %) (Takahashi H et al, Int J Hematol, 2018 márc. 27.)

Mo-on a legutóbbi évek adatai alapján a különbség szignifikánsan 8-10 % volt, a T-sejtes folyamatok rosszabb EFS és OS értékeivel. Az utolsó lezárt és kiértékelt protokoll alapján (ALLIC 2002) a preB-sejtes ALL magyarországi általános túlélése 82,8 % volt, míg a T-sejteseké 71,1 % (az EFS esetén is kb. 10 % a különbség).

Törekedtem az egységes és magyaros írásmódra. Számtalanszor átnéztem a dolgozatot, de végül is maradt benne néhány kétféleképpen leírt kifejezés.

A 134. oldalon valóban hibás dimenziót tüntettem fel (helyesen g/L), és sajnos valóban maradt a dolgozatban 1-2 elütés.

A laboratóriumi paraméterek rövidítése valóban sokszor nem egyértelmű és félreérthető, de azért használtam ezeket a dolgozatban, mert a klinikai gyakorlatban is sokszor így használjuk őket (lehet, nem helyesen...).

Tisztelettel kérem Professzor Urat válaszaim elfogadására!

Dr. Kovács Gábor
egyetemi docens

Budapest, 2018.05.21.