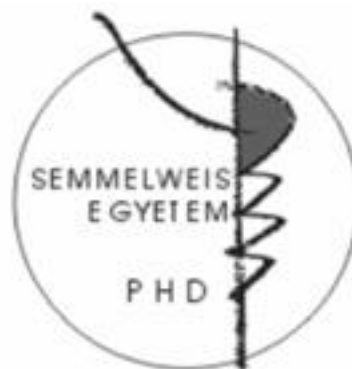


Nagy dózisú metotrexát kezelések farmakokinetikai és farmakogenetikai vizsgálata gyermekkori akut limfoid leukémiában

Doktori tézisek

Dr. Csordás Katalin

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Kovács Gábor, Ph.D.

Hivatalos bírálók: Dr. Nagy Zsolt, Ph.D.
Dr. Kajtár Béla, Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Demeter Judit, egyetemi tanár, MTA doktora
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Masszi Tamás, egyetemi tanár, Ph.D.
Dr. Gyurasics Ágnes, főosztályvezető, Ph.D.

Budapest
2014

Bevezetés

A gyermekkori akut limfoid leukémia (ALL) képezi a gyermekkori daganatok közel egyharmadát. A jelenleg alkalmazott terápiás protokollokkal kezelt gyermekek 5 éves eseménymentes túlélése (EFS) 76-86% között változik a fejlett országokban. Az ALL terápiája során alkalmazott kemoterápiás szerek számos veszéllyel, mellékhatással járhatnak. A hagyományos klinikai gyakorlatban alkalmazott testtömegre, testfelületre vonatkoztatott dózisadagolás gyakran még egyéni, például szervkárosodás esetén alkalmazott korrekció után sem bizonyul megfelelőnek. A kemoterápiás szerek esetén ezért nagy hangsúlyt kap a terápiás gyógyszeres szint monitorozás, és elengedhetetlen a kemoterápiás szerek farmakokinetikai paramétereinek ismerete.

Hazánkban a gyermekkori ALL osztályozása és kezelése nemzetközi BFM protokoll alapján történik. Az 1995 és 2011 között hazánkban alkalmazott ALL-BFM 95 és ALL IC-BFM 2002 protokoll a betegség osztályozása során a beteg életkora, a kezdeti fehérvérsejtszáma, korai terápiás válasza, genetikai markerek alapján három rizikócsoportot különböztet meg: standard, közepes és magas rizikó csoportokat. Jelenleg az ALL IC-BFM 2009 protokoll használatos, amely a prognosztikai faktorok között a hipodiploiditást és az indukciós kezelést követő minimális reziduális betegség meglétét/hiányát is figyelembe veszi. Az ALL terápiája indukciós, konszolidációs és fenntartó kezelést foglal magában, melyet központi idegrendszeri (KIR) profilaxis egészít ki. A konszolidációs kezelés során, (2 hetente, összesen 4 alkalommal) kerül sor a nagy dózisú szisztémás metotrexát (HD-MTX) kezelésre, amelyet 2 g/m^2 illetve 5 g/m^2 dózisban, 24 órás folyamatos infúzió formájában kapnak a betegek. A toxikus hatások kivédése céljából a kezelés kalcium-folináttal egészül ki.

A MTX a folsav antagonistá citosztatikus antimetabolitok közé tartozik. A sejtekbe jutva megakadályozza a sejt de novo timidilát és purin bázisainak szintéziséhez szükséges kofaktorok termelődését. A gyorsan osztódó daganatsejtek elpusztulnak a DNS szintézishez szükséges nukleotidok hiánya miatt. Aktív transzporttal kerül be a sejtbe, ahol poliglutamálódik. A poliglutamálódott MTX (MTXPG) a dihidrofolát reduktáz (DHFR), timidilát szintetáz (TYMS) és a ribonukleotid-transzformiláz enzimek gátlásán keresztül fejt ki hatását, mely utóbbi feltehetően a MTX immunosuppresszív tulajdonságához járul hozzá. A MTX régóta és széleskörben alkalmazott kemoterapeutikum. Mindezek ellenére a világban többféle protokoll részeként más és más dózisban alkalmazzák. Az optimális MTX szint meghatározása, a MTX hatékonyságának és toxicitásának előrejelzése máig számos kutatás tárgyát képezi. A nagy dózisú kezelések legfőbb akut mellékhatásai a nefrotoxicitás, hepatotoxicitás, csontvelő depresszió, gasztrointesztinális mukozitisz és a neurotoxicitás.

Egyes tanulmányok szerint magasabb szérumszintek, elhúzódó MTX elimináció esetén nagyobb a rizikó a toxicitás kialakulására, ugyanakkor léteznek olyan tanulmányok, amelyek nem erősítik meg ezeket az összefüggéseket. A MTX fő metabolitja a 7-hidroxi-metotrexát (7-OH-MTX), amely hozzájárul a MTX hatásainak és mellékhatásainak kialakításához.

Alapos farmakokinetikai ismeretek mellett is előfordul, hogy ugyanazon dózist alkalmazva is nagy egyéni különbségeket találunk a gyógyszerek felszívódását, metabolizmusát, eliminációját, a létrejött hatást, mellékhatást tekintve. A MTX-tal kapcsolatban álló, a MTX transzportjában, metabolizmusában szerepet játszó enzimeket kódoló gének polimorfizmusai (egy nukleotidot érintő polimorfizmus, SNP) kapcsolatban állhatnak egyes személyek fokozott MTX érzékenységének – így a gyakrabban jelentkező toxikus tünetek –, vagy ellenkezőleg, a MTX rezisztencia – így a szer hatástalanságának – kialakulásával.

A MTX májba történő felvétele a szolubilis karrier organikus aniontranszporter család 1B1 és 1B3 tagján (SLCO1B1 és SLCO1B3) keresztül történik. Az *SLCO1B1* gén terméke elsősorban a hepatociták szinuszoidális membránján fejeződik ki, de az enterocitákban is megtalálható. Az *SLCO1B1* gén polimorfizmusai a transzporter működését megváltoztathatják. Leggyakrabban vizsgált nem szinonim polimorfizmusa, az rs4149056 (521T>C, Ala174Val) számos szubsztrát vonatkozásában a transzporter funkció csökkenésével jár. MTX farmakokinetikával való összefüggését több tanulmány is megerősíti.

Az *ARID5B* gén egy transzkripciós fehérjét kódol. A gén terméke az adeninben és timinben gazdag interaktív domént (AT-rich interaction domain, ARID) tartalmazó fehérjecsalád 5B tagja. Az *ARID5B* gén szerepet játszik az adipogenezisben, a máj fejlődésében, de a sejtnövekedésben és a B-limfocita progenitorok differenciálódásában is. Kimutatták, hogy az *ARID5B* gén variánsai összefüggést mutatnak a B-sejtes hiperdiploid ALL kialakulásával. Továbbá, ezekben a betegekben ugyanazok az allélok, amelyek a B-hiperdiploid ALL-re hajlamosítottak, összefüggést mutattak a megnövekedett intracelluláris MTXPG akkumulációval is. Ismert, hogy a B-sejtes hiperdiploid ALL jobban reagál HD-MTX kezelésre. Mindez felveti annak a lehetőségét, hogy a leukemogenezis és az antileukémiás terápiára adott válaszreakciók egy közös – egyelőre ismeretlen – útvonalon konvergálnak.

Célkitűzés

Munkám során az alábbi célkitűzéseim voltak:

Farmakokinetikai vizsgálatok:

1. Részletes, összehasonlító elemzést készíteni a Magyarországon alkalmazott, két különböző dózisu HD-MTX kezelést követően a MTX és 7-OH-MTX farmakokinetikai paramétereiről szérumban és liquorban egyaránt.
2. Összehasonlítani a különböző dózisu kezeléseket követő korai toxicitást.
3. Megvizsgálni a farmakokinetikai és toxicitási eredmények életkor és nemek szerinti különbségeit.

Farmakogenetikai vizsgálatok:

4. Megvizsgálni a folát anyagcserében szerepet játszó, transzporter, valamint transzkripciós fehérjéket kódoló gének polimorfizmusai (SNP) és a MTX, valamint a 7-OH-MTX farmakokinetikája közötti összefüggéseket.
5. Megvizsgálni, hogy ugyanezen SNP-k összefüggést mutatnak-e a kezeléseket követő akut toxicitással.

Módszerek

Összesen 153 olyan beteg adatait elemeztük, akiket ALL diagnózissal 1998-2011 között a Semmelweis Egyetem II. Sz. Gyermekgyógyászati Klinikáján kezeltek. Minden gyermeket bevontunk a vizsgálatba, aki ez alatt az idő alatt HD-MTX kezelésben részesült. Az adatgyűjtés retrospektív módon történt. A gyermekek kemoterápiás kezelése az ALL-BFM 95 és ALL IC-BFM 2002 protokoll alapján zajlott. Az 5 g/m²/24 óra dózisu MTX infúziók esetén összesen 241 (65 beteg), a 2 g/m²/24 óra dózis esetén összesen 342 (88 beteg) MTX kezelést elemeztünk és hasonlítottunk össze. Farmakokinetikai vizsgálataink során a betegeket diagnóziskori életkoruk szerint további alcsoportokba osztottuk: 6 éves kor alatti (<6 év) és 14 éves kor feletti (>14 év) csoportokba, és ezen két csoport MTX kezeléseit egymással is összehasonlítottuk.

DNS mintát 118 betegről tudtunk gyűjteni, így farmakogenetikai elemzéseink során csak e szűkebb betegpopuláció MTX kezeléseit vettük figyelembe. Nem kerültek be ebbe a vizsgálatba a DNS mintagyűjtés kezdete előtt exitált betegek.

Farmakokinetikai számításaink során a MTX infúzió kezdetét követő 24, 36, 48. órában mért szérumból MTX és 7-OH-MTX szintek átlag és medián értékeit, másrészt a három időpont szimultán változását (24h + 36h + 48h – egy célváltozóként), valamint a három mérési időpont alapján kapott koncentráció – idő görbe alatti területet (area under the concentration – time curve, AUC) használtuk fel. A szérumból liquorba történő penetráció arányát a 24. órában mért liquor és szérumból MTX szintek hányadosával határoztuk meg. A liquorból az intratekális MTX profilaxis előtt történtek a MTX szintmérések. A toxicitás vonatkozásában regisztráltuk az infúzió kezdetét követő 1, 2. napon, valamint 7. napon mért szérumból hemoglobint, fehérvérsejtszámot, neutrofil granulocitaszámot, trombocitaszámot, összfehérjesszintet, transzamináz enzimszinteket (GPT és GGT), bilirubin koncentrációt, kreatinin szinteket. Az értékeket a National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events version 4.0 scoring system alapján kategorizáltuk, és a legsúlyosabb, 3-4-es toxicitási fokozatba sorolt mellékhatások MTX – 7-OH-MTX szérumból szintekkel illetve a kiválasztott gének polimorfizmusaihoz való összefüggéseit vizsgáltuk.

Farmakogenetikai vizsgálatainkhoz az irodalom alapján 14 gén 63 polimorfizmusát választottuk ki. A DNS izolálás perifériás vérmintából, remisszió során, retrospektív módon történt. Az izoláláshoz a gyártó előírásainak megfelelően a QIAamp DNA Blood Midi Kit-et (Qiagen, Hilden, Németország) használtuk, a genotipizálás Sequenom iPLEX Gold MassARRAY technológiával a kanadai McGill Egyetem és Génome Québec Innovációs Központban (Montréal) történt.

A farmakokinetikai és toxicitási elemzéseket a StatSoft STATISTICA (7.0 verzió) programmal végeztük. A változók eloszlásának megfelelően parametrikus (Student t-teszt, Pearson korreláció) és nem parametrikus próbákat (Mann-Whitney U, chi-négyzet, Wilcoxon-próba, és Spearman korreláció) alkalmaztunk. Farmakogenetikai elemzéseink során, a Hardy-Weinberg egyensúly meglétét chi-négyzet teszttel ellenőriztük. Ha a vizsgált SNP domináns és recesszív alléljainak gyakorisága különbözött a Hardy-Weinberg egyensúly alapján várttól, az SNP-t nem vontuk be a statisztikai elemzésbe. Mindezek alapján összesen 4 SNP-t zártunk ki a vizsgálatból. A farmakokinetikai – toxicitási paraméterek és az SNP-k közötti kapcsolatot az R (2.15 verzió) programmal elemeztük. A relatív kevés mérési időpont és a nagyszámú magyarázó változó miatt az elemzéseket egy időpontokénti random forest elemzéssel kezdtük, amellyel kiválogattuk az egyes célváltozók esetén a szóba jöhető magyarázó változókat. Következő lépésben, a random forest eredményeként kapott változókkal klasszifikációs és regressziós döntési fákat (CART) állítottunk, tovább finomítva a változószelekciót, és feltárva az esetleges interakciókat is. Elemzéseink utolsó lépésében

lineáris kevert modelleket illesztettünk a korábbi lépések során kiválogatott genetikai magyarázó változókkal, illetve a demográfiai paraméterekkel. Ebben a modellben már lehetőség volt arra, hogy az adatokban lévő korrelációs struktúrát figyelembe vegyük, úgyhogy ezen elemzés eredményét tekintettük véglegesnek, illetve a CART technikával felépített döntési fa megerősítésének.

Eredmények

A szérum MTX és 7-OH-MTX szintek a 24, 36, 48. órában szignifikánsan magasabbak voltak az 5 g/m²/24 óra dózist (MTX5) kapott gyermekek HD-MTX kezelése során (p<0,0001). A szérumszintek mindkét csoportban jelentős inter- és intraindividuális különbségeket mutattak. A számított AUC_{MTX} és AUC_{7-OH-MTX} értékek szintén szignifikánsan magasabbak voltak az MTX5 csoportban (p<0,0001).

Az ajánlott terápiás tartományt (10-100 µmol/l a 24. órában) a 2 g/m²/24 óra dózisú (MTX2) kezelések szignifikánsan kevesebb esetben érték el, mint az MTX5 esetén. A 24 órás MTX szintek az MTX2 kezeléseknél 9,88%-ában, az MTX5 kezeléseknél 1,67%-ában alacsonyabbak voltak a kívánt 10 µmol/l értéknél (p=0,0007). Az MTX5 kezeléseknél legnagyobb részében a 24 órás MTX szint 30-100 µmol/l közé esett. Ezt a tartományt az MTX2 kezeléseknél szignifikánsan ritkábban érte el a MTX szérumszintje (MTX5: 76,15% vs. MTX2: 32,33%, p<0,0001). A 100 µmol/l koncentrációt az MTX5 kezeléseknél 17,57%-ában, az MTX2 kezeléseknél 1,19%-ában haladta meg a MTX szintje (p<0,0001).

Egyik csoportban sem találtunk szignifikáns különbséget a MTX és 7-OH-MTX szérumszinteket összehasonlítva az 1-4. kezelést követően. Az AUC_{MTX} és AUC_{7-OH-MTX} értékek szintén változatlanok maradtak mindkét csoportban. A liquor MTX koncentráció sem változott az 1-4. kezeléseknél.

A liquor MTX szintek az MTX5 kezeléseknél szignifikánsan magasabbak voltak (p<0,0001). A liquor MTX szintek megoszlását tekintve az MTX2 kezeléseknél legnagyobb részében (73,33%) a liquor koncentráció nem érte el a citotoxicitás határának tekintett 1 µmol/l értéket. Az MTX5 kezeléseknél legnagyobb részében a liquor koncentráció 1-10 µmol/l közé esett (MTX5: 63,92% vs. MTX2: 22,72%, p <0,0001). Az MTX5 kezeléseknél 8,25%-ában, az MTX2 kezeléseknél 3,92%-ában a liquor MTX koncentráció meghaladta a 10 µmol/l értéket.

A liquorba történő penetráció aránya nem különbözött szignifikánsan a két csoportban. A liquor MTX_{24h}/szérum MTX_{24h} hányados medián értéke hasonló volt a két csoportban:

MTX5: 2,3% (95% CI: 1,7-2,5%) vs. MTX2: 2,8% (95% CI: 2,4-3%). A liquorba történő penetráció aránya tehát függetlennek bizonyult az alkalmazott dózistól, amelyet a MTX, 7-OH-MTX és liquor MTX szintek közötti korrelációelemzés eredménye is alátámasztott. A 24 órás szérum és liquor MTX szintek között mindkét csoportban szignifikáns korreláció állt fent (MTX5: Spearman $r=0,36$, $p=0,0002$; MTX2: Spearman $r=0,38$, $p<0,0001$).

A kezeléseket ritkán követte \geq grade 3 toxicitás. A kezelést követő 1-7. napon az MTX5 csoportban szignifikánsan gyakrabban fordult elő grade 3-4 hepatotoxicitás: MTX5: 12,4% vs. MTX2: 5,3%, $p=0,006$. A HD-MTX kezelést követő 7. napon szignifikánsan gyakrabban regisztráltunk grade 3-4 leuko- és granulocitopéniát az MTX5 csoportban: MTX5: 36,9% vs. MTX2: 15,5%, $p<0,0001$. Az 1-2. napon a szérum összfehérjeszintek csökkenését tapasztaltuk mindkét csoportban: MTX5: 49,4% vs. MTX2: 59,4%, $p=0,08$. Az 1-7. napon ritkán fordult elő grade 3-4 kreatinin szint emelkedés az MTX5 csoportban, és nem találtunk szignifikáns különbséget a két csoport között: MTX5: 3,2% vs. MTX2: 1,9%, $p=0,50$.

Az MTX5 csoportban a 24 órás 7-OH-MTX szintek szignifikáns korrelációt mutattak az 1-2. napon (Pearson $r=0,42$, $p<0,0001$) és 7. napon (Pearson $r=0,36$, $p<0,0001$) mért legmagasabb kreatinin értékekkel. Az $AUC_{7-OH-MTX}$ értékek korreláltak az 1-2. napon mért legmagasabb kreatinin szintekkel az MTX5 csoportban (Pearson $r=0,41$, $p<0,001$), és a 7. napi kreatinin szintekkel mindkét csoportban (MTX5: Pearson $r=0,34$, $p=0,001$; MTX2: Pearson $r=0,29$, $p=0,016$). Nem találtunk korrelációt a 7-OH-MTX szintek és a kialakult hepato-, mielotoxicitás között.

Azokban az esetekben, amelyekben a 7. napon mért kreatinin szintek a kiindulási értékhez képest több, mint 20 $\mu\text{mol/l}$ -rel emelkedtek, magasabb 24 órás 7-OH-MTX szinteket regisztráltunk, ennek ellenére a kreatinin szintemelkedés és a 7-OH-MTX szintek közötti összefüggés nem bizonyult szignifikánsnak ($p=0,07$ az MTX5 csoportban).

Nem állt fent lineáris korreláció a MTX farmakokinetikai paraméterei és a kezelés után kialakult mellékhatások között. Az MTX2 csoportban azonban azokban az esetekben, amelyekben az 1-7. napon hepatotoxicitás alakult ki, szignifikánsan magasabb AUC_{MTX} értékeket regisztráltunk, mint azokban, amelyekben nem alakult ki hepatotoxicitás ($p=0,005$).

Mindkét terápiás csoportban (MTX5 és MTX2) a 48 órás szérum MTX szintek magasabbak voltak a 14 év feletti gyermekekben, mint a 6 év alattiakban (MTX5: $p=0,0013$, MTX2: $p=0,0021$). Az MTX5 csoportban szignifikánsan gyakrabban találtunk toxikus kreatinin szinteket a 14 év feletti gyermekekben a kezelést követő 1-2. napon (>14 év: 12% vs. <6 év: 0,8%, $p=0,019$) és a 7. napon (>14 év: 16,7% vs. <6 év: 2,1%, $p=0,014$). Az MTX2

csoportban a 14 év felettek között szignifikánsan gyakrabban fordult elő hepatotoxicitás az 1-2. napon (>14 év: 8,7% vs. <6 év: 0,5%, $p=0,024$).

Az MTX5 csoportban nem találtunk szignifikáns különbséget a két nem között. Az MTX2 csoportban a 24 órás MTX szintek és az AUC_{MTX} értékek szignifikánsan magasabbak voltak a lányok HD-MTX kezeléseit követően ($p=0,001$ és $p=0,002$).

Farmakogenetikai elemzéseink során, a szérumban MTX (24h + 36h + 48h) szint CART eredménye alapján az alkalmazott MTX dózis (5 vagy 2 g/m^2) befolyásolta leginkább a MTX szinteket ($p<0,001$), mely összhangban állt a korábbi, farmakokinetikai elemzések során kapott eredményünkkel. Azokban a betegekben, akik 2 g/m^2 MTX-ot kaptak, az rs4948496 (*ARID5B* gén) szintén szignifikáns összefüggést mutatott a kialakult szérumszintekkel ($p=0,011$). A CC genotípussal rendelkezőkben magasabb szérumszinteket találtunk, mint a CT+TT genotípussal rendelkezőkben. Azokban a betegekben, akik 2 g/m^2 MTX-ot kaptak, és az rs4948496 CT+TT genotípussal rendelkeztek, egy további SNP, az rs4149056 (*SLCO1B1* gén) szintén szignifikáns összefüggést mutatott az MTX szintekkel ($p<0,001$). A TT genotípussal rendelkezőkben alacsonyabb volt a MTX szintje, mint a CT+CC genotípussal rendelkezőknek. A két SNP és a MTX szintek közötti összefüggés általános lineáris kevert modellel (GLMM) is szignifikánsnak bizonyult (rs4948496: $p=0,039$, rs4149056: $p=0,004$). Azokban a betegekben, akik 2 g/m^2 MTX-ot kaptak, és az rs4948496 CC genotípusával rendelkeztek, szignifikánsan gyakrabban fordult elő a kívánnál magasabb 48 órás MTX szint (>0,25 $\mu mol/l$): CC vs. CT+TT genotípus: 61% vs. 39%, $p=0,044$.

A szérumban 7-OH-MTX (24h + 36h + 48h) szint döntési fája a MTX-téhoz hasonló képet mutatott. Az alkalmazott MTX dózis (5 vagy 2 g/m^2) befolyásolta leginkább a 7-OH-MTX szinteket ($p<0,001$). Mindkét csoportban az rs4948502 (*ARID5B* gén) mutatott szignifikáns összefüggést a 7-OH-MTX szintekkel (5 és 2 g/m^2 : $p=0,015$ és $p<0,001$). Mindkét csoportban a GLMM alapján is igazolódott a szignifikáns összefüggés ($p=0,003$ és $p=0,033$). Az rs4948502 és a 7-OH-MTX szérumszintek közötti összefüggés azonban nem egyértelmű. Azokban a betegekben, akik 2 g/m^2 MTX-ot kaptak, a CC genotípus magasabb 7-OH-MTX szintekkel, míg az 5 g/m^2 -t kapottak körében a CC genotípus alacsonyabb 7-OH-MTX szintekkel állt összefüggésben (a CT+TT genotípusú betegekkel összehasonlítva).

Az $AUC_{7-OH-MTX}$ CART elemzése hasonló eredményt mutatott, mint a szérumban 7-OH-MTX szinteké. Az rs4948502 (*ARID5B* gén) mindkét csoportban szignifikáns összefüggést mutatott az $AUC_{7-OH-MTX}$ -tal (5 és 2 g/m^2 dózist kaptak esetén is $p<0,001$). A szignifikáns összefüggést a GLMM is megerősítette ($p<0,001$ és $p=0,013$).

A CART eredménye alapján az 5 g/m² MTX-ot kapott betegekben szignifikáns összefüggés mutatkozott a kialakult hepatotoxicitás és az rs7499 (*SLC19A1* gén, p=0,003) valamint az rs4948502 (*ARID5B* gén, p=0,007) között.

Az 5 g/m²-ert kapott betegek esetén a nefrotoxicitásra, mint célváltozóra állított CART szignifikáns összefüggést mutatott az rs4149183 (*SLC22A8* gén) és a 7. napon fellépő nephrotoxicitás között. A CC genotípussal rendelkező betegekben szignifikánsan gyakrabban alakult ki nefrotoxicitás, mint a CT+TT genotípussal rendelkezőkben (25% vs. 1%, p=0,001).

A CART eredményeként a 7. napon fellépő hipoproteinémia és az rs4948487 (*ARID5B* gén, p=0,004), valamint az rs1076991 (*MTHFD1* gén, p<0,001) között szignifikáns összefüggés mutatkozott azokban a betegekben, akik 2 g/m² dózisú HD-MTX kezelésben részesültek. Gyakrabban regisztráltunk hipoproteinémiát az rs4948487 AA genotípussal és az rs1076991 GG genotípussal rendelkező betegek esetén.

A 2 g/m² MTX-ot kapott betegek csoportjában a CART és az általánosított lineáris kevert modell (GzLMM) is szignifikáns összefüggést mutatott a 7. napon regisztrált granulocitopénia és az rs3768142 (*MTR* gén) között. A GG genotípusú betegekben szignifikánsan gyakrabban fordult elő a granulocitopénia: GG vs. GT+TT: 56% vs. 23%, OR: 5,92 (95% CI: 2,03-17,27), p=0,001. A CART és GzLMM eredménye is azt mutatta, hogy a granulocitopénia szignifikánsan gyakrabban fordult elő a 4. HD-MTX kezelést követően, mint az 1-3. kezelések után, OR: 3,48 (95% CI: 1,40-8,64), p=0,007.

Következtetések

Vizsgálataink alapján a terápiás szérum és liquor MTX szintek az 5 g/m² dózisú kezelésekkel megbízhatóbban elérhetők azzal együtt, hogy a reverzibilis mellékhatások kialakulása valamivel gyakoribb a magasabb dózisú kezeléseket követően. Eredményeink megegyeznek a nemzetközi, ALL-sok HD-MTX kezeléseit célzó vizsgálatok eredményeivel, amelyek szerint az ismételt HD-MTX kezelések hasonló MTX és 7-OH-MTX szinteket eredményeznek, és nem járnak nagyobb toxicitással. A saját és korábbi tanulmányok eredményei alapján idősebb (>14 éves) gyermekek HD-MTX kezelése során magasabb szérum MTX szintekre és gyakoribb mellékhatásokra lehet számítani, mint a fiatalabb (<6 éves) gyermekekben.

A szérum és liquor MTX szintek az 5 g/m² és 2 g/m² dózisú kezelést követően is nagy inter- és intraindividuális különbséget mutatnak. Az irodalomban a szérum és liquor MTX szintek közötti kapcsolat ellentmondásos. Munkánk során választ kerestünk arra, hogy van-e

összefüggés az alkalmazott HD-MTX dózis és a MTX szérumból liquorba történő penetrációjának aránya között. A penetráció arányát összehasonlítva, a két különböző dózisu csoport között nem volt különbség, a liquorba történő penetráció aránya tehát dózis függetlennek bizonyult. Ezt támasztotta alá a 24 órás szérum és liquor MTX szintek között tapasztalt szignifikáns korreláció is.

A 7-OH-MTX szintek mindkét HD-MTX kezelés esetén szoros összefüggést mutattak a kialakult nefrotoxicitással. További kutatásokat igényel tehát annak lehetősége, hogy a 7-OH-MTX szorosabb összefüggést mutat a kialakult mellékhatásokkal, ezért monitorozása előnyösebb lehet a MTX-nál.

Farmakogenetikai elemzéseink során olyan új, többváltozós statisztikai módszereket alkalmaztunk, amellyel lehetőségünk volt a nagyszámú magyarázó változó egyidejű figyelembe vételére, feltárva az esetleges interakciókat is.

Elsőként igazoltunk összefüggést az *ARID5B* gén polimorfizmusai és a MTX, 7-OH-MTX szérumszintek között. A gén pontos szerepe a szérumszintek kialakításában azonban további vizsgálatokat igényel.

Eredményeink megerősítik az *SLCO1B1* gén szerepét, mint a MTX ürülésének lehetséges genetikai prediktorát.

Összefüggéseket azonosítottunk a kezeléseket követően fellépett akut toxicitás és az *SLC19A1*, *SLC22A8*, *MTR* és *MTHFD1* gének új, eddig kevésbé vizsgált genetikai variánsai között.

További vizsgálatok és nagyobb elemszámú, nemzetközi populáción történő validálás után az általunk igazolt polimorfizmusok segítségével, valamint farmakokinetikai vizsgálataink eredményeinek felhasználásával megvalósulhatna az egyénhez igazított gyógyszeradagolás.

Saját publikációk jegyzéke

Értekezésben összefoglalt saját közlemények:

Csordas K, Lautner-Csorba O, Semsei AF, Harnos A, Hegyi M, Erdelyi DJ, Eipel OT, Szalai C, Kovacs GT. (2014) Associations of novel genetic variations in the folate-related and ARID5B genes with the pharmacokinetics and toxicity of high-dose methotrexate in paediatric acute lymphoblastic leukaemia. *Brit J Haematol*, doi: 10.1111/bjh.12886. IF (2012): 4,942

Csordas K, Hegyi M, Eipel OT, Muller J, Erdelyi DJ, Kovacs GT. (2013) Comparison of pharmacokinetics and toxicity after high-dose methotrexate treatments in children with acute lymphoblastic leukemia. *Anticancer Drugs*, 24: 189-97. IF (2012): 2,232

Csordas K, Eipel O, Hegyi M, Csoka M, Pap E, Kovacs G. (2011) Pharmacokinetic analysis of high-dose methotrexate treatments in children with hematologic malignancies. *Orv Hetil*, 152: 1609-1617.

Értekezés témájában megjelent egyéb közlemények:

Hegyi M, Gulacsi A, Csagoly E, Csordas K, Eipel OT, Erdelyi DJ, Muller J, Nemes K, Lautner-Csorba O, Kovacs GT. (2012) Clinical relations of methotrexate pharmacokinetics in the treatment for pediatric osteosarcoma. *J Cancer Res Clin Oncol*, 138: 1697-1702. IF: 2,914

Lautner-Csorba O, Gezsi A, Semsei A, Antal P, Erdelyi DJ, Schermann G, Kutszegi N, Csordas K, Hegyi M, Kovacs G, Falus A, Szalai C. (2012) Candidate gene association study in pediatric acute lymphoblastic leukemia evaluated by Bayesian network based Bayesian multilevel analysis of relevance. *BMC Med Genomics*, 5:42. IF: 3,466

Egyéb témában megjelent közlemények:

Gezsi A, Lautner-Csorba O, Erdelyi DJ, Hullam G, Antal P, Semsei AF, Kutszegi N, Hegyi M, Csordas K, Kovacs G, Szalai C. (2014) In interaction with gender a common CYP3A4 polymorphism may influence the survival rate of chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenomics J*. Paper doi:10.1038/tpj.2014.60. IF: 5,513

Eipel OT, Nemeth K, Torok D, Csordas K, Hegyi M, Ponyi A, Ferenczy A, Erdelyi DJ, Csoka M, Kovacs GT. (2013) The glucocorticoid receptor gene polymorphism N363S predisposes to more severe toxic side effects during pediatric acute lymphoblastic leukemia (ALL) therapy. *Int J Hematol* 97: 216-222. IF (2012): 1,681