

Prognosztikai tényezők elemzése, valamint farmakokinetikai és farmakogenetikai vizsgálatok osteosarcomás gyermekek esetében

Doktori tézisek

Dr. Hegyi Márta

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Kovács Gábor, PhD, Med. habil.

Hivatalos bírálók: Dr. Szánthó András, egyetemi docens, Ph.D.
Dr. Kajtár Béla, egyetemi adjunktus, Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Kulka Janina, egyetemi tanár, MTA doktora
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Demeter Judit, egyetemi tanár, MTA doktora
Dr. Kriván Gergely osztályvezető főorvos, Ph.D.

Budapest
2013

Bevezetés

Az osteosarcoma a leggyakoribb primer malignus csonttumor gyermekkorban. Kezelésében az 1970-es években bevezették az intenzív kemoterápiát, mely jelentősen növelte az osteosarcoma túlélését. Az 1980-as évek óta az osteosarcomás gyermekek közel kétharmada tartósan meggyógyul. A preoperatív kemoterápia citosztatikus szereit a doxorubicin, a ciszplatin, az ifosfamid és a methotrexate (MTX). A kezelés célja az esetleges mikrometasztázisok eliminálása illetve a kezdeti tumor volumen csökkentése. A neoadjuváns kemoterápia után radikális műtét következik. A képalkotó vizsgálatok és a protetizálás fejlődése az ortopédusok számára pontosabb preoperatív tervezést és műtéti megoldások szélesebb választékát tette lehetővé. A műtét után a betegeket a kezdeti tumor méret és a kemoterápiára adott szövettani válasz alapján rizikócsoportokba soroljuk, és további 6-8 hónap gyógyszeres kezelés következik. Az adjuváns kezelésben standard ágon a preoperatív kemoterápia szereit, a magas rizikójú ágon két új gyógyszert, a carboplatint és az etopozidot alkalmazzuk.

Az osteosarcoma kezelésének egyik alappillére a nagydózisú intravénás MTX. Az összes daganat közül osteosarcoma kezelésében alkalmazzák a legmagasabb, 12g/testfelület m^2 dózisban a MTX-ot 4-12 alkalommal a protokoll során. A MTX a folsav antagonistá cistosztatikumok közé tartozik. A sejtbe bejutva gátolja a nukleotidok szintéziséhez szükséges kofaktorok termelődését. Aktív transzporttal kerül be a sejtbe, ahol glutamátcsoportok kapcsolódnak hozzá, és ez a poliglutamált forma a dihidrofolát-reduktáz és a timidilát-szintáz enzimek gátlásán keresztül megakadályozza a de novo pirimidinszintézist. Széleskörű és régóta tartó használata ellenére máig probléma a MTX hatékonyságának és toxicitásának előrejelzése. Akut mellékhatásként súlyos hepato- és nephrotoxicitás, myelosuppressio, gastrointestinalis és neurotoxicitás léphet fel. Korábbi vizsgálatok 700 ill. 1000 $\mu\text{mol/l}$ feletti MTX csúcskoncentráció esetén szignifikánsan jobb túlélést találtak, és ennek a szintnek az elérését tartották kívánatosnak. A toxicitás fellépését az elhúzódó MTX exkrécióval hozták kapcsolatba. Ugyanakkor későbbi vizsgálatok ezeket az összefüggéseket nem tudták megerősíteni. A farmakokinetika és a MTX-hatás közötti összefüggés jobb megismerése hatalmas előnyöket rejt magában, biztonságosabbá és még hatékonyabbá lehetne tenni a MTX alkalmazását.

A MTX terápia toxikus tüneteinek és a gyógyszer eliminációjának terén nagyok az interindividuális különbségek. Ennek egyik oka lehet a gyógyszerek kinetikájában és

hatásmechanizmusában szerepet játszó gének polimorfizmusai, melyek megváltoztathatják a gyógyszerek felszívódását, disztribúcióját, metabolizálódását és kiválasztódását.

A MTX az SLC19A1 (solute carrier family 19 (folate transporter), member 1, régi nevén redukált folát karrier, RFC1) molekulán keresztül jut be a sejtbe. Az SLC19A1 kétirányú anioncserélő mechanizmussal működik, nem hidrolizál ATP-t. A génben gyakran vizsgált polimorfizmus a 80G>A, mely Arg27His cserét okoz a protein első transzmembrán doménjében, ezáltal a transzporter molekula folát affinitása nő. Az *SLC19A1* AA genotípus esetén így magasabb a MTX beáramlás a sejtbe, mely jobb terápiás választ eredményez, ugyanakkor a toxicitás előfordulása gyakoribb. A MTX-ot a sejten belül a folilpoliglutamát-szintetáz enzim poliglutamálja, és ez az aktív forma lép be a folsavciklusba. A poliglutamált folsav származékok a lizoszómába kerülnek, ahol a gamma-glutamil-hidroláz (GGH) monoglutamált formává hidrolizálja őket. Azon tumorsejtek, melyekben magas a GGH enzimszint, rezisztensek az antifolatokra, és a GGH szint emelkedésével párhuzamosan a rezisztencia mértéke fokozódik. A *-401C>T* (rs3758149) és *-124T>C* promoterpolimorfizmusok fokozzák a promoter aktivitását, és így a GGH fehérje expresszióját. A megnövekedett GGH-szint a MTX-poliglutamát csökkent akkumulációjához és MTX rezisztenciához vezethet.

A szabad MTX kijutása a sejtől az ATB-binding cassette család ABCC1-5 és ABCG2 transzporterein keresztül történik. Az ABC-transzporter családba számos olyan ATP-kötő transzmembrán fehérje tartozik, amely a xenobiotikumok transzportjában vesz részt. Az ABCB1 a májsejtek, ill. vesetubulusok sejtjeiben szubsztájainak az epén, ill. vizeleten keresztüli kiválasztásában van szerepe, a vér-szövet gátak kialakításában fontos. Az ABCC1 elsősorban a kifejezetten barrier funkciójú, ill. osztódó fázisban levő sejtekben jelenik meg. A fehérjének nem a káros anyagok szervezetből való eltávolítása az elsődleges feladata, hanem a sejteket védi a toxikus hatásoktól, hozzájárul a barrier funkció kialakításához. Az ABCC2 elsősorban a hepatocyták apikális felszínén expresszálódik, de a proximális vesetubulusokban és a bélben is kifejeződik. Ez a szállítófehérje is fontos szerepet játszik endogén metabolitok, valamint a xenobiotikumok és azok metabolitjainak eliminálásában. Az ABCC3 specifikus funkciója még nem tisztázott, de biztosan szerepet játszik a szerves anionok biliáris és intestinális kiválasztódásában. Az ABCG2 a bélben korlátozza a toxikus anyagok felszívódását, a májban fokozza azok epébe történő kiválasztódását, így csökkenti a biológiailag hozzáférhető xenobiotikumok mennyiségét. A transzporterfehérjéket kódoló gének polimorfizmusai megváltoztathatják a gének expresszióját, a transzporterek szubsztát felismerését, aktivitását és működését.

A Steroid and Xenobiotic Receptor (*NR1I2*, alias *SXR*) gén a sejtmag receptor szupercsaládba tartozik. Az *SXR* fehérje több más olyan gén transzkripcióját is aktiválja, melyek részt vesznek a potenciálisan káros xenobiotikumok, gyógyszerek és endogén vegyületek metabolizmusában és szekréciójában. A MTX anyagcseréjében közvetlen szerepet nem tölt be, a gyógyszer rezisztencia kialakításában a génátíródás szabályozása szintjén vesz részt

Célkitűzés

Munkám során az alábbi céljaim voltak:

- A magyarországi osteosarcomás gyermekek adatainak feltérképezése. Az általános túlélés (OS) és az eseménymentes túlélés (EFS) vizsgálata. Retrospektív adatfeldolgozás során elemezni az adatokat a betegség kiterjedése és lokalizációja, szövettani altípusa szerint, a betegek életkora, neme, a műtét típusa, a tumor preoperatív kemoterápiára adott szövettani válasza, illetve a diagnózis ideje alapján.
- Az osteosarcoma kezelésének alappilléret jelentő nagy dózisú MTX kezelés farmakokinetikája, toxicitása és a túlélés közötti összefüggések vizsgálata osteosarcomás gyermekekben. Elemezni az összefüggéseket a prognosztikai és populációs paraméterek (nem, életkor, metastasis jelenléte, szövettani válasz és a rizikócsoportok), a farmakokinetikai paraméterek, illetve a toxicitás fellépése között. Megvizsgálni, hogy van-e kapcsolat a farmakokinetikai tényezők és a máj-, vese- illetve csontvelő-toxicitás között. Vizsgálni, hogy hogyan változik a toxicitás gyakorisága a kezelés során, továbbá megnézni, hogy az általános illetve az eseménymentes túlélés mutat-e összefüggést a farmakokinetikai paraméterekkel, illetve a toxicitási adatokkal.
- A nagydózisú MTX kezelés farmakokinetikájának és a toxicitás kialakulásának vizsgálata genetikai háttér szempontjából. Osteosarcomás gyermekek véréből DNS izolálása. A MTX metabolizmusában fontos szerepet játszó gének (*ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCC3*, *ABCC10*, *ABCG2*, *GGH*, *SLC19A1*, *SXR*) egy pontos nukleotid polimorfizmusainak (SNP) meghatározása. A polimorfizmusok és különböző farmakokinetikai paraméterek, valamint a toxicitás előfordulása közötti összefüggések vizsgálata.

Módszerek

Betegpopulációnk a Semmelweis Egyetem, II. sz. Gyermekklinikáján 1988 és 2006 között diagnosztizált 122 osteosarcomás betegből állt. Kezelésük a COSS-86, illetve COSS-96 protokoll alapján történt, mely neoadjuváns és adjuváns kemoterápiát, valamint radikális műtétet foglal magába. A 122 beteg kórlapjából retrospektív módon kigyűjtöttük a betegek életkorát, nemét, a diagnózis időpontját, a tumor lokalizációját és szövettani altípusát, áttét vagy lokális recidíva megjelenését, annak időpontját, a műtét típusát, a kemoterápiára adott szövettani választ, a betegek rizikócsoport besorolását és ezek függvényében vizsgáltuk az 5 éves általános (OS) és eseménymentes (EFS) túlélést.

Farmakokinetikai elemzésünkhöz a MTX adása után 6, 24, 36, 48 órával mért szérumszinteket, valamint a kezelést követő első heti legalacsonyabb összfehérje, fehérvérsejt, granulocita számokat, legmagasabb szérumszintű glutamát-piruvát-transzamináz (GPT), gamma-glutamil transzferáz (GGT), bilirubin, és kreatinin értékeket gyűjtöttük össze. A toxicitásra vonatkozó adatokat kategorizáltuk a Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTC) 3.0 verzió alapján. Az elemzéshez szükséges diszkretizáláshoz azt vettük figyelembe, hogy mennyire volt gyakori a toxicitás előfordulása. Máj- és csontvelő toxicitás sok betegnél előfordult a kezeléseket követően, ezért itt a klinikailag releváns kérdés az volt, hogy a súlyos akut, CTC szerint III.-IV. fokú toxicitás megjelenését milyen tényezők befolyásolják. A kreatinin értékekkel jellemzett glomeruláris vese toxicitás ritkán fordult elő, tehát ebben az esetben azt vizsgáltuk, hogy magát a toxicitás megjelenését milyen faktorok befolyásolják. A szérumszintekből koncentráció-idő görbe alatti területet (AUC_{0-48}), a kétkompartmentes ürülésnek megfelelően két felezési időt és plazma clearance-t számoltunk.

A farmakokinetikai adatgyűjtéssel párhuzamosan elkezdtük az osteosarcomás gyermekek véréből izolált DNS-ből a MTX metabolizmusában fontos szerepet játszó gének SNP-inek genotipizálását. Munkacsoportunk a nemzetközi irodalom alapján 12 gén összesen 46 egy pontos nukleotid polimorfizmusát genotipizálta. A genotipizálást PCR-RFLP és Real-Time PCR, valamint miniszekvenálás, olvadáspont analízis, GenomeLab SNPstream módszerekkel végeztük. Ezután ellenőriztük, hogy az egyes SNP-k az általunk vizsgált populáción Hardy-Weinberg egyensúlyban voltak-e, illetve kapcsolási vizsgálatokat végeztünk a redundáns elemzések elkerülése érdekében. Így az *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCC3*, *ABCC10*, *ABCG2*, *GGH*, *SLC19A1* és *SXR* gének összesen 29 polimorfizmusának hatását vizsgáltuk meg a klinikai adatokra.

A betegek általános és eseménymentes túlélését Kaplan-Meier módszerrel analizáltuk, a különböző szempontok szerint létrehozott betegcsoportokat log-rank teszttel hasonlítottuk össze. Annak eldöntésére, hogy van-e összefüggés a toxicitás fellépése és a farmakokinetikai paraméterek között, normál eloszlású változók esetében kétmintás t-próbát, nem normál eloszlású változók esetében Mann-Whitney féle U tesztet alkalmaztunk. Kategorikus változók közötti kapcsolat vizsgálatára χ^2 -négyzet tesztet használtunk. Farmakogenetikai elemzésünkben a fenti frekventista statisztikai módszerek mellett Bayes-i statisztikán alapuló elemzéseket is végeztünk. A használt módszer a kutatócsoport által kifejlesztett Bayes-háló alapú Bayes-i többszintű relevancia analízis (BN-BMLA) módszer.

Eredmények

A 122 gyermek közül 37 esetében fordult elő metasztázis, lokális recidíva, vagy mindkettő. A 37 betegből 15 esetében volt jelen a diagnóziskor korai metasztázis. Ezen betegek közül sajnos csak három gyermek élte túl a betegséget. A mi betegpopulációnkban 13 gyermeknél fordult elő késői metasztázis. Valamennyi esetben az áttét a tüdőre lokalizálódott, 4 esetben a regionális nyirokcsomókban is megjelent, 8 esetben pedig lokális recidíva is kísérte a tüdő folyamatot. A 13 beteg közül öten hosszú távú túlélők. 23 betegnél újult ki lokálisan a daganat, közülük 18 exitált.

A II. sz Gyermekklinikán 1988-2006 között kezelt osteosarcomás betegek 5 éves általános túlélése 68%, 5 éves eseménymentes túlélése 61,5% volt. A vizsgált prognosztikai tényezők közül szignifikáns hatásúnak találtuk az áttét képződést, a betegség operabilitását, a neoadjuváns kemoterápiára adott szövettani választ és a diagnóziskori életkort. Az áttét nélküli betegcsoport esetében az általános túlélés 79%, késői metasztázis esetén 41,6%, a már diagnóziskor felfedezhető korai áttét esetén 16,6% volt. Azok a betegek, akiknél csak biopszia történt, de a daganatot sebészileg nem lehetett eltávolítani, valamennyien meghaltak. Az amputációval vagy végtagmegtartó műtéttel kezelt betegek túlélése között azonban nem volt szignifikáns különbség ($p=0,3$). A neoadjuváns kemoterápiára adott szövettani válasz alapján szignifikáns különbséget találtunk a minimum 90% tumorsejt-nekrózist elérő ill. el nem érő betegek túlélése között ($p=0,018$). A 14 évnél fiatalabb gyermekek gyógyulási eredményei szignifikánsan jobbak ($p=0,008$). Nem találtunk különbséget a betegek túlélése szempontjából a diagnózis időpontját (1996 előtt vagy után), a betegek nemét, a szövettani altípust illetően, illetve aszerint, hogy a betegség az alsó vagy a felső végtagon lokalizálódott-e, bár a törzsi lokalizáció rossz prognosztikai faktornak felelt meg.

Farmakokinetika vizsgálatunkban 122 osteosarcomás beteg közül 98 beteg 989 MTX blokkjának adatait elemeztük. Szignifikáns összefüggéseket találtunk a farmakokinetikai paraméterek és a toxicitás fellépése között. Súlyos májtoxicitásban szenvedő betegeknél szignifikánsan magasabb volt a csúcskoncentráció ($p=10^{-7}$) és a 48 órás görbe alatti terület ($p=10^{-7}$), miközben alacsonyabb volt a MTX clearance ($p=5 \times 10^{-5}$). Gyakrabban fordult elő nephrotoxicitás magasabb 24 órás MTX szérumszintek után ($p=10^{-7}$). A csontvelő-toxicitás előfordulása összefüggést mutatott a magasabb 24 órás MTX szérumszintekkel ($p=4 \times 10^{-4}$) és a magasabb 48 órás MTX szérumszintekkel ($p=0,001$). A farmakokinetikai paraméterekben és a toxicitás előfordulásában nem volt szignifikáns különbség a nem, az életkor, a metastasis jelenléte és a szövettani válasz szempontjából. Jelentős különbséget találtunk azonban rizikócsoporthoz szerint. A magas rizikócsoporthoz alacsonyabb volt a 48 órás görbe alatti terület ($p=10^{-6}$). A standard rizikócsoporthozúak között gyakoribb volt a májtoxicitás, mint a magas rizikójú csoportban ($p=0,0083$).

A 48 órás MTX szérumszint a Cox proportional hazards modell teszt szerint szignifikáns korrelációt mutatott az eseménymentes ($p=0,047$) és az általános túléléssel ($p=0,008$) is. Magasabb szérumszintek esetében jobb volt a betegek túlélése. A csúcskoncentráció és a túlélés kapcsolatát vizsgálva a különbség nem volt szignifikáns az 1000 $\mu\text{mol/l}$ feletti ill. alatti csúcskoncentrációjú betegek túlélésében ($p=0,061$), de az a tendencia volt megfigyelhető, hogy az 1000 $\mu\text{mol/l}$ feletti átlag csúcskoncentráció esetén jobbak voltak az eseménymentes túlélési eredmények. A toxicitás fellépése és a terápia kimenetele között nem volt összefüggés.

Farmakogenetikai vizsgálatunkba 62 beteg összesen 571 MTX blokkjának adatait vontuk be. Először a *GGH* és *SLC19A1* gének polimorfizmusai és a MTX kinetika illetve toxicitás közötti összefüggéseket kerestük. Míg a *GGH*-401 C>T polimorfizmus esetében nem volt szignifikáns különbség ($p=0,1$), addig az *SLC19A1* 80AA genotípusú betegcsoportban alacsonyabb volt a 24 órás MTX clearance, mint az *SLC19A1* 80G allélt hordozók körében ($p=0,04$). A 48 órás szérumszint MTX szint értékei szignifikánsan alacsonyabbak voltak a *GGH*-401 TT genotípusú betegeknél, mint a C allélt hordozó beteg csoportban ($p=0,016$), míg az *SLC19A1* 80G>A polimorfizmus esetében nem volt szignifikáns különbség ($p=0,53$). Ezek az eredmények koherensek az *SLC19A1* transzporter molekula és a *GGH* enzim farmakokinetikai szerepével, hiszen az *SLC19A1*-nek a MTX kinetika kezdeti fázisában van szerepe, míg a gamma glutamil hidroláznak az ún. celluláris eliminációs fázis alatt. A súlyos akut májkárosodás előfordulása ritkább volt a *GGH*-401TT csoportban, mint a C allélt hordozókban ($p=0,00061$), és gyakoribb az *SLC19A1* 80AA

homozigóta betegeknél, mint a G allélt hordozóknál ($p=0,00245$). A különbség erősödött, ha az *SLC19A1* AA genotípusú betegeknél a *GGH*-401TT genotípus védő hatása nem volt jelen, tehát az *SLC19A1* 80AA és *GGH*-401CC/CT genotípusúakat hasonlítottuk össze a többi beteggel ($p=0,00014$).

Egyváltozós asszociációs vizsgálatunkban a MTX szintek magasabb első felezési idejei ($T_{a1/2}$) asszociáltak az *ABCG2* rs2231142 (OR:4,2, $p=0,037$) ritka alléljának jelenlétével, továbbá szintén pozitív összefüggést mutatott az *SXR* rs7643038 (OR:2,6, $p=0,02$), rs3814055 (OR:2,22, $p=0,04$) SNPk jelenléte. Az *ABCB1* rs9282564 (OR:4,2, $p=0,04$) variáns allél jelenléte esetében magasabb, az *ABCC3* rs4793665 (OR:0,24, $p=0,03$) variáns allél, illetve az *ABCC2* rs3740066 homozigóta variáns genotípus (OR:0,096, $p=0,01$) esetében alacsonyabb AUC_{0-48} értékek fordultak elő. Az *ABCB1* rs9282564 (OR:8,8, $p=0,02$) polimorfizmus jelenlétében a csúcs MTX koncentrációk magasabbak voltak. Az *SXR* rs3732361, rs3814058, rs6785049 SNPk variáns alléljainak jelenléte magasabb 48 órás MTX koncentráció értékekkel mutatott összefüggést. A májtoxicitás kockázata alacsonyabb volt az *SXR* rs3732361, rs3814058, rs6785049 SNP ritka alléljainak jelenlétében. A csontvelő toxicitás rizikója magasabb volt az *ABCC2* rs2273697 (OR:3,3, $p=0,02$) mutációja, alacsonyabb az *ABCC2* rs3740066 (OR:0,4, $p=0,02$) és az *SXR* rs3732361, rs3814058, rs6785049 SNPk ritka alléljainak esetében.

Egyváltozós BMLA módszerrel elemeztük, hogy a fent említett 29 SNP jelenléte hatással van-e farmakokinetikai tényezőkre (AUC_{0-48} , csúcs MTX szint, $T_{a1/2}$) valamint a máj, illetve csontvelő toxicitásra. Az adott SNP mellett zárójelben az ún. *a posteriori* valószínűség található, mely megadja, hogy az adott kapcsolatot az SNP és a vizsgált változó között a modellek milyen valószínűséggel támasztják alá. A görbe alatti területet aránylag nagyobb valószínűséggel befolyásolja az *ABCB1* rs9282564 (0,47), *ABCC3* rs4793665 (0,31), *GGH* rs3758149 (0,45) és az *SXR* rs3814058 (0,38). A csúcskoncentrációt nagy valószínűséggel befolyásolja az *ABCB1* rs9282564 (0,7), az *ABCC3* rs4793665 (0,6), *SXR* rs3814058 (0,58). A máj toxicitásra az *ABCC1* rs246219 (0,6), a csontvelő toxicitásra pedig az *ABCC2* rs717620 (0,56) jelenlétének lehet hatása.

Több célváltozós BMLA elemzésben a célváltozóhalmaz (farmakokinetikai és toxicitási adatok) minden lehetséges belső kapcsolatrendszerre és a magyarázó változók (életkor, nem, kapott dózis, infúzió hossza valamint a 29 SNP) minden lehetséges kapcsolatrendszerre mellett vizsgáljuk, hogy mely magyarázó változók relevánsak közvetlenül a célváltozók halmazára. Releváns hatásúnak találtuk a célváltozó halmazra az *ABCB1* rs928256 (0,6) SNPt, melynek az egyváltozós elemzésben is kimutatható hatása volt a görbe

alatti területre és a csúcskoncentrációra is, valamint az *ABCC3* rs4793665 (0,48) és a *GGH* rs3758149 (0,41) SNPket is, melyek az egyváltozós elemzéssel is kimutatható befolyással voltak a görbe alatti területre. Hatással bírhat a farmakokinetika-toxicitás összefüggés rendszerére az *SXR* rs3814058 (0,44), mely egyváltozós BMLA módszerrel a farmakokinetikai adatokkal volt kapcsolatba hozható, egyváltozós asszociációs módszerrel pedig a toxicitás megjelenésével mutatott összefüggést.

Következtetések

A II. sz. Gyermekklinikán 1988-2006 között diagnosztizált 122 osteosarcomás gyermek 5 éves általános túlélése 68%, eseménymentes túlélése 62% volt, melyek megfelelnek a legjobb nemzetközi adatoknak. Prognosztikai tényezőket elemezve eredményeink azt mutatták, hogy fiatalabb életkorban végtagmegtartó műtéttel és kemoterápiával kezelt, végtagra lokalizálódott, áttét nélküli osteosarcomás betegek túlélési esélyei kiválóak. Új megfigyelésnek bizonyult a nemzetközi irodalomban az az eredményünk, hogy a 14 év alatti osteosarcomás gyermekek eseménymentes túlélése szignifikánsan jobb volt, mint 14 év feletti betegtársaiké.

Farmakokinetikai elemzésünkől kitűnik, hogy magasabb MTX expozíciónál fokozott a toxicitás fellépésének veszélye, ugyanakkor magasabb MTX szérumszintek esetén szignifikánsan jobb volt a túlélés. Nem volt szignifikáns összefüggés a toxicitás és a túlélés között. Bár a MTX elhúzódó jelenléte a szervezetben súlyos mellékhatásokhoz vezet, előnyös, mert a terápia hatékonyságát növeli. Ezért eredményeink alátámasztják a nagy dózisú MTX terápia létjogosultságát, illetve azt a tényt, hogy akiknél nem elég magas a koncentráció-idő görbe alatti területtel jellemezhető MTX expozíció, azoknál a MTX dózis további emelése javíthat a kezelés hatékonyságán. A standard rizikócsoporthú betegeknek magasabb görbe alatti területet, alacsonyabb MTX clearance-t és fokozott májtoxicitást észleltünk, mint a magas rizikócsoporthúban. Eredményeink alapján a betegek diagnóziskori életkorát, illetve a neoadjuváns MTX blokkok során mért 48 órás görbe alatti területét figyelembe lehetne venni az osteosarcomás betegek rizikó besorolásánál.

Farmakogenetikai elemzéseink során azt találtuk, hogy a *GGH* -401TT genotípusú betegek MTX-eliminációja gyorsabb és a súlyos mellékhatások előfordulása ritkább, mint a -401CC/CT gyermekeknek. Az *SLC19A1* 80A allél jelenléte esetén a súlyos mellékhatások előfordulása gyakoribb, és a különbség erősödik, ha a *GGH* -401TT genotípus védő hatása nincs jelen a betegekben. További elemzésünk során 3 féle statisztikai módszerrel kerestünk

összefüggést a genotípus és a klinikai adatok között. Az *ABCB1* rs928256, az *ABCC3* rs4793665, a *GGH* rs3758149 és az *SXR* rs3814058 SNP-k mind az egyváltozós, mind a többváltozós vizsgálatokban releváns hatásúnak bizonyultak.

A farmakokinetikai és a fenti 4 SNP-n alapuló haplotípus adatok alapján lehetővé válhatna egy populációs farmakokinetikai modell kidolgozása, mely a MTX terápia megkezdése előtt egyénre szabottan előre jelezné a várható farmakokinetikai paramétereket, és így egyéni gyógyszeradagolást tenne lehetővé.

Saját publikációk jegyzéke

Értekezésben összefoglalt saját közlemények:

Hegy M, Gulácsi A, Cságoly E, Csordás K, Eipel OT, Erdélyi DJ, Müller J, Nemes K, Lautner-Csorba O, Kovács GT. Clinical relations of methotrexate pharmacokinetics in the treatment for pediatric osteosarcoma. *JOURNAL OF CANCER RESEARCH AND CLINICAL ONCOLOGY* 138:(10) pp. 1697-1702. (2012) IF: 2.558

Hegy M, Félné Semsei A, Jakab Z, Antal I, Kiss J, Szendrői M, Csóka M, Kovács G. [Results of the treatment of pediatric osteosarcoma in the Hungarian population].: Az osteosarcoma kezelésének eredményei gyermekkorban - hazai adatok. *MAGYAR ONKOLÓGIA* 56:(1) pp. 30-37. (2012)

Hegy M, Semsei AF, Jakab Z, Antal I, Kiss J, Szendroi M, Csoka M, Kovacs G. Good prognosis of localized osteosarcoma in young patients treated with limb-salvage surgery and chemotherapy. *PEDIATRIC BLOOD & CANCER* 57:(3) pp. 415-422. (2011) IF: 1.891

Értekezés témájában megjelent egyéb közlemények:

Csordas K, **Hegy M**, Eipel OT, Muller J, Erdelyi DJ, Kovacs GT. Comparison of pharmacokinetics and toxicity after high-dose methotrexate treatments in children with acute lymphoblastic leukemia. *ANTI-CANCER DRUGS* 24:(2) pp. 189-197. (2013) IF: 2.407

Csordas K, Eipel O, **Hegy M**, Csoka M, Pap E, Kovacs G. Pharmacokinetic analysis of high-dose methotrexate treatments in children with hematologic malignancies. *ORVOSI HETILAP* 152:(40) pp. 1609-1617. (2011)

Majoros Xenia, Székelyhidi Zita, Csóka Monika, Erdélyi Dániel, **Hegy Márta**, Cságoly Edit, Kovács Gábor. Citosztatikus kezelések korai és késői nefrotoxicitása. *GYERMEKGYÓGYÁSZAT* 59:(4) pp. 214-218. (2008)

Egyéb témában megjelent közlemények:

Eipel OT, Nemeth K, Torok D, Csordas K, **Hegyi M**, Ponyi A, Ferenczy A, Erdelyi DJ, Csoka M, Kovacs GT. The glucocorticoid receptor gene polymorphism N363S predisposes to more severe toxic side effects during pediatric acute lymphoblastic leukemia (ALL) therapy. *INTERNATIONAL JOURNAL OF HEMATOLOGY* 97:(2) pp. 216-222. (2013) IF: 1.268

Lautner-Csorba O, Gézsi A, Semsei Á, Antal P, Edélyi DJ, Schermann G, Kutszegi N, Csordás K, **Hegyi M**, Kovács G, Falus A, Szalai C. Candidate gene association study in pediatric acute lymphoblastic leukemia evaluated by Bayesian network based Bayesian multilevel analysis of relevance. *BMC MEDICAL GENOMICS* 5: Paper 42. 15 p. (2012) IF: 3.693

Semsei AF, Erdelyi DJ, Ungvari I, Csagoly E, **Hegyi M**, Kiszél PS, Lautner-Csorba O, Szabolcs J, Masat P, Fekete G, Falus A, Szalai C, Kovacs GT. ABCC1 polymorphisms in anthracycline induced cardiotoxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *CELL BIOLOGY INTERNATIONAL* 36:(1) pp. 79-86. (2012) IF: 1.482