

# **A gyógyszer-metabolizáló képességhez igazított személyre szabott immunszuppresszív kezelés májtranszplantáción átesett betegeknél**

Doktori tézisek

**Dr. Csikány Nóra**

Semmelweis Egyetem  
Elméleti és Transzlációs Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezetők:

Dr. Monostory Katalin, Ph.D., tudományos főmunkatárs

Dr. Kóbori László, Ph.D., MTA doktora, egyetemi tanár

Hivatalos bírálók:

Dr. Hagymási Krisztina, Ph.D., egyetemi docens

Dr. Csapó Zsolt, Ph.D., osztályvezető főorvos

Szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Sándor József, Ph.D., egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Lengyel Gabriella, Ph.D., med. habil., egyetemi docens

Dr. Dede Kristóf, Ph.D., főorvos

Budapest

2022

# 1. Bevezetés

A májtranszplantáció, mint indikáció világszerte elfogadott megoldás a végstádiumú májelégtelenségben szenvedő betegek számára. A túlélést több tényező is befolyásolja: a beültetett donor szerv minősége, a műteti technika, az alapbetegség, kilökődés előfordulása, illetve az alkalmazott immunszuppresszív terápia és a gyógyszeres kezelés okozta nem-kívánt hatások előfordulása. Lényeges szempont az alkalmazott szűk terápiás spektrumú immunszuppresszív gyógyszerek megfelelő dozírozása, különösen a korai posztoperatív időszakban.

A klinikai gyakorlatban a kalcineurin inhibitorok adagolás indulásakor a testtömeg, majd a vérszint alapján történik. Túladagolásuk esetén vesekárosodás alakulhat ki, a legyengített immunrendszer következtében fertőzések léphetnek fel, az aluldozírozás pedig a beültetett májgraft kilökődését okozhatja. Metabolizmusukban a CYP3A4 és CYP3A5 enzimek vesznek részt, melyek genetikai polimorfizmusa magyarázatot adhat a betegeknél tapasztalható eltérő gyógyszer metabolizmusra, ugyanakkor figyelembe kell venni a CYP3A expresszió mértékét is, mely különböző behatásokra változhat. Temesvári és munkatársai korábban megállapították, hogy a máj CYP3A4 enzim aktivitása és a fehérvérsejtekben mérhető CYP3A4 mRNS expresszió között szoros korreláció van, vagyis a CYP3A4 fehérvérsejtekben történő aktuális expressziójából következtethetünk a máj CYP3A4 aktivitására a donor perifériás vérből izolált fehérvérsejtek felhasználásával. Az összefüggés alapján kifejlesztett CYPtest<sup>TM</sup> vizsgálat egy olyan diagnosztikai rendszer, mely nemcsak a CYP enzimek DNS

analízissel kimutatható génhibáit (CYP-genotipizálás), hanem a gyógyszer-metabolizmusban jelentős szerepet játszó CYP enzimek expressziójának meghatározását is lehetővé teszi (CYP-fenotipizálás). Kutatásunk során azt vizsgáltuk, hogy a beültetésre kerülő májgraft CYP3A-státuszának (donor *CYP3A5* genotípus és *CYP3A3* mRNS expresszió) meghatározásával meghatározható-e a beteg aktuális kalcineurin inhibitor szükséglete. Továbbá vizsgáltuk, hogy a májgraft CYP3A-státuszához igazított immunszuppresszív terápia milyen előnyökkel jár a hagyományos klinikai gyakorlathoz képest.

## **2. Célkitűzések**

A májtranszplantációt követő időszakban fontos az immunszuppresszív gyógyszerek megfelelő kezdő dózisának megválasztása és vérszintjének szűk terápiás tartományban való megtartása. Ugyanazon dózis a betegeknél eltérő gyógyszer szinteket eredményezhet, amely részben az immunszuppresszív hatóanyagok metabolizmusában és eliminációjában részt vevő enzimek működésére (CYP enzimek) vezethető vissza. Az enzimek működését egyrészt a genetikai változatosság, másrészt külső (gyógyszeres kezelés, dohányzás) és/vagy belső (kor, nem, betegségek, hormonális állapot) tényezők befolyásolják.

Jelen kutatómunka célja, hogy a májtranszplantációval egyidőben történt gyógyszer-metabolizáló képesség meghatározásával segítséget nyújtson a beavatkozáson átesett betegek immunszuppresszív kezelésének optimalizálásához, amellyel megelőzhető a súlyos nem-kívánt hatások kialakulása, javítható a májgraft és a beteg túlélése.

Az alábbi kérdésekre kerestünk válaszokat:

- Milyen összefüggés van a donor máj CYP3A-státusza (*CYP3A5* genotípus és *CYP3A4* expresszió) és a kalcineurin inhibitorok recipienseknél kialakult vérszintje között a korai posztoperatív időszakban?
- A beültetésre került máj CYP3A-státusza alapján előre meghatározható-e a terápiás ciklosporin, illetve takrolimusz vérszinthez szükséges dózis?
- Milyen alapvető különbségek (takrolimusz vérszint beállítás, nem-kívánt hatások) vannak a donor CYP3A-státusza alapján kezelt, és a kontroll (klasszikus protokoll alapján kezelt) betegcsoport takrolimusz terápiájában?

### **3. Módszerek**

#### **A vizsgálatokba bevont betegek**

A célkitűzésben megfogalmazott kérdések megválaszolásához két egymásra épülő vizsgálat-sorozatot végeztünk májtranszplantáción átesett betegeknél. A májátültetések a Semmelweis Egyetem Transzplantációs és Sebészeti Klinikáján történtek, a műtéttani lépéseket a Klinikai standard protokollja szerint végezték.

Az első vizsgálat során májtranszplantációval egyidőben meghatároztuk 131 beültetésre kerülő máj *CYP3A5* genotípusát és *CYP3A4* mRNA expresszióját real-time PCR technikával a donor perifériás vérének felhasználásával, valamint összefüggést kerestünk a donorok CYP3A-státusza és a recipiensekben kialakult kalcineurin

inhibitor (takrolimusz, ciklosporin) kialakult szérumszintje ( $C_0/D$ ), illetve a terápiás vérszint eléréséhez szükséges dózis között.

A második vizsgálat során a donor CYP3A-státusza alapján történő takrolimusz terápia előnyeit határoztuk meg. Két betegcsoportot hasonlítottunk össze: 1) az ismeretlen CYP3A-státusú, úgynevezett kontroll csoportba tartozó betegek ( $n=101$ ) takrolimusz terápiáját a hagyományos klinikai protokoll szerint alkalmaztuk (a kezdő takrolimusz dózist a testsúly, majd a további dózisokat a kialakuló vérszint alapján állítottuk be). 2) A CYP3A-státusz alapján kezelt betegek (CYPtest csoport,  $n=112$ ) a donor *CYP3A5* genotípusa és *CYP3A4* mRNS expressziója alapján szükség esetén a protokolltól eltérő, módosított takrolimusz kezelésben részesültek. Az összehasonlító vizsgálatához kigyűjtöttük a betegek demográfiai adatait (Simmelweis Egyetem Transzplantációs és Sebészeti Klinika, Irattár), illetve a műtétet követő 20 napos időintervallumra vonatkozó adatokat (esetleges nem-kívánt hatásokat, az alkalmazott immunszuppresszív gyógyszerek típusát/napi dózisát/vérszintjét, hospitalizációs napok számát, az intenzív osztályon eltöltött időt, a graftműködés és veseműködés minőségét). A májgraft működésének minőségéről a májfunkciós paraméterek (szérum bilirubin, protrombin, glutamát-oxálacetát-transzamináz (GOT), glutamát-piruvát-transzamináz (GPT)), míg a veseműködés minőségéről a vesefunkciós paraméterek (karbamid vérszint, szérum kreatinin szint) változásából lehetett következtetni. Rögzítettük a korai posztoperatív időszakban előforduló rejekeciós epizódokat és fertőzéseket is.

A Semmelweis Egyetem Transzplantációs és Sebészeti Klinikája, illetve a Természettudományi Kutatóközpont Metabolikus Gyógyszerkölsönhatások Kutatócsoportja rendelkezik a

Tudományos és Kutatásetikai Bizottság szükséges engedélyeivel humán minták tudományos célból történő felhasználásához (4799-0/2011-EKU). A kutatásokat az egészségügyről szóló 1997. évi CLIV. törvény és a 23/2002 az Egészségügyi Miniszteri Rendelet alapján végeztük el a Helsinki Nyilatkozatnak megfelelően. A betegek teljeskörű tájékoztatást követően írásbeli hozzájárulásukat adták a vizsgálatok elvégzéséhez. A vérminták levétele donorok esetében a szervkivétel idején, míg a recipiensek kalcineurin inhibitor vérszintjének meghatározásához szükséges vérvétel minden esetben a reggeli gyógyszer-bevétel előtt történt.

### **Fehérvérsejt izolálás**

A vizsgálatok elvégzéséhez a vérmintákat EDTA tartalmú vérvételi csőben hűtve szállították a Természettudományi Kutatóközpontba, lényeges szempont volt, hogy a levételtől számított 4 órán belül feldolgozásra kerüljenek. A fehérvérsejtek, majd a DNS izolálása után meghatározásra került a beültetett májgraft *CYP3A5* genotípusa, illetve a fehérvérsejtekből RNS-izolálás és mRNS mennyiségi meghatározását követően a *CYP3A4* expressziója.

### **CYP génhibák kimutatása TaqMan próbákkal**

A genotipizálás TaqMan próbák felhasználásával történt (BioSearch Technologies, Novato, CA) real-time polimeráz láncreakció (PCR) technikát alkalmazva, melynek során a *CYP3A5*\*3 allélra jellemző, báziscserével járó SNP-t (6986A>G) határoztuk meg. Kétféle, különböző hullámhosszon emittáló fluoreszcens festékkel jelölt próbát alkalmaztunk, mely során könnyedén elkülöníthető volt a vad típusú és a mutációt hordozó allél. A PCR végén mért fluoreszcens

jelek relatív intenzitása alapján megkülönböztettünk (allél diszkrimináció): homozigóta vad típusú (*CYP3A5\*1/\*1*), homozigóta mutáns típus (*CYP3A5\*3\*3*) és heterozigóta genotípusú (*CYP3A5\*1/\*3*) donorokat. A reakciókhoz Luminaris Probe qPCR Master Mix-et (Thermo Fisher Scientific) használtunk, a gyártó által megadott hőmérséklet-protokoll szerint.

### **CYP3A4 mRNS szintek meghatározása kvantitatív real time PCR-ral**

A CYP3A5 genotípus meghatározása után a CYP3A4 mRNS expresszió mértékét határoztuk meg, mely során először a teljes RNS-t a donor fehérvérsejtjeiből extraháltuk. Az RNS preparátumokat (3 ug) reverz transzkripcióval alakítottuk át cDNS-é Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) alkalmazásával a gyártó által közölt utasítások alapján. A humán cDNS-ből real-time PCR mérés történt KAPA Fast Probes Mastermix (KAPA Biosystems, Cape Town, Dél-Afrika) és UPL-próbák alkalmazásával (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország). A CYP3A4 mRNS mennyiségét a gliceraldehyd 3-foszfát dehidrogenáz szinjéhez (GAPDH, Microsynth AG, Balgach, Svájc) viszonyítva határoztuk meg. GAPDH gén úgynevezett „house-keeping” gén, expressziója különböző behatásokra nem változik. A CYP3A4 expresszió alapján (CYP3A4/GAPDH arány) Temesvári és munkatársai szerint 3 kategóriába sorolhatjuk a májgraftokat:  $10^{-6}$  érték alatt gyenge metabolizáló (PM),  $10^{-6}$  és  $10^{-4}$  között átlagos metabolizáló (IM), valamint  $10^{-4}$  érték felett extenzív metabolizálókról (EM) beszélünk.

### **Kalcineurin inhibitor vérszint meghatározás**

A transzplantáció után 6 órával a protokoll alapján kalcineurin inhibitor kezelés kezdődik a gyógyszer szint monitorizálásával. Kalcineurin inhibitorként ciklosporint (Sandimmun Neoral, Novartis Hungária) vagy takrolimuszt (Prograf, Astellas Pharma) alkalmaznak naponta két alkalommal (12 órás különbséggel).

A kezdeti kalcineurin inhibitor dózist a betegek testtömegéhez (mg/ttkg) igazítják, majd az előzetesen adagolt kalcineurin inhibitor vérkoncentrációk alapján szabályozzák a további dózisokat a szokásos klinikai protokoll szerint. A szükséges kalcineurin inhibitor mennyiséget a  $(\text{cél } C_0 / \text{aktuális } C_0) \times \text{aktuális kalcineurin inhibitor dózis}$  képlet segítségével számolják ki.

A betegek napi 0,1 mg/kg takrolimuszt vagy 10 mg/kg ciklosporint kapnak orálisan, melyeket a protokoll szerinti vérszintekhez állítanak be, optimálisan 10-15 ng/ml cél vérszintre a takrolimusz és 200-300 ng/ml cél vérszintre a ciklosporin esetén. Terápiás gyógyszer szint monitorozást az első héten minden nap, a második héten pedig minden második napon végeznek. A recipiensektől a reggeli gyógyszer bevétel előtt levett vérmintákból a biokémiai, hematológiai paraméterek, illetve a kalcineurin inhibitor szint meghatározás az adott intézet helyi laboratóriumában történt (Simmelweis Egyetem Transzplantációs és Sebészeti Klinika). A kalcineurin inhibitor vérszintet enzim 'immunoassay' vizsgálattal határoztuk meg (takrolimusz: TACR Flex Dimension Dade Behring Inc., Newark, DE; ciklosporin: Cyclosporine Flex on Dimension RxL HM, Dade Behring Ltd, Milton Keynes, Egyesült Királyság).



## **A graft működés és a takrolimusz okozta nem-kívánt hatások meghatározása**

Posztoperatív időszakban rögzítettük a takrolimusz okozta nem-kívánt hatások (akut vesekárosodás, akut rejekció, fertőzések) előfordulásának gyakoriságát. A beültetett májgraft működését is monitorizáltuk, rögzítettük a primer graftműködési elégtelenség (PNF, primary non-function), illetve a kezdeti rossz graftfunkció (IPF, initial poor function) gyakoriságát. Az akut vesekárosodásra a vesefunkciós paraméterek romlásából következtettünk (szérum karbamid- és kreatinin-szint emelkedés, becsült glomerularis filtrációs ráta csökkenés). A májtranszplantációs beavatkozásnak (hosszú, bonyolult műtét, jelentős vérvesztéssel), a hypotensio-nak, szeptikus ischaemia-nak (CRP-szint emelkedés, hemodinamikai instabilitás, vér/vizelet fertőzöttség), valamint a hepatorenalis szindrómának (műtétet megelőzően is létező gyenge vesefunkciója) tulajdonítható vesefunkció romlást nem tartottuk takrolimusz okozta vesekárosodásnak. A fentiekén túl, takrolimusz okozta vesekárosodásnak tekintettük, ha a szérum kreatinin-szint a takrolimusz kezelés alatt több, mint 0,5 mg/dl-el meghaladta a kezdeti értéket. A feldolgozott klinikai adatok alapján (műtéti technika, polytranszfúzió, dialízis, hosszú műtéti idő) az intraoperatív és perioperatív időszakra vonatkozó történések adatai a kapott eredményeket nem befolyásolták szignifikánsan. Az akut rejekcióra a májfunctiós paraméterek (szérum transzaminázok, alkalikus foszfatáz,  $\gamma$ -glutamil-transzferáz, és/vagy szérum bilirubin koncentráció) emelkedéséből következtettünk, azonban az akut rejekciót minden esetben májbiopszia szövettani értékelése alapján

állapítottuk meg. A rejekeció mértékének megállapításához Banff-sémát alkalmaztunk.

### **Statisztikai elemzés**

Az első vizsgálat során a beültetett donor máj CYP3A-státusza alapján megkülönböztettük azokat a donorokat, akik legalább egy *CYP3A5\*1* allélt hordoztak és *CYP3A5* expresszálónak tekintettük, míg azokat, akiknél *CYP3A5\*3/\*3* genotípust azonosítottunk *CYP3A5* nem-expresszálónak tekintettük. Meghatároztuk továbbá a *CYP3A4* mRNA expressziójának mértékét, mely alapján a beültetett szervet alacsony, normál vagy magas *CYP3A4* expresszáló csoportokba soroltuk.

A kalcineurin inhibitorok szérumkoncentrációs értékeit a dózissal és a recipiens testtömegével normalizáltuk  $(\text{ng/ml}) \times (\text{mg dózis/ttkg})^{-1}$ . A normál kalcineurin inhibitor vérkoncentrációk és dózisek a különböző *CYP3A*-státuszú májgraftoknál a medián expressziós értékeket mutatták. A medián értékek lényegében nem mutattak különbséget a matematikai átlagértéktől (általában 1-2% és mindig 5% alatt). A csoportok közötti különbségeket a Kruskal-Wallis varianciaanalízissel, illetve a Dunn-féle összehasonlítási teszttel értékeltük.

A második vizsgálat során a *CYP3A*-státusz alapján beállított takrolimusz terápia és a hagyományos kezelés közötti különbségeket elemeztük. Kolmogorov-Szmirnov próba segítségével vizsgáltuk a biokémiai és klinikai paraméterek eloszlásait. A csoportok máj és vesefunkciót jellemző adatait, valamint a stabil terápiás immunszuppresszív vérszint eléréséhez szükséges időt Mann-Whitney U-teszt segítségével hasonlítottuk össze. Vizsgáltuk a CYPtest és a kontroll csoportoknál a takrolimusz alkalmazása során

jelentkező nem-kívánt hatások (vesekárosodás, fertőzés, rejekció), valamint a korai májgraft diszfunkció gyakoriságát is, a különbségek vizsgálatára Fisher-féle egzakt tesztet használtunk.

A statisztikai próbákat GRAPHPAD INSTAT (v3.05; GraphPad Software, San Diego, CA, USA) szoftver segítségével végeztük el. A  $P < 0,05$  érték volt statisztikailag szignifikánsnak tekinthető.

## 4. Eredmények

### Beültetett májgraft CYP3A-státusza

A májtranszplantáción átesett betegeknél vizsgáltuk a kaukázusi populációra jellemző, klinikailag releváns funkcióvesztő *CYP3A5*\*3 allél előfordulását. Az első vizsgálatba, valamint a második vizsgálatba a CYPtest csoportba bevont átültetésre került májgraftok ( $n=243$ ) nagy része ( $n = 195$ ) CYP3A5-t nem expresszáló donorokból származott (*CYP3A5*\*3/\*3), amely a funkcionális CYP3A5 enzim hiányát jelenti. A többi graft *CYP3A5*\*1/\*3 heterozigóta ( $n = 46$ ) és *CYP3A5*\*1/\*1 homozigóta vad genotípust ( $n=2$ ) hordozott, ezért CYP3A5 expresszálóknak minősítettük. *CYP3A5*\*3 allél gyakorisága 93,8% volt, mely hasonló a kaukázusi (fehér) populációknál leírt gyakorisági adatokhoz (88-97%). A funkcionális CYP3A5-t nem expresszáló májgraftoknál ( $n=195$ ) meghatároztuk a CYP3A4 mRNS expresszió mértékét a donor fehérvérsejtjeiből, amely alapján következtettünk a máj CYP3A4 aktivitására. A beültetett szerveket három, alacsony (PM), normál (IM) és magas (EM) CYP3A4 expressziójú csoportba soroltuk. A vizsgálatok azt mutatják, hogy a CYP3A5 enzimet nem expresszáló májgraftokban ( $n=195$ ), 47,69%-

ban (n=93) normál, 39,49 %-ban (n=77) csökkent, míg 12,82%-ban (n=25) fokozott CYP3A4 enzim aktivitás mutatkozott.

### **A donor máj CYP3A-státusza és a recipiens calcineurin inhibitor vérszintje közti összefüggés**

A májtranszplantációt követő korai posztoperatív időszakban fontos a megfelelő ciklosporin, illetve takrolimusz vérszint beállítása. Mivel a calcineurin inhibitorok terápiás tartománya szűk (ciklosporin: 200-300 ng/ml, takrolimusz: 10-15 ng/ml), a vérszint monitorozása elengedhetetlen. Az első vizsgálat során 131 májtranszplantáción átesett betegnél 34 esetben vezettünk be ciklosporin terápiát, a többi beteg takrolimusz terápiában részesült, mely alapján látható, hogy hazánkban is a takrolimusz a preferáltabb. Vizsgáltuk a donor máj CYP3A-státusza (*CYP3A5* genotípus és *CYP3A4* mRNA expresszió) és a recipienseknél kialakuló 'steady-state' calcineurin inhibitor vérszintek közti összefüggést. Az összehasonlíthatóság érdekében a calcineurin inhibitor vérszint értékeket a dózissal és a testtömeggel normalizáltuk. A donor CYP3A-státusza és a recipienseknél kialakult stabil ciklosporin, illetve takrolimusz vérszintek között szignifikáns összefüggést találtunk. A stabil ciklosporin vérszintek szinte megegyeztek a *CYP3A5*\*3/\*3 genotípusú magas *CYP3A4* expressziót mutató és a vad típusú *CYP3A5*\*1 allélt hordozó májgrafttal transzplantált betegekben [ $10,8 \pm 1,7$  és  $12,9 \pm 1,95$  (ng/ml)/(mg/ttkg)]. Azonban alacsony vagy normál *CYP3A4* expressziót mutató donor szerv esetében ötször, illetve háromszor magasabb stabil ciklosporin értékeket mértünk [ $66,2 \pm 7,43$  és  $35,0 \pm 4,94$  (ng/ml)/(mg/ttkg)]. Hasonló összefüggést találtunk a stabil takrolimusz vérszint és a donor máj CYP3A-státusza között. Nem mutatkozott szignifikáns különbség

a vad típusú *CYP3A5\*1* allélt hordozó és *CYP3A5\*3/\*3* genotípusú magas *CYP3A4* expressziót mutató donor szervvel transzplantált betegekben kialakult stabil takrolimusz vérszintek között [32,0±10,91 és 52,3±7,00 (ng/ml)/(mg/ttkg)]. Normál *CYP3A4* expresszió mérsékelt emelkedést, míg alacsony expresszió drasztikusan magas takrolimusz vérszintet eredményezett [91,05±6,65 és 235,4±25,92 (ng/ml)/(mg/ttkg)].

### **A kalcineurin inhibitorok terápiás vérszintjéhez szükséges dózis meghatározása a donor máj *CYP3A*-státusza alapján**

A korai posztoperatív időszakban a ciklosporin esetén az ideális gyógyszer szint ( $C_0$ ) 250 ng/ml (cél vérszint: 200-300 ng/ml), míg takrolimusz esetén 11 ng/ml (cél vérszint: 10-15 ng/ml) ajánlott. Májtranszplantált betegeknel vizsgáltuk a terápiás vérszint eléréséhez szükséges dózisirány és a donor *CYP3A*-státusza közti kapcsolatot. A *CYP3A5\*3/\*3* genotípusú *CYP3A4* átlagos expresszálo májgrafttal transzplantált betegekben megfelelő a hagyományos testsúly alapján alkalmazott kezdeti gyógyszerdozírozás (9,1±1,24 mg/kg ciklosporin és 0,109±0,009 mg/kg takrolimusz), azonban az alacsony *CYP3A4* expressziót mutató grafftal transzplantált betegek esetében alacsonyabb, feleannyi napi dózis (4,2±0,64 mg/kg ciklosporin és 0,047±0,011 mg/kg takrolimusz) javasolható. Amennyiben magas *CYP3A4* expresszió mutatkozik, illetve legalább egy *CYP3A5\*1* allélt hordoz a beültetett szerv, körülbelül 30 %-kal magasabb dózis ajánlott ciklosporin esetén (12,8±1,1 és 13,8±1,77 mg/kg) és kétszerannyi takrolimusz esetén (0,213±0,037 és 0,204±0,028 mg/kg). A terápiás vérszintek eléréséhez szükséges ciklosporin és takrolimusz dózisirányt mind a *CYP3A5* genotípus, mind a *CYP3A4* expresszió

mértéke befolyásolta. A vad típusú *CYP3A5\*1* allél hasonló hatást eredményezett a kalcineurin inhibitor dóziséigényre, mint a magas CYP3A4 expresszió. Továbbá a funkcionális CYP3A5-t nem expresszáló májgraft transzplantációját követően a CYP3A4 expresszió mértéke befolyásolta a kalcineurin inhibitor expozíciót és dózis-igényt a recipiensekben.

### **CYP3A-státusz alapján beállított takrolimusz terápia klinikai előnyei - összehasonlító klinikai vizsgálat**

Az utóbbi években a takrolimusz alkalmazása májtranszplantált betegeknél mindinkább előtérbe került a ciklosporinhoz képest, használatával jelentősen lecsökkent az akut rejekeciók aránya, és javultak a hosszú távú grafftúlélési eredmények is. Mivel a Semmelweis Egyetem Transzplantációs és Sebészeti Klinikáján is döntően a takrolimuszt alkalmazzák, így a második vizsgálatba csak takrolimusszal kezelt betegeket vontunk be.

A második vizsgálat során a takrolimusz kezelés indítása előtt a CYPtest csoportban (n=112) meghatároztuk a *CYP3A5* genotípust, illetve a CYP3A4 mRNA expresszió mértékét, mely alapján megállapítottuk a takrolimusz terápiás vérszinthez szükséges kezdeti dózist az első vizsgálat-sorozat takrolimuszra vonatkozó eredményei alapján. A klasszikus klinikai protokoll alapján javasolt 0,1 mg/kg dózist a funkcionális CYP3A5-t nem expresszáló, normál CYP3A4 mRNA expressziójú grafftal transzplantált betegeknél alkalmaztuk. A vad típusú *CYP3A5\*1* allélt hordozó grafftal transzplantált betegeknél 0,2 mg/kg dózist és a CYP3A5 enzimet nem expresszáló, magas CYP3A4 aktivitású májjal transzplantált betegeknél szintén magasabb dózist (napi 0,2 mg/ttkg) takrolimusz kezelést indítottunk, míg az

alacsony CYP3A4 expressziójú máj beültetését követően 0,05 mg/kg takrolimusz került alkalmazásra. A kontroll csoportban a gyógyszeres kezelés beállítása hagyományos módon, testtömeg (0,1 mg/kg), majd vérszint alapján történt. A transzplantációt követő első 20 napban mindkét csoportban sikerült elérni a terápiás céltartományt, bár különböző arányban. Az optimális takrolimusz vérszintet a transzplantációt követő 8. napra a CYPtest csoportban majd minden beteg (97,5%) elérte, míg a kontroll csoportban a betegek mindössze 59%-nál alakult ki a megfelelő takrolimusz vérszint.

A transzplantációt követő első 3 hétben vizsgáltuk a máj működést jellemző biokémiai és klinikai paramétereket. A máj működést jellemző paraméterek (GOT, GPT, szérumbilirubin szint, protrombin idő) gyorsan normalizálódtak mindkét csoportban. A korai posztoperatív időszakban előfordulhat elsődlegesen nem működő máj (PNF, primary non-function), melynek egyetlen megoldása végső esetben a retranszplantáció. A „kezdeti szegényes májműködés” (IPF, initial poor function) konzervatív terápia mellett normalizálódhat. A vizsgálatba bevont recipienséknél PNF nem fordult elő. Az IPF incidenciája mindkét csoportban hasonló volt (8,9% mindkét esetben), mely megegyezett a korábban leírt tanulmányok alsó értékeivel (8,7-24,7%). A vizsgált időszakban egyetlen beteget sem veszítettünk el.

A Semmelweis Egyetem Transzplantációs és Sebészeti Klinikáján a májtranszplantációt követően a betegek átlagosan 20-30 napot töltenek az intézetben. Vizsgálatunk során a májgraft CYP3A-státusz vezérelte takrolimusz terápiával kezelt csoport betegei 22 napot, mérsékelten, de szignifikánsan rövidebb időt töltöttek kórházi körülmények között, mint a hagyományos protokoll alapján kezelt

beteg (24 nap,  $P > 0,0174$ ). Az Intenzív Osztályon történő kezelés mindkét betegcsoport esetén megegyezett, átlagosan 7 nap volt.

### **Korai posztoperatív időszak nem-kívánt hatásainak elemzése**

Korai posztoperatív időszakban elemeztük a CYPtest és a kontroll csoportokban a nem-kívánt hatások előfordulásának gyakoriságát, a vesekárosodást, a fertőzések és az akut kilökődés incidenciáját. A profilaktikus gyógyszeres terápia mellett 3,6 % és 5,9 %-ban fordult elő fertőzés a CYPtest és a kontroll csoportban, mely értékek között nem találtunk szignifikáns különbséget. A szövettani eredmények alapján igazolt akut rejekciók száma szignifikánsan magasabb volt a kontroll csoportban, mint a CYPtest betegcsoportban (23,8% vs 3,6%  $P < 0,0001$ ). A legtöbb, akut rejekciót mutató betegnél a transzplantációt követő első héten 2-5 napig a takrolimusz vérszint a terápiás szint alatt volt ( $< 10$  ng/ml) volt (20/24 a kontroll és 2/4 a CYPtest csoportokban). A kontroll csoportban a kilökődés hátterében valószínűleg a beültetett szerv fokozott takrolimusz metabolizáló képessége állt. A normalizált takrolimusz vérszintek alapján feltételezhető, hogy 17 kontroll betegnél a *CYP3A5\*1* vad típusú allél jelenléte, vagy a *CYP3A5\*3/\*3* genotípusú magas CYP3A4 enzim aktivitású donortól származó májgraft vezethetett rejekcióhoz. A funkcionális CYP3A5-t expresszáló, vagy *CYP3A5\*3/\*3* genotípusú, de magas CYP3A4 expressziójú májgraft átültetése esetén a recipienseknél emelt takrolimusz dóziszra van szükség (0,2 mg/kg). További 7 kontroll betegnél a vérszint alapján normál CYP3A4 expresszió volt feltételezhető. A CYPtest csoportban 4 betegnél észleltünk akut kilökődést, melynek hátterében *CYP3A5\*3/\*3* genotípus mellett, normál CYP3A4 expressziót mértünk a donornál.



Takrolimuszhoz köthető vesekárosodás szignifikánsan gyakrabban fordult elő a kontroll csoport betegei között, mint a CYPtest csoportban (27% vs 8%  $P=0,0004$ ). Korábbi vizsgálatokban összefüggést mutattak ki a magas takrolimusz koncentráció (20-25 ng/ml) és a vesekárosodás előfordulása között, ezért vizsgáltuk a nephrotoxicitást a betegeknél, illetve az emelkedett takrolimusz szintekre is fókuszáltunk. A kontroll csoportban 27 esetben észleltünk akut vesekárosodást, ezek közül 13 esetben mutatkozott legalább 2 napig tartó magas takrolimusz vérszint ( $>20$  ng/ml) az első poszttranszplantációs héten. Meg kell jegyezni, hogy a vesekárosodást nem mutató kontroll betegeknél is akadt magas takrolimusz vérszint az első posztoperatív héten (8/74), azonban az előfordulási gyakorisága lényegesen alacsonyabb volt (magas takrolimusz koncentráció vesekárosodott betegeknél körülbelül 50%, egészséges vesefunkciójú kontroll betegeknél 10,8%,  $P=0,0001$ ). A CYPtest csoportban magas takrolimusz vérszintet ( $>20$  ng/ml) csak 5 esetben (5/112) mértünk, mely akut vesekárosodással (2/9) vagy anélkül (3/103) fordult elő, szemben a kontroll csoport betegeivel (13/27 és 8/74).

## **5. Következtetések**

A májtranszplantációt követően a betegek immunszuppresszív terápiája fontos a májgraft és a recipiens védelmében. Az alkalmazott szűk terápiás indexű kalcineurin inhibitorok, mint bázis szerek meghatározzák a kezelést, közülük mára a takrolimusz került előtérbe a ciklosporinnal szemben. A kalcineurin inhibitorok vérkoncentrációját nagyban befolyásolja a transzplantált májgraft

gyógyszer-lebontó képessége, mely a korai posztoperatív időszakban rendkívül fontos, hiszen a beültetett szerv ilyenkor a legsérülékenyebb. A májgraft CYP3A-státuszának (CYP3A5 genotípus és CYP3A4 expresszió) meghatározása segíti a kalcineurin inhibitor metabolizáló képesség megállapítását és a kezdeti ciklosporin, illetve takrolimusz terápia optimalizálását, azonban nem helyettesíti a folyamatos vérszint monitorozást. A terápiás vérszint gyors kialakulása csökkenti a toxikus nem-kívánt hatások (pl. vesekárosodás, fertőzés, grafitkárosodás) kialakulásának kockázatát és növeli a májgraft és a beteg túlélését.

Eredményeink alapján az alábbi új megállapításokat tesszük:

➤ A beültetett májgraft CYP3A-státusza (donor CYP3A5 genotípus és CYP3A4 expresszió) szignifikánsan befolyásolta a recipiensek kalcineurin inhibitor (ciklosporin, takrolimusz) vérszintjét.

➤ A donor máj CYP3A-státusza előre jelezte a terápiás vérszinthez szükséges kalcineurin inhibitor dózis-szükségletet májtranszplantált recipienseknél a korai posztoperatív időszakban, amely alapján javaslatokat fogalmaztunk meg a kezdeti ciklosporin, illetve takrolimusz dozírozással kapcsolatban (ciklosporin: CYP3A5\*1 13 mg/kg; CYP3A5\*3/\*3 magas CYP3A4 expresszió 13 mg/kg; normál CYP3A4 expresszió 9 mg/kg; alacsony CYP3A4 expresszió 4 mg/kg; takrolimusz: CYP3A5\*1 0,2 mg/kg; CYP3A5\*3/\*3 magas CYP3A4 expresszió 0,2 mg/kg; normál CYP3A4 expresszió 0,1 mg/kg; alacsony CYP3A4 expresszió 0,05 mg/kg).

➤ Májtranszplantált betegeknél a donor máj CYP3A-státusza alapján kialakított személyre szabott takrolimusz kezelés segítségével gyorsabban érhető el a stabil terápiás gyógyszer szint, mint a hagyományos klinikai gyakorlat alapján történő gyógyszerbeállítással (testtömeg alapján számított kezdő dózis, majd a takrolimusz vérszint alapján módosított dozírozás).

➤ A donor CYP3A-státusához igazított takrolimusz terápia szignifikánsan csökkentette a terápiás takrolimusz vérszint-tartománytól jelentősen eltérő koncentrációk, valamint a takrolimusz okozta nem-kívánt hatások (vesekárosodás, májgraft kilökődés) kialakulásának kockázatát, mely jelentősen javítja a betegek életminőségét és túlélési esélyeit.

## **6. Saját publikációk jegyzéke**

### **Az értekezés alapjául szolgáló közlemények**

Monostory K, Tóth K, Kiss Á, Háfra E, **Csikány N**, Paulik J, Kóbori L. (2015) Personalizing initial calcineurin inhibitor dosing by adjusting to donor CYP3A-status in liver transplant patients. Br J Clin Pharmacol, 80(6): 1429-37.

doi: 10.1111/bcp.12747 IF: **3,830**

**Csikány N**, Kiss Á, Déri M, Fekete F, Minus A, Tóth K, Temesvári M, Sárváry E, Bihari L, Gerlei Zs, Kóbori L, Monostory K. (2021) Clinical significance of personalized tacrolimus dosing by adjusting to donor CYP3A-status in liver transplant recipients. Br J Clin Pharmacol, 87(4): 1790-1800.

doi: 10.1111/bcp.14566 IF: **4,340\*\***

\*\*Várható IF érték.

A disszertációhoz kapcsolódó publikációk összesített impakt faktora:  
**8,17**