

**VILNIAUS UNIVERSITETAS  
MEDICINOS FAKULTETAS**

Baigiamasis darbas

**Didelių dozių metotreksato uždelsto išsiskyrimo iš organizmo rizikos veiksniai**

**Risk Factors of Delayed Elimination of High Dose Methotrexate**

Studentas/ė (vardas, pavardė), grupė: **Liudas Lukas Stakėnas** VI kursas, 15 gr.

Katedra/ Klinikos kurioje ruošiamas ir ginamas darbas **Klinikinės medicinos instituto  
Vaikų ligų klinika**

Darbo vadovas

Doc. dr. Goda Elizabeta Vaitkevičienė  
(pedagoginis vardas, mokslo laipsnis, vardas, pavardė)

Konsultantas (jei yra)

(pareigos, vardas, pavardė)

Katedros arba Klinikos vadovas

Prof. dr. Augustina Jankauskienė  
(pedagoginis vardas, mokslo laipsnis, vardas, pavardė)

2022-05-20

Studento elektroninio pašto adresas [liudas.stakenas@mf.stud.vu.lt](mailto:liudas.stakenas@mf.stud.vu.lt)

## TURINYS:

### SANTRAUKA 3psl.

1. ĮVADAS 4psl.
  - 1.1 Bendroji dalis 4psl.
  - 1.2 Temos aktualumas 6psl.
  - 1.3 Tyrimo tikslas 8psl.
  - 1.4 Tyrimo uždaviniai 8psl.
2. TIRIAMIEJI IR METODAI 8psl.
3. STATISTINIAI METODAI 10psl.
4. REZULTATAI 10psl.
  - 4.1 Rizikos veiksnių vertinimas 12psl.
    - 4.1.1 Lytis 12psl.
    - 4.1.2 Leukemijos imunofenotipas 13psl.
    - 4.1.3 Leukemijos rizikos grupė 15psl.
    - 4.1.4 Didelių dozių metotreksato infuzijos eilės numeris 16psl.
    - 4.1.5 Slaugos standartizavimo gairių įvedimas 18psl.
    - 4.1.6 Amžius 20psl.
    - 4.1.7 Albumino koncentracija 21psl.
  - 4.2. Gliukarpidazės skyrimo indikacijos 21psl.
5. APTARIMAS 22psl.
6. IŠVADOS IR PASIŪLYMAI 23psl.
7. LITERATŪROS SĄRAŠAS 24psl.

## SANTRAUKA

Metotreksatas yra antimetabolitas, struktūriškai panašus į folio rūgštį. Metotreksatas stabdo purinų ir pirimidinų sintezę ląstelėje, taip sukelia ląstelės žūtį. Gydomo metu metotreksatą būtina kombinuoti su folinę rūgštį. Metotreksatas plačiai naudojamas onkologinių, autoimuninių ligų gydymui yra svarbi NOPHO ALL2008 protokolo skirta ūminę limfoblastinę leukemiją dalis. Netinkamai skiriamas metotreksatas sukelia daugybę pavojingų toksinių reakcijų, viena pagrindinių iš jų – ūminis inkstų pažeidimas. Siekiant sumažinti metotreksato toksinių reakcijų pasireiškimą ieškoma uždelsto metotreksato išsiskyrimo rizikos veiksnių. Lietuvoje NOPHO ALL2008 protokolas taikytas nuo 2008 metų iki 2018 metų pabaigos. Per šį laiką gydyta 168 pediatriškai ūminės limfoblastinės leukemijos pacientai, skirta 1210 didelių dozių metotreksato infuzijų. Šiame tyrime pagal surinktus šių pacientų duomenis nustatyti uždelsto metotreksato išsiskyrimo rizikos veiksniai: vyriška lytis, T ląstelių ūminė limfoblastinė leukemija, vidutinė ūminės limfoblastinės leukemijos rizikos grupė, gydymas iki slaugos standartizavimo ir prehidratacijos pailginimo iki 18 valandų, vyresnis amžius.

Metotreksatas, didelių dozių metotreksatas, ūminė limfoblastinė leukemija, NOPHO ALL2008 protokolas, ūminis inkstų pažeidimas, gliukarpidazė

## **ABSTRACT**

Methotrexate is an antimetabolite, structurally similar to folic acid. Methotrexate interferes with purine and pyrimidine synthesis thus killing the cell. Folinic acid has to be co-administered when treating patients with methotrexate. Methotrexate is widely used to treat oncological and autoimmune diseases and is an integral part in the of the NOPHO ALL2008 protocol that is used to treat acute lymphoblastic leukemia. If used carelessly, methotrexate can cause a variety of toxic reactions, one of the most important being acute kidney injury. In the pursuit to minimize methotrexate toxicity a significant number of studies are trying to identify the risk factors of delayed methotrexate elimination. The NOPHO ALL2008 protocol was used in Lithuania between 2008 and 2018. During this period 168 pediatric acute lymphoblastic leukemia patients received 1210 doses of high dose methotrexate. In this study we analyzed this population and identified the following risk factors of delayed elimination of high dose methotrexate: male gender, T cell acute lymphoblastic leukemia, intermediate acute lymphoblastic leukemia risk group, treatment before the implementation of standardized supportive care with pre-hydration duration of 18 hours, older age.

Methotrexate, high dose methotrexate, acute lymphoblastic leukemia, NOPHO ALL2008 protocol, acute kidney injury, glucarpidase.

## 1. ĮVADAS

### 1.1. Bendroji dalis

Metotreksatas (MTX) yra antimetabolitas (1), savo struktūra panašus į folio rūgštį (2) (1 paveikslas). Veikdamas kaip folio rūgšties analogas ir jos konkuruojantis inhibitorius, slopina fermentų, kurių veiklai reikalinga folio rūgštis, veiklą taip trikdydamas DNR ir RNR bei baltymų sintezę (3,4). Metotreksatas plačiai naudojamas reumatinių, autoimuninių ir onkologinių ligų, ypač leukemijų, limfomų, osteosarkomos gydymui (5). Kartais metotreksatas priskiriamas ir prie provaistų, kadangi beveik visas į ląsteles patekęs metotreksatas fermento folilpoliglutamatsintetazės yra paverčiamas aktyviais metabolitais - metotreksato poliglutamatais (4). Dėl struktūrinio panašumo į folio rūgštį, metotreksatas į ląsteles patenka per redukuotą foliatų nešiklio (RFC1) transmembraninį kanalą (2 paveikslas). Nedidelis metotreksato kiekis ląstelę taip pat pasiekia per su protonais susietą foliatų transporterio (PCFT) ir foliatų receptoriaus  $\alpha/\beta$  (FR $\alpha/\beta$ ) kanalus (3). Metotreksatas ląstelių replikaciją stabdo keliais keliais (3,4):

- 1) Foliatų ciklo inhibavimas. Kadangi metotreksato poliglutamatai pasižymi didesniu afiniškumu foliatų ciklo fermentams, konkurenciniu būdu inhibuoja dihidrofoliato reduktazę (DHFR) ir taip neleidžia prie jos prisijungti folio rūgščiai. Tai nutraukia tetrahidrofoliato gamybą ląstelėje ir taip netiesiogiai stabdo timidino sintezę.
- 2) Timidino sintezės tiesioginis inhibavimas. Metotreksatas tiesiogiai stabdo timidino sintezę inhibuodamas timidilato sintetazę.
- 3) Metionino ciklo inhibavimas. Metotreksatas nutraukia metionino ciklą inhibuodamas fermentą metiltetrahidrofoliatreduktazę (MTHFR), ląstelėje ima kauptis homocisteinas.
- 4) *De novo* purinų sintezės inhibavimas. Metotreksatas blokuoja 5-aminoimidazol-4-karboxiamido ribonukleotido (AICAR) transformilazę inozino monofosfato ciklohidrolazę (ATIC) ir nutraukia *de novo* purinų sintezę ląstelėje.

Tokiu būdu metotreksatas sutrikdo tiek pirimidinų, tiek purinų sintezę (2 paveikslas), paveiktų ląstelių augimas yra sustabdomas ir galiausiai po kiek laiko žūsta (3). Kraujyje apie 60% metotreksato yra prisijungęs prie albumino (6).



metotreksato tirpumą 10 kartų. Iki 10% viso metotreksato kepenyse fermento aldehido oksidazės metabolizuojamas iki 7-hidroksimetotreksato. Nedidelis metotreksato kiekis išsiskiria su išmatomis (6).

Priklausomai nuo gydomos ligos ir gydymo protokolo metotreksatas gali būti skiriamas mažomis dozėmis arba didelėmis dozėmis. Didelėmis dozėmis laikomos metotreksato dozės  $\geq 500 \text{ mg/m}^2$  (7). Ūminės limfoblastinės leukemijos gydymui skiriama  $5000 \text{ mg/m}^2$  dozė 24 val. infuzija (8), o osteosarkomai net  $12000 \text{ mg/m}^2$  4 val. infuzija (9). Dėl sisteminio metotreksato poveikio tiek taikant gydymą mažomis, tiek didelėmis metotreksato dozėmis, pažeidžiamos ir sveikos, nepiktybinės ląstelės (6,10). Todėl norint išvengti metotreksato sukeliama sveikų ląstelių pažeidimo pacientui būtina skirti folininės rūgšties (6). Folininė rūgštis į ląstelę patenka per tą patį RFC1 transmembraninį kanalą ir aprūpina ląstelę 5,10-metiltetrahidrofoliatu, taip apeinant metotreksato pagrindinį taikinį dihidrofoliato reduktazę (3) (2 paveikslas). Folininė rūgštis leidžia dalinai atsinaujinti timidino sintezei ir metionino ciklui (3,4). Net mažomis dozėmis netinkamai vartojamas metotreksatas su nepakankama folininės rūgšties substitucija gali sukelti mirtinas komplikacijas (10). Taikant gydymą didelių dozių metotreksatu onkologinėmis ligomis sergantiems pacientams folininė rūgštis turi būti paskirta ne per anksti, kad neatgaivintų vėžinių ląstelių, ir ne per vėlai, nes po ilgesnio laiko net ir lėtesniu metabolizmu pasižyminčios sveikos organizmo ląstelės gali būti negrįžtamai pažeistos (6).

## 1.2. Temos aktualumas

Net ir tinkamai vartojamas metotreksatas gali sukelti daugybę šalutinių reakcijų. Pagrindinės metotreksato šalutinės reakcijos yra toksinis kepenų, odos ląstelių pažeidimas, opų formavimasis burnoje, gastrointestinis hemoraginis enteritas ir ūminis inkstų pažeidimas (6,11). Didelis dėmesys skiriamas ūminiam inkstų pažeidimui metotreksato infuzijos ir išsiskyrimo metu, kadangi jis savo ruožtu dar labiau blogina metotreksato išsiskyrimą, ir didina kitų toksinių reakcijų riziką. Ūminis inkstų funkcijos pažeidimas pasireiškia nuo 0,5 iki 40 % vaikų gydomų dėl ūminės limfoblastinės leukemijos ar osteosarkomos (6,12), bei nuo 2 iki 35 % visų suaugusiųjų pacientų gydomų didelių dozių metotreksatu (6,13). Kai kurių tyrėjų duomenimis didelių dozių metotreksato skyrimo metu išsivystęs ūminis inkstų pažeidimas koreliuoja su reikšmingai sutrumpėjusiu pacientų išgyvenamumu (14).

Siekiant išvengti nepageidaujamo toksinio metotreksato poveikio svarbu atsižvelgti ir, jei įmanoma, koreguoti uždelsto metotreksato išsiskyrimo rizikos veiksnius. Iki galo nėra sutariama dėl šių rizikos veiksnių, jų svarumo, tačiau dažniausiai literatūroje rizikos

veiksniais ar bent galimais rizikos veiksniais įvardinama: paciento amžius (vyresnių išsiskyrimas ilgesnis), lytis (berniukų išsiskyrimas ilgesnis), pirma metotreksato infuzija (dalyje tyrimų pastebėta tendencija, jog pirmos infuzijos didelių dozių metotreksato išsiskyrimo laikas yra ilgesnis nei likusių dozių), didelė bilirubino koncentracija prieš infuziją, hipoalbuminemija, sumažėjęs glomerulų filtracijos greitis, nepakankama hidratacija infuzijos metu ir po jos, nepakankama diurezė, patologinis ir nekompensuotas skysčių netekimas (12,15-17). Taip pat yra duomenų, kad metotreksato išsiskyrimo laiką ilgina kartu vartojami vaistai: protonų pompos inhibitoriai, ciklosporinas, furozemidas, trimetoprimas ir sulfametoksazolas, penicilinas, aspirinas (4,18-22). Tyrimų duomenimis >50% kreatinino koncentracijos padidėjimas po didelių dozių metotreksato infuzijos lyginant su kreatinino koncentracija iki infuzijos pradžios yra uždelsto didelių dozių metotreksato išsiskyrimo prognostinis rodiklis. Šio prognostinio rodiklio jautrumas 32%, o specifiškumas 99% (23).

Po infuzijos susidarius labai didelei metotreksato koncentracijai ir/arba esant labai blogam metotreksato išsiskyrimui pacientui indikuotina skirti preparatą gliukarpidazę. Gliukarpidazė suskaido kraujo plazmoje esantį metotreksatą iki dviejų neaktyvių metabolitų – doeksiaminopteroinės rūgšties (DAMPA) ir glutamo rūgšties. Gliukarpidazė pasižymi didesniu afiniškumu metotreksatui nei folininei rūgščiai. Dėl didelės molekulinės masės gliukarpidazė cirkuliuoja tik kraujotakoje, nepatenka į audinius ir negali suskaidyti metotreksato, jau patekusio į ląsteles, todėl po gliukarpidazės paskyrimo negalima nutraukti folininės rūgšties, kuri patenka į ląsteles ir sumažina metotreksato toksinį poveikį ląstelėms. Taip pat po kiek laiko dalis metotreksato persiskirsto iš ląstelių atgal į kraujotaką, ir metotreksato koncentracija kraujyje vėl padidėja (6).

Vaikams sergantiems ūmine limfoblastine leukemija metotreksatas yra vienas svarbiausių skiriamų preparatų (24). Didelių dozių metotreksatu paremta gydymo konsolidacija, taip pat metotreksatas skiriamas ir gydymo palaikymo etape. Vaikų ūminės limfoblastinės leukemijos atveju metotreksatas skiriamas ir intratekaliai, taip sumažinant naviko išplitimo centrinėje nervų sistemoje riziką. Gydant pagal NOPHO ALL2008 protokolą, priklausomai nuo rizikos grupės, vaikai gavo nuo penkių iki aštuonių didelių dozių metotreksato infuzijų (25). Protokolas taikytas visiems ūmine limfoblastine leukemija sergantiems vaikams nuo 2008 metų iki 2018 metų. 2014 metais Vaikų ligoninės vaikų onkohematologijos centre buvo sudaryta ir pradėta taikyti standartizuotos slaugos rekomendacijos, kuriose apibrėžta 3000ml/m<sup>2</sup> hiperhidracija su šarminimu, periodinis šlapimo pH monitoravimas prieš, per ir po didelių dozių metotreksato infuzijos ir hidracijos iki didelių dozių metotreksato infuzijos (prehidracijos) 18 valandų trukmė.

### 1.3. Tyrimo tikslas

Ištirti didelių dozių metotreksato uždelsto išsiskyrimo rizikos veiksnius vaikams, gydytiems VULSK Vaikų onkohematologijos centre pagal NOPHO ALL2008 protokolą ir įvertinti SSR veiksmingumą.

### 1.4. Tyrimo uždaviniai

- 1) Nustatyti uždelsto metotreksato išsiskyrimo laiko rizikos veiksnius vaikams, gydytiems vaikų liginės vaikų onkohematologijos centre pagal NOPHO protokolą
- 2) Palyginti metotreksato išsiskyrimo laiką perioduose nuo 2008-ųjų iki 2013-ųjų pabaigos ir nuo 2014-ųjų iki 2018-ųjų pabaigos
- 3) Palyginti inkstų funkcijos pažeidimų skaičiaus pokyčius perioduose nuo 2008-ųjų iki 2013-ųjų pabaigos ir nuo 2014-ųjų iki 2018-ųjų pabaigos

## 2. TIRIAMIEJI IR METODAI

Tyrimo populiaciją sudaro visi vaikai nuo vienerių iki aštuoniolikos metų, gydyti Vilniaus universiteto liginės Santaros klinikų Vaikų liginės vaikų onkohematologijos skyriuje pagal tarptautinį ūminės limfoblastinės leukemijos gydymo protokolą NOPHO ALL2008. Į tyrimą neįtraukti pacientai, kurie mirė iki pradėdant gydymą didelių dozių metotreksatu. Pacientai gydyti pagal NOPHO ALL2008 protokolą, jei jiems nuo 2008 m. sausio iki 2018 m. gruodžio buvo diagnozuota T ląstelių ūminė limfoblastinė leukemija (T-ŪLL) arba B ląstelių pirmtakų ūminė limfoblastinė leukemija (preB ŪLL).

Kiekvienam pacientui, gydytam pagal NOPHO ALL2008 protokolą, buvo priskirtas NOPHO kodas, susidedantis iš diagnozės nustatymo metų, septyneto ir diagnozavimo eilės numerio tais metais (pavyzdys: pacientui, kuriam pirmam 2015 metais buvo diagnozuota ūminė limfoblastinė leukemija, buvo suteiktas kodas 2015701). Naudojantis šia sistema šiame darbe buvo užtikrintas pacientų konfidencialumas, juos identifikuojant tik pagal kodą. Visų pacientų duomenys apie leukemiją buvo suvesti į NOPHO leukemijų registrą, o specifinė kiekvienai metotreksato infuzijai informacija buvo surinkta į VOHC duomenų bazę. Bendrą informaciją apie leukemiją sudarė: paciento lytis, ūminės limfoblastinės leukemijos imunofenotipas, rizikos grupė, amžius diagnozės metu. Specifinė kiekvienai metotreksato infuzijai: infuzijos numeris, infuzijos data, infuzijos pradžios paros laikas, visi tai infuzijai priklausantys metotreksato koncentracijos kraujyje rezultatai ir šių mėginių paėmimo laikas, kreatinino kiekis prieš metotreksato infuziją ir visi kreatinino matavimų rezultatai po infuzijos pradžios su mėginio paėmimo laiku, albumino koncentracija iki metotreksato infuzijos ir minimali koncentracija po infuzijos ir data, bet ne vėlesnė nei dvi savaitės po



metotreksato infuzijos. Tyrimui buvo gautas Vilniaus regioninio bioetikos komiteto leidimas, leidimo kopija pridedama.

Duomenys analizuoti naudojant IBM SPSS programą. Tiriamieji pacientai buvo priskirti dviem amžiaus grupėms pagal amžių diagnozės metu: pacientai kuriems buvo iki 10 metų diagnozės metu ir pacientai kurie buvo vyresni nei 10 metų amžiaus diagnozės metu.

Laikyta, kad metotreksatas išsiskyrė iš organizmo, kai jo išmatuota koncentracija siekė  $< 0,2 \mu\text{M/ml}$ . Bendro standartinio sutarimo kokios trukmės metotreksato išsiskyrimą laikyti uždelstu nėra, todėl buvo pasirinkta vertės, viršijančias 75 proc. kvartilės ribas, laikyti uždelstu išsiskyrimu. Metotreksato išskyrimas iki  $0,2 \mu\text{M}$  koncentracijos per trumpesnę negu 48 valandų laikotarpį šiame tyrime laikytas kaip labai greitas metotreksato išsiskyrimas, o išsiskyrimo laikas ilgesnis nei 66 valandos, laikytas uždelstu metotreksato išsiskyrimu. Ūminis inkstų pažeidimas indentifikuotas kaip  $>50\%$  kreatinino padidėjimas po didelių dozių metotreksato infuzijos lyginant su kreatinino koncentracija prieš infuziją. Jeigu prie metotreksato infuzijos nebuvo pradinės kreatinino koncentracijos ir/arba bent vienos kreatinino koncentracijos po didelių dozių metotreksato infuzijos, tokia infuzija nebuvo įtraukiama į ūminio inkstų pažeidimo vertinimą.

Gliukarpidazės indikacijų metotreksato koncentracijų apibrėžimai buvo pasirinkti pagal tarptautinio protokolo NOPHOALL2008 gliukarpidazės skyrimo gaires. Gliukarpidazę rekomenduojama skirti kai metotreksato koncentracija 24 valandą nuo metotreksato infuzijos pradžios yra didesnė nei  $250 \mu\text{M}$  ir/arba 36 valandos – didesnė nei  $30 \mu\text{M}$  ir/arba 42 valandos - didesnė nei  $10 \mu\text{M}$ . Pagal šiuos kriterijus atrinktiems pacientams papildomai rinkta informacija: vertinta karščiavimas prieš ir per didelių dozių metotreksato infuziją, nepriklausomai ar buvo nustatytas tikslus infekcijos sukėlėjas, realiai paskirtos hidratacijos iki didelių dozių metotreksato infuzijos trukmė, jei buvo prieinami tyrimai vertinta ar albumino koncentracija kraujyje iki didelių dozių metotreksato infuzijos buvo paciento amžiaus normos ribose, antrosios didelių dozių metotreksato infuzijos atveju tikrinta ar pacientui išsivystė alerginė reakcija į kartu skirtą asparaginazę.

Kadangi vienas svarbiausių tiriamų uždelsto didelių dozių metotreksato išsiskyrimo rizikos veiksnių yra hidratacijos trukmė iki infuzijos pradžios, imtis buvo padalinta į du laikotarpius: gydyti nuo 2008-ųjų metų iki 2013-tųjų pabaigos ir gydyti nuo 2014-ųjų metų iki 2018-ųjų pabaigos. Šis tiriamųjų populiacijos padalijimas pasirinktas pagal slaugos standartų gydant pacientus didelių dozių metotreksatu standartizavimo laiką. Iki 2014-ųjų metų nebuvo vieningai visiems pacientams taikoma hidratacija iki didelių dozių metotreksato infuzijos pradžios,  $\text{NaHCO}_3$  skyrimas, hiperhidratacija  $3000\text{ml/m}^2$ , šlapimo pH sekimas. Taip

pat buvo sutarta, kad standartiškai visi pacientai iki pradedant didelių dozių metotreksato infuziją bus hidratuojami 18 valandų. Taigi nuo 2014-ųjų pradžios bendrai visi pacientai buvo hidratuojami ilgiau.

### 3. STATISTINIAI METODAI

Duomenų apdorojimas ir statistinė analizė atlikta SPSS programa. Kiekybinių kintamųjų skirtumams lyginti taikytas neparamestrinis Mann'o ir Whitney U testas. Tyrime kokybinių kintamųjų skirtumams nustatyti taikytas chi-kvadratu ( $\chi^2$ ) kriterijus, Fisher's Exact testas. Rezultatų skirtumas buvo laikytas statistiškai reikšmingu, jei gauta p reikšmė  $<0,05$ . Kokybiniais kintamiesiems taip pat apskaičiuota reliatyvi rizika.

### 4. REZULTATAI

Viso per NOPHO ALL2008 protokolo taikymo laiką, pagal šį protokolą gydyti 168 vaikai. Iš jų 98 buvo berniukai ir 70 mergaičių. Šių pacientų amžiaus diagnozės metu mediana 4,6 metai (1 lentelė). Didžioji dalis diagnozių buvo B ląstelių pirmtakų ūminė limfoblastinė leukemija – 144 atvejai, iš jų 82 atvejai tenka berniukams. T ląstelių ūminė limfoblastinė leukemija diagnozuota 24 pacientams, 16 iš jų berniukai. Pagal NOPHO ALL2008 protokolą pacientai skirstomi į rizikos grupes: standartinė rizikos grupė (SRG), vidutinė rizikos grupė (VRG), didelė rizikos grupė (DRG). Kai pacientui buvo nustatoma Filadelfijos chromosoma t(9;22) (EsPhALL), toliau jie buvo gydomi pagal EsPhALL protokolą. Tyrimo imtyje Daugiau nei pusė pacientų (52,4%) priskirti standartinei rizikos grupei, 38,1% vidutinei rizikos grupei, tik 14 didelei rizikos grupei (8,3%) ir dviem pacientams buvo nustatyta Filadelfijos chromosomos mutacija.

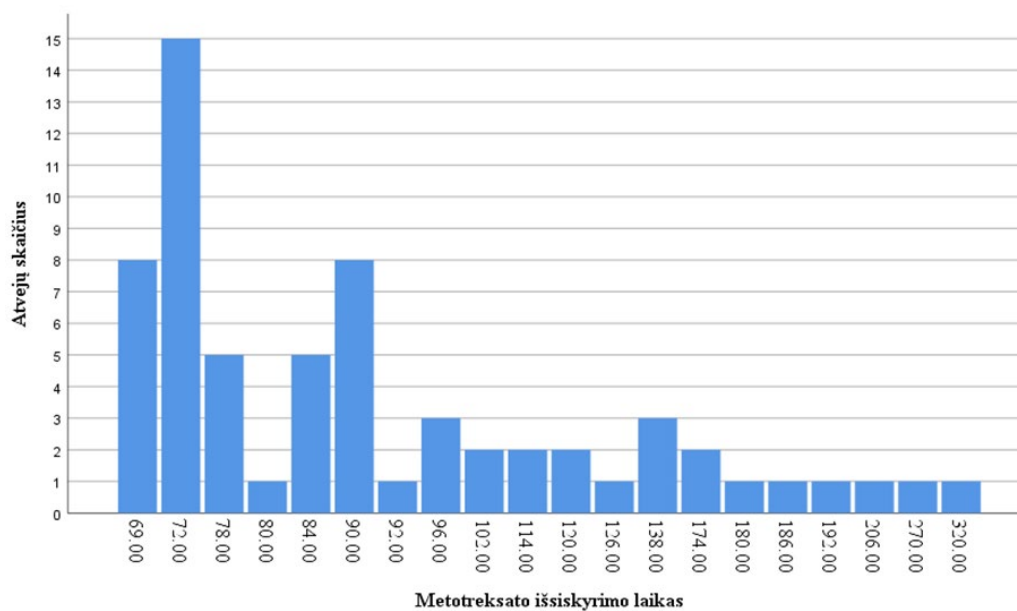
*1 lentelė. Leukemijos imunofenotipo, leukemijos rizikos grupės ir uždelsto metotreksato paveiktų pacientų skaičiai berniukų ir mergaičių tarpe*

	Berniukai	Mergaitės	Iš viso mergaičių ir berniukų	% nuo 168 pacientų
Amžius mediana	4,5 (min 1,1 max 17,3)	4,6 (min 1,0 max 16,1)	4,6 (min 1,0 max 17,3)	-
preB ŪLL	82 (56,9%)	62 (43,1%)	144	85,7%
T ŪLL	16 (66,7%)	8 (33,3%)	24	14,3%
SRG	48 (54,5%)	40 (45,5%)	88	52,4%

VRG	41 (64,1%)	23 (35,9%)	64	38,1%
DRG	7 (50,0%)	7 (50,0%)	14	8,3%
EsPhALL	2 (100,0%)	0 (0,0%)	2	1,2%
Uždelsto MTX išsiskyrimo paveiktų pacientų skaičius	33 (67,3%) Nuo 98 berniukų 33,7%	16 (32,7%) Nuo 70 mergaičių 22,7%	49	29,2%

*Min- mažiausia vertė, max- didžiausia vertė*

NOPHO ALL2008 protokole nurodoma, jog visi standartinės ir vidutinės rizikos grupių pacientai turėtų gauti 8 didelių dozių metotreksato infuzijas. Didelės rizikos grupės ir pacientų su Filadelfijos chromosomos mutaciją didelių dozių metotreksato infuzijų skaičiai gana individualūs, dažniausiai nulemti ligos eigos. Teoriškai tiriamosios imties pacientai turėjo gauti mažiausiai 1232 didelių dozių metotreksato infuzijas. Tačiau dalis standartinės ir vidutinės rizikos grupių pacientų gavo mažiau nei 8 didelių dozių metotreksato infuzijas. Tai galėjo nutikti dėl paciento mirties, koreguoto gydymo dėl gydymo komplikacijų, ligos progresavimo ir dėl to, ir retrospektyviai be detalaus ligos istorijų nagrinėjimo neatsekamų kitų priežasčių. Taigi realus didelių dozių metotreksato infuzijų skaičius buvo 1210. Visų metotreksato infuzijų išsiskyrimo laiko mediana 54 valandos, min 34 valandos, max 320 valandų, 75 proc. intervalas 48 val. – 66 val. Imtyje iš viso 64 infuzijų metu metotreksato išsiskyrimo laikas buvo uždelstas, tai yra ilgesnis nei 66 valandos (3 paveikslas).



*3 paveikslas. Uždelsto metotreksato išsiskyrimo laikai ir jų pasikartojimų skaičius tiriamųjų populiacijoje.*

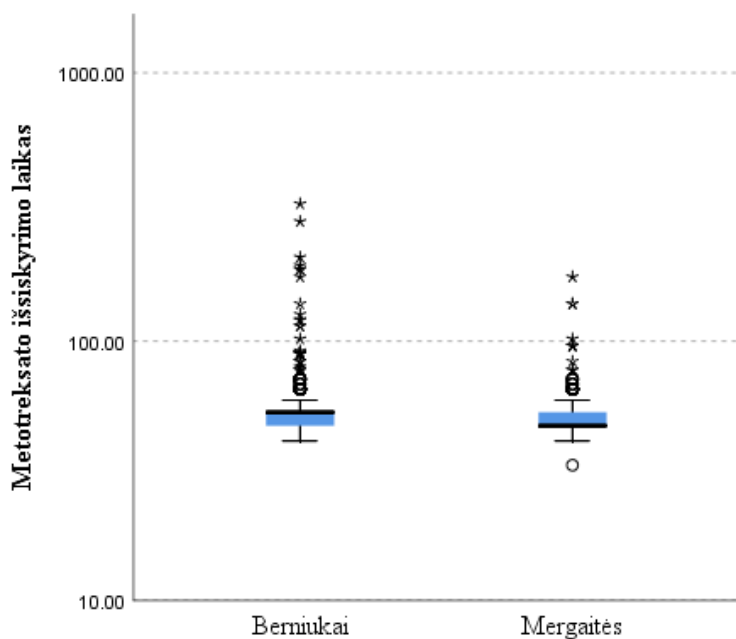
#### 4.1. Rizikos veiksnių vertinimas:

##### 4.1.1. Lytis.

Nustatyta, jog berniukų ir mergaičių metotreksato išsiskyrimo laiko medianos skiriasi reikšmingai ( $p < 0,001$ ). Berniukų metotreksato išsiskyrimo mediana - 54 valandos, mergaičių - 48 valandos (2 lentelė ir 4 paveikslas). Berniukams tenka 46 uždelsto metotreksato išsiskyrimo atvejai, tai sudaro 6,4% visų berniukų metotreksato infuzijų. Bent kartą metotreksato išsiskyrimas buvo uždelstas 33 berniukams (33,7%). Mergaitėms tenka 18 uždelsto metotreksato išsiskyrimo atvejų, tai sudaro 3,6% visų mergaičių metotreksato infuzijų. Bent kartą metotreksato išsiskyrimo laikas buvo uždelstas 16 mergaičių (22,7%). Apskaičiavus reliatyvią riziką nustatyta, jog berniukams uždelsto metotreksato išsiskyrimo rizika yra 1,76 karto didesnė nei mergaitėms.

*2 Lentelė. Metotreksato išsiskyrimo laiko medianų ir uždelsto metotreksato išsiskyrimo atvejų palyginimas berniukų ir mergaičių imtyse.*

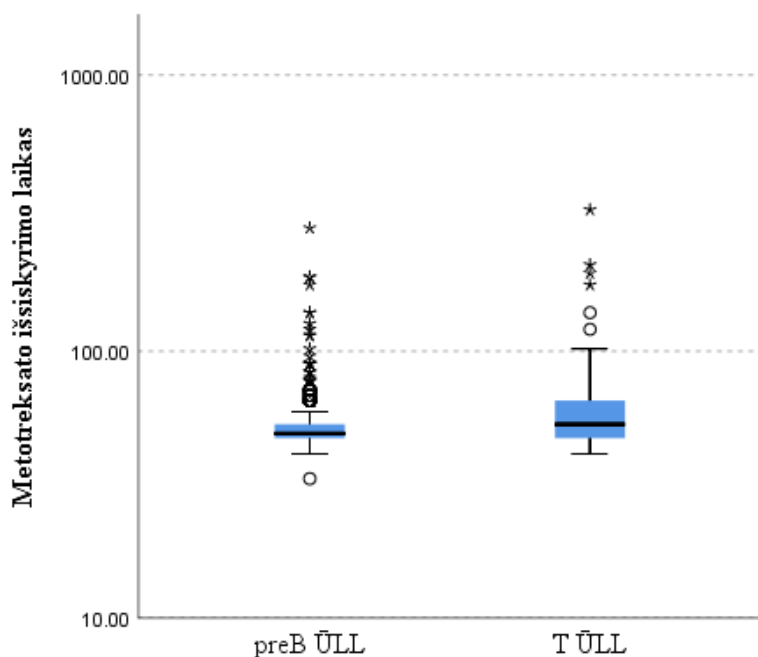
	Berniukai	Mergaitės	P vertės	Bendrai
MTX infuzijų skaičius	716 (59,2%)	494 (40,8%)	-	1210
Uždelsto MTX išsiskyrimo atvejų skaičius	46 (71,9%)	18 (28,1%)	0.036	64
	Nuo 716 infuzijų 6,4%	Nuo 494 infuzijų 3,6%		
MTX išsiskyrimo mediana	54 (min 42, max 320)	48 (min 34, max 174)	<0.001	54 (min 34 max 320)



4 paveikslas. Metotreksato išsiskyrimo laiko medianų berniukų ir mergaičių imtyse vizualizacija

#### 4.1.2. Leukemijos imunofenotipas.

Nustatyta, kad B ląstelių pirmtakų ūmine limfoblastine leukemija sergantys vaikai metotreksatą išskyrė greičiau, nei sergantieji T ląstelių ūmine limfoblastine leukemija. Metotreksato išsiskyrimo medianos atitinkamai 48 valandos ir 54 valandos (5 paveikslas),  $p < 0,001$ . B ląstelių pirmtakų ūminei limfoblastinei leukemijai tenka 42 uždelsto metotreksato išsiskyrimo atvejai, tai sudarė 4,0% visų infuzijų kurias gavo šia leukemija sergantys pacientai. Bent kartą metotreksato išsiskyrimas buvo uždelstas 36 pacientams su šia diagnoze. T ląstelių ūminei leukemijai tenka 22 uždelsto metotreksato išsiskyrimo atvejai, tai sudarė visų infuzijų kurias gavo šia leukemija sergantys pacientai. Bent kartą metotreksato išsiskyrimas buvo uždelstas 13 pacientų iš 24 su šia diagnoze (3 lentelė). Apskaičiavus reliatyvią riziką nustatyta, jog sergančiųjų T ląstelių ūmine limfoblastine leukemija uždelsto metotreksato išsiskyrimo rizika yra 3,54 karto didesnė nei sergančiųjų B ląstelių pirmtakų ūmine limfoblastine leukemija.



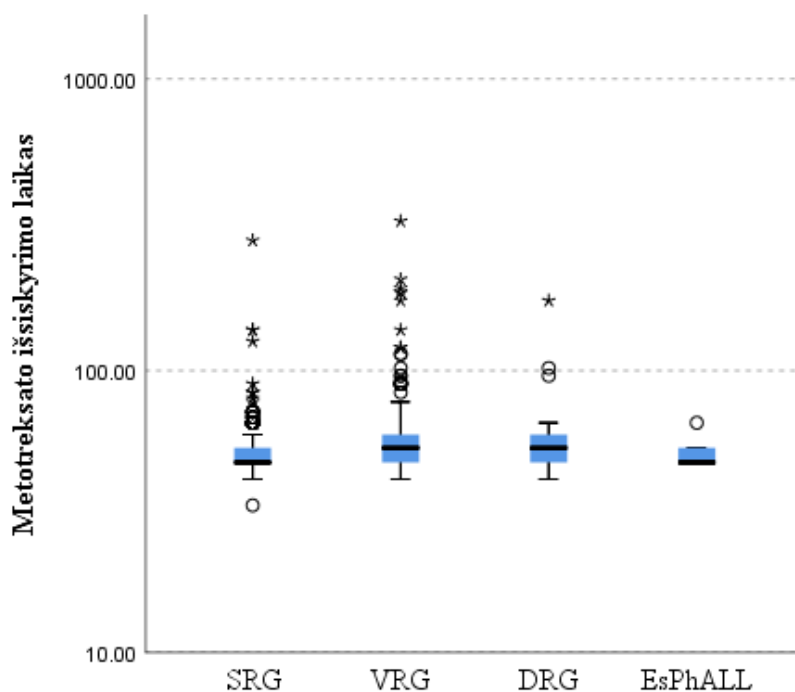
5 paveikslas. Metotreksato išsiskyrimo laiko medianų preB ŪLL ir T ŪLL imtyse vizualizacija

3 Lentelė. Metotreksato išsiskyrimo laiko medianų, uždelsto metotreksato išsiskyrimo atvejų ir paveiktų pacientų palyginimas preB ŪLL ir T ŪLL imtyse.

	preB ŪLL	T ŪLL	P vertė	Bendrai
MTX infuzijų skaičius	1054 (87,1%)	156 (12,9%)	-	1210
Uždelsto MTX išsiskyrimo atvejų skaičius	42 (65,6%)	22 (34,4%)	<0.001	64
	Nuo 1054 infuzijų 4,0%	Nuo 156 infuzijų 14,1%		
Uždelsto MTX išsiskyrimo paveiktų pacientų skaičius	36 (73,5%)	13 (26,5%)	-	49
	Nuo 144 preB ŪLL 25,0%	Nuo 24 T ŪLL 54,2%		
MTX išsiskyrimo mediana	48 (min 34, max 270)	54 (min 42, max 320)	<0.001	-

#### 4.1.3. Leukemijos rizikos grupė.

Standartinės rizikos grupės pacientų metotreksato išsiskyrimo laiko mediana buvo 48 valandos, vidutinės rizikos grupės 54 valandos, didelės rizikos grupės 54 valandos, Filadelfijos chromosomos mutacijos grupės 48 valandos (6 paveikslas). Statistiškai reikšmingi medianų skirtumai nustatyti tarp standartinės ir vidutinės rizikos grupių ( $p < 0,001$ ) bei standartinės ir didelės rizikos grupių ( $p = 0,048$ ). 19 standartinės rizikos grupės pacientų tenka 23 uždelsto metotreksato išsiskyrimo atvejai, tai sudaro 3,4% visų metotreksato infuzijų skirtų šiems pacientams. 27 vidutinės rizikos grupės pacientų tenka 38 uždelsto metotreksato išsiskyrimo atvejų, tai sudaro 8,1% visų metotreksato infuzijų skirtų šiems pacientams. Tik 3 pacientams priskirtiems didelei rizikos grupei po vieną kartą metotreksato išsiskyrimas buvo uždelstas, tai sudaro 5,2% visų metotreksato infuzijų skirtų šiems pacientams. Visi pacientai su Filadelfijos chromosomos mutacija visų infuzijų metu metotreksatą išskyrė iki 66 valandų. (4 lentelė). Reliatyvi uždelsto metotreksato išsiskyrimo rizika vidutinės rizikos grupės pacientams 2,39 karto didesnė nei standartinės rizikos grupės pacientams ir 1,57 karto didesnė nei didelės rizikos grupės pacientams. Reliatyvi uždelsto metotreksato išsiskyrimo rizika didelės rizikos grupės pacientams 1,52 karto didesnė nei standartinės rizikos grupės pacientams.



6 Paveikslas. Metotreksato išsiskyrimo laiko medianų SRG, VRG, DRG ir EsPhALL imtyse vizualizacija

4 lentelė. Metotreksato išsiskyrimo laiko medianų, uždelsto metotreksato išsiskyrimo atvejų ir paveiktų pacientų palyginimas SRG, VRG, DRG ir EsPhALL imtyse.

	SRG	VRG	DRG	EsPhALL	P vertė	Bendrai
MTX infuzijų skaičius	675 (55,8%)	467 (38,6%)	58 (4,8%)	10 (0,8%)	-	1210
Uždelsto MTX išsiskyrimo atvejų skaičius	23 (35,9%) Nuo 675 infuzijų 3,4%	38 (59,4%) Nuo 467 infuzijų 8,1%	3 (4,7%) Nuo 58 infuzijų 5,2%	0 (0,0%) Nuo 10 infuzijų 0,0%	SRG ir VRG =0.001	64
Uždelsto MTX išsiskyrimo paveiktų pacientų skaičius	19 Nuo 88 SRG 21,6%	27 Nuo 64 VRG 42,2%	3 Nuo 14 DRG 21,4%	0 Nuo 2 EsPhALL 0,0%	-	49
MTX išsiskyrimo mediana	48 (min 34, max 270)	54 (min 42, max 320)	54 (min 42, max 174)	48 (min 42, max 66)	SRG ir VRG <0,001 VRG ir DRG =0.048	-

#### 4.1.4. Didelių dozių metotreksato infuzijos eilės numeris.

I, II, III ir IV metotreksato infuzijų metotreksato išsiskyrimo medianos po 54 valandas, o V, VI, VII, VIII infuzijų medianos buvo po 48 valandas (5 lentelė ir 7 paveikslas). Statistiškai reikšmingi skirtumai pateikiami 6 lentelėje.

5 lentelė. 4 lentelė. Metotreksato išsiskyrimo laiko medianos, uždelsto metotreksato išsiskyrimo atvejai metotreksato infuzijoms nuo pirmosios iki paskutinės

MTX infuzijos numeris	MTX išsiskyrimo laiko mediana	Maksimalus MTX išsiskyrimo laikas	Minimalus MTX išsiskyrimo laikas	Uždelsto MTX išsiskyrimo atvejų	Iš viso MTX infuzijų

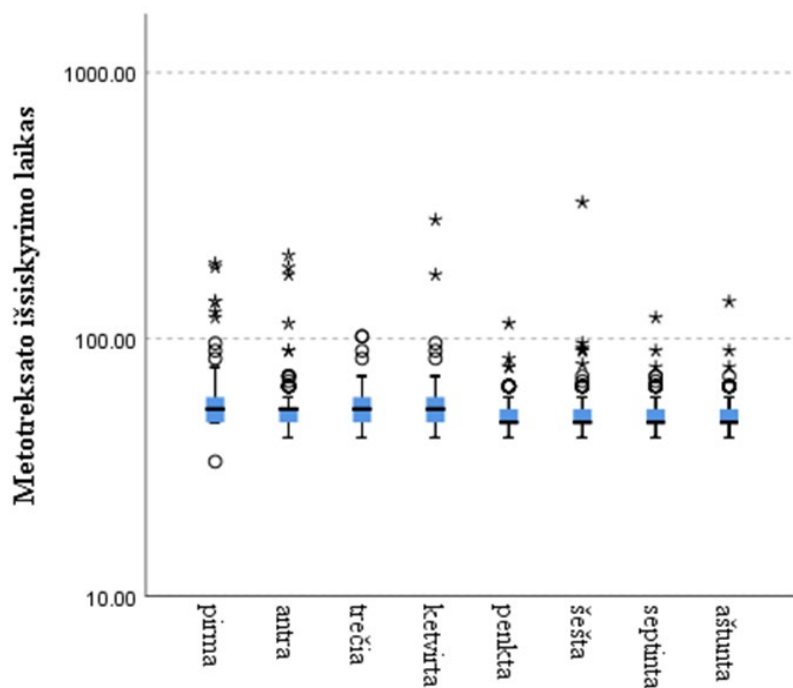


				skaičius	
I	54	192	34	16 (25,0%)	168 (13,9%)
II	54	206	42	8 (12,5%)	162 (13,4%)
III	54	102	42	8 (12,5%)	160 (13,2%)
IV	54	270	42	10 (15,6%)	158 (13,1%)
V	48	114	42	4 (6,3%)	149 (12,3%)
VI	48	320	42	8 (12,5%)	144 (11,9%)
VII	48	120	42	6 (9,4%)	137 (11,3%)
VIII	48	138	42	4 (6,3%)	131 (10,8%)

6 lentelė. Statistiškai reikšmingi metotreksato išsiskyrimo laikų medianų skirtumai tarp metotreksato dozių.

	1	2	3	4	5	6	7	8
1	1-1					0.044	0.002	<0.001
2		2-2					0.005	0.001
3			3-3		0.002	0.002	<0.001	<0.001
4				4-4	0.036	0.031	0.001	<0.001
5					5-5			
6						6-6		
7							7-7	

Žalia spalva pažymėti statistiškai reikšmingi skirtumai



*7 paveikslas. Metotreksato išsiskyrimo laiko medianų visoms aštuonioms metotreksato infuzijoms vizualizacija*

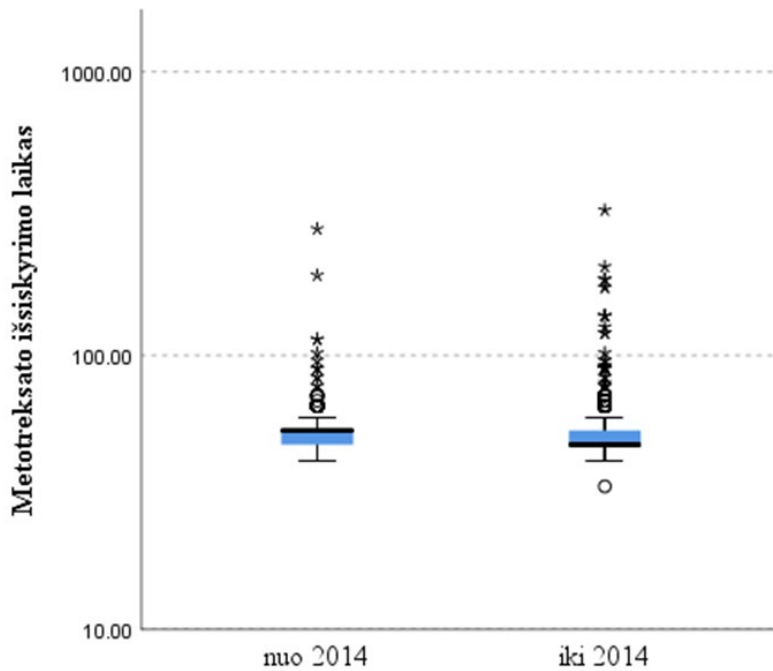
4.1.5. Slaugos standartizavimo gairių įvedimas.

Pacientų, gydytų iki slaugos standartizavimo ir prehidratacijos prailginimo metotreksato išsiskyrimo mediana buvo 48 valandos, po pakeitimų 54 valandos (8paveikslas). Tačiau medianos statistiškai reikšmingai nesiskyrė ( $p=0.992$ ). Iki slaugos standartizavimo 36 pacientams 48 infuzijų metu metotreksato išsiskyrimas buvo uždelstas, tai sudaro 7,7% visų metotreksato infuzijų skirtų iki 2014-ųjų metų. Po slaugos standartizavimo 13 pacientų 16 infuzijų metu metotreksato išsiskyrimo laikas buvo uždelstas, tai sudaro 2,7% visų nuo 2014-ųjų iki 2018-ųjų pabaigos skirtų metotreksato infuzijų (7lentelė). Apskaičiavus reliatyvią riziką nustatyta, jog iki slaugos standartizavimo uždelsto metotreksato išsiskyrimo rizika buvo 2,79 karto didesnė nei po slaugos standartizavimo. Taip pat šioms grupėms buvo vertinamas ir ūminis inkstų pažeidimas. Atmetus infuzijas, kurioms neužteko kreatinino duomenų tinkamam įvertinimui, liko 968 didelių dozių metotreksato infuzijos. Iš jų 66 infuzijų metu pasireiškė ūminis inkstų pažeidimas. Daugiau nei pusė ūminių inkstų pažeidimo atvejų pasireiškė, kai metotreksato išsiskyrimo laikas buvo normalus (47 infuzijos iš 66). Ūminis inkstų pažeidimas išsivystė 32 berniukams ir 13 mergaičių. Pusei visų T ląstelių ūmine limfoblastine leukemija sirgusių pacientų bent kartą pasireiškė ūminis inkstų pažeidimas. Iki 2014-ųjų metų ūminis inkstų pažeidimas pasireiškė 49 didelių dozių metotreksato infuzijų metu arba 10,7% visų infuzijų šiame periode, o nuo 2014-ųjų tik 17 kartų arba 3,3% šio periodo infuzijų metu. Be to reikšmingai sumažėjo ( $p<0.001$ ) ūminio inkstų pažeidimo atvejų pasikartojimų tam pačiam pacientui: iki 2014-ųjų tokių atvejų buvo 19, o nuo 2014-ųjų nustatyti tik 2 pakartotinio inkstų pažeidimo atvejai (8 lentelė).

*7 lentelė. Metotreksato išsiskyrimo laiko medianų, uždelsto metotreksato išsiskyrimo atvejų ir paveiktų pacientų palyginimas periodu iki 2014 metų ir nuo 2014 metų*

	Iki 2014	Nuo 2014	P vertė	Bendrai
MTX infuzijų skaičius	627 (51,8%)	583 (48,2%)	-	1210
Uždelsto MTX išsiskyrimo atvejų skaičius	48 (75,0%)	16 (25,0%)	<0,001	64
	Nuo 627 infuzijų 7,7%	Nuo 583 infuzijų 2,7%		

Uždelsto MTX išsiskyrimo paveiktų pacientų skaičius	36 (73,5%)	13 (26,5%)	-	49
	Nuo 90 pacientų 40,0%	Nuo pacientų 78 16,7%		
MTX išsiskyrimo mediana	48 (min 34, max 320)	54 (min 42, max 270)	0,992	-



8 paveikslas. Metotreksato išsiskyrimo laiko medianų periodu iki 2014 metų ir nuo 2014 metų vizualizacija.

8 lentelė. Ūminio inkstų pasireiškimo ir pakartotinio ūminio inkstų pažeidimo palyginimas periodu iki 2014 metų ir nuo 2014 metų.

	Iki 2014	Nuo 2014	P vertė	Bendrai
MTX infuzijų skaičius	458 (47,3%)	510 (52,7%)	-	968
ŪIP atvejų skaičius	49 (74,2%)	17 (25,8%)	<0,001	66
	Nuo 458 infuzijų 10,7%	Nuo 510 infuzijų 3,3%		
Pakartotinio ŪIP atvejų skaičius	19 (90,5%)	2 (9,5%)	<0,001	21
	Nuo 49 ŪIP	Nuo 17 ŪIP		

	atvejų 38,8%	atvejų 11,8%		
--	--------------	--------------	--	--

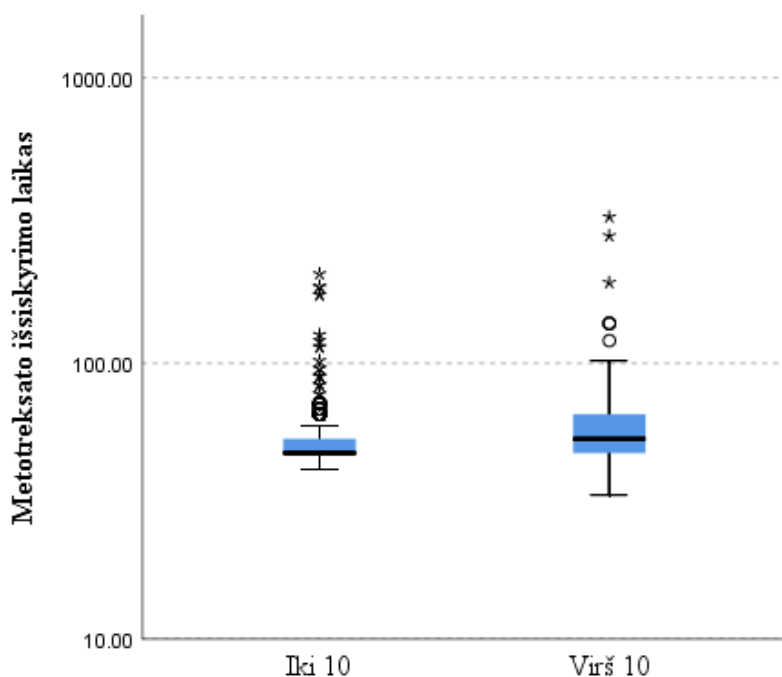
*ŪIP- ūminis inkstų pažeidimas*

#### 4.1.6. Amžius.

Nustatyta, jog iki 10 metų amžiaus ir vyresnių pacientų metotreksato išsiskyrimo medianos skiriasi reikšmingai ( $p < 0,001$ ). Iki 10 metų amžiaus pacientų metotreksato išsiskyrimo mediana - 48 valandos. Pacientų vyresnių nei 10 metų amžiaus - 54 valandos (9 paveikslas). Iki 10 metų amžiaus 34 pacientams tenka 37 uždelsto metotreksato išsiskyrimo atvejai, tai sudaro 3,7% visų metotreksato infuzijų skirtų šiai amžiaus grupei. Vyresniems nei 10 metų amžiaus 15 pacientų tenka 27 uždelsto metotreksato išsiskyrimo atvejai, tai sudaro 13,6% visų metotreksato infuzijų skirtų šiai amžiaus grupei (9 lentelė). Apskaičiavus reliatyvią riziką nustatyta, jog vyresniems nei 10 metų amžiaus pacientams uždelsto metotreksato išsiskyrimo rizika yra 3,73 karto didesnė nei pacientams iki 10 metų amžiaus.

*9 lentelė. Metotreksato išsiskyrimo laiko medianų, uždelsto metotreksato išsiskyrimo atvejų ir paveiktų pacientų palyginimas amžiaus grupėje iki 10 metų ir amžiaus grupėje virš 10 metų.*

	Iki 10	Virš 10	P vertė	Bendrai
MTX infuzijų skaičius	1012 (83,6%)	198 (16,4%)	-	1210
Uždelsto MTX išsiskyrimo atvejų skaičius	37 (57,8%) Nuo 1012 infuzijų 3,7%	27 (42,2%) Nuo 198 infuzijų 13,6%	<0,001	64
Uždelsto MTX išsiskyrimo paveiktų pacientų skaičius	34 (69,4%) Nuo 136 pacientų 25,0%	15 (30,6%) Nuo pacientų 32 46,9%	-	49
MTX išsiskyrimo mediana	48 (min 42, max 206)	54 (min 34, max 320)	<0,001	-



9 paveikslas. Metotreksato išsiskyrimo laiko medianų amžiaus grupėje iki 10 metų ir amžiaus grupėje virš 10 metų vizualizacija.

#### 4.1.7. Albumino koncentracija.

Tik pavienių metotreksato infuzijų metu buvo tiriama albumino koncentracija, todėl neįmanomas šio rizikos veiksnio vertinimas visoje tiriamoje populiacijoje.

#### 4.2. Gliukarpidazės skyrimo indikacijos.

Iš visos tiriamosios imties, pritaikius gliukarpidazės skyrimo indikacijas, buvo nustatytos 6 metotreksato infuzijos, po kurių buvo indikuotinas gliukarpidazės skyrimas. Į šią imtį pateko pacientai 2009711, 2009714, 2009715, 2011705, 2011709, 2013717. Visi pacientai gydyti iki slaugos standartizavimo, penki iš jų berniukai ir viena mergaitė, keturios B ląstelių pirmtakų ūminės leukemijos diagnozės ir dvi T ląstelių ūminės leukemijos diagnozės. Didžioji dalis pacientų (keturi iš šešių) patenka į amžiaus grupę iki 10 metų amžiaus. Apie kiekvieną šių pacientų atrinka informacija, kuri galėjo paaiškinti uždelstą metotreksato išsiskyrimą ir dideles metotreksato koncentracijas kraujyje po didelių dozių metotreksato infuzijos. Visai atvejais bent vienu iš šių punktų galima paaiškinti ilgą metotreksato išsiskyrimo laiką ir dideles metotreksato koncentracijas pacientų kraujyje po didelių dozių metotreksato infuzijos (10 lentelė). 2011709 paciento atveju papildomai reikia paminėti, jog didelių dozių metotreksato infuzijos naktį ir kelias naktis po to, paciento motina neatsiklaususi personalo sustabdydavo lašines infuzijas, kad vaikas galėtų geriau išsimiegoti. Taigi pacientui kritiniu metu nebuvo užtikrinta adekvati hidratacija ir inkstų perfuzija.

10 lentelė. Išsami pacientų kuriems buvo indikuotina gliukarpidazė analizė

Paciento kodas	NOPHO	Lytis	ŪLL imunofenotipas	ŪLL rizikos grupė	Amžius	MTX N°	MTX <0.2	Prehidracijos trukmė	t>38	Hipoalbuminemia	Asparaginazė	Komentaras	Glukarpidazė
2009711		Vyr.	preB	VRG	3,8	1	186 val.	4 val.	Taip	Taip	Ne	-	Ne
2009714		Vyr.	T	VRG	5,4	2	206 val.	1 val.	Taip	Taip	Taip	Alerginė reakcija į kartu skirtą asparaginazę	Ne
2009715		Vyr.	preB	DRG	1,4	2	174 val.	1 val.	Taip	Taip	Taip	-	Ne
2011705		Mot.	preB	SRG	15,3	1	138 val.	16 val.	Taip	Taip	Ne	-	Ne
2011709		Vyr.	T	VRG	12,7	6	320 val.	15 val.	Taip	Ne	Ne	Nakties metu paciento mama uždarydavo lašinę	Taip
2013717		Vyr.	preB	VRG	6,2	2	180 val.	17 val.	Ne	Ne	Taip	Alerginė reakcija į kartu skirtą asparaginazę	Taip

Vyr.- vyriška lytis, mot.- moteriška lytis, MTX N°- metotreksato infuzijos numeris, MTX <0.2- metotreksato išsiskyrimo laikas, t>38- febrilus karščiavimas. Raudonai pažymėtos tikėtinos uždelsto metotreksato išsiskyrimo priežastys.

## 5. APTARIMAS

Teisingas metotreksato skyrimas ne tik mažina nepageidaujamų reakcijų pasireiškimo tikimybę, bet tikėtina daro įtaką bendram pacientų išgyvenamumui. Kanados ir Izraelio grupė 2020 metais pateikė studiją, kurioje įvertino, kokią įtaką suaugusiųjų pacientų išgyvenamumui turi metotreksato sukulto ūminio inkstų pažeidimo išsivystymas. 160 onkohematologinių pacientų nuo 18 iki 84 metų amžiaus buvo suskirstyti į dvi grupes: kuriems bent kartą didelių dozių metotreksatas sukėlė ūminį inkstų pažeidimą ir kuriems gydymo metu ūminis inkstų pažeidimas nepasireiškė. 80% pacientų, kuriems išsivystė ūminis inkstų pažeidimas, kreatininas normalizavosi iki mėnesio, tačiau šios grupės išgyvenamumo mediana tesiekė 37 mėnesius. Pacientų, kuriems ūminis inkstų pažeidimas nepasireiškė, išgyvenamumo mediana buvo reikšmingai didesnė - 145 mėnesiai (14).

Vienas lengviausiai koreguojamų uždelsto didelių dozių metotreksato išsiskyrimo rizikos veiksnių yra prehidracijos trukmė. Nėra vieningos nuomonės ar ilgesnės trukmės prehidracija pagerina metotreksato išsiskyrimą. 2014 metais Danijoje atliktas tyrimas, kurio metu 47 pediatriams pacientams gydomiems pagal NOPHO ALL2008 protokolą prehidracijos laikai buvo randomizuoti, pacientai prieš didelių dozių metotreksato infuziją buvo hidruojami 4 arba 12 valandų. Reikšmingų skirtumų tarp metotreksato išsiskyrimo laiko ir uždelstų metotreksato išsiskyrimo atvejų skaičiaus nenustatyta (12). Tačiau yra pastebėta,

jog Suomijoje pagal NOPHO ALL2008 protokolą gydomi pediatriiniai pacientai 26% greičiau išskiria metotreksatą po didelių dozių metotreksato infuzijos lyginant su Danijoje pagal tą patį protokolą gydomais pacientais. Suomijos centruose paprastai taikoma 24 valandų trukmės prehidratacija (17).

Vis daugiau dėmesio skiriama albumino koncentracijos prieš didelių dozių metotreksato infuziją svarbai. 2022 metų tyrimo Indijoje duomenimis vaikams gydytiems nuo ūminės limfoblastinės leukemijos, kurių albumino koncentracija prieš didelių dozių metotreksato infuziją buvo mažesnė nei 35 g/L, metotreksato išsiskyrimas buvo lėtesnis iki 34%. Tyrime taip pat nurodoma, jog hypoalbuminemija yra patikimas metotreksato sukeltos toksinio inkstų pažeidimo predikcinis faktorius (šansų santykis 4.71) (26). 2016 metų tyrime vertinant vienos Niujorko ligoninės slaugos standartus nustatyta, jog didelių dozių metotreksatu gydomi leukemijomis ir limfomomis sergantys pacientai metotreksatą išskyrė daug greičiau, jei jų albumino koncentracija buvo normos ribose (išsiskyrimo laiko mediana 72 valandos). Pacientų, kuriems iki infuzijos pradžios buvo nustatyta ir nekoreguota hypoalbuminemija, metotreksato išsiskyrimo laiko mediana siekė 96 valandas (27).

Kadangi kartu su didelių dozių metotreksatu dažnai skiriama daug kitų vaistų atliekami tyrimai siekiant iširti, kurie vaistai gali prailginti metotreksato išsiskyrimo laiką. Literatūroje nurodoma, kad kartu su metotreksatu skiriamas ciklosporinas iki 26% padidina metotreksato koncentraciją kraujo plazmoje (4). Taip pat nurodoma, jog pacientų, gydomų mažomis metotreksato dozėmis dėl reumatoidinio artrito ir kartu vartojančių aspiriną, metotreksato išsiskyrimas reikšmingai sumažėja (22). Teigiama, jog penicilino pagrindo antibiotikai apsunkina metotreksato išsiskyrimą per inkstus (21). Pradėta kritiškai vertinti furozemidą gydant didelių dozių metotreksatu. Literatūroje minima 156% didesnė nefrotoksiškumo tikimybė pacientams kuriems kartu skirtas didelių dozių metotreksatas ir furozemidas (18). Net ūminės limfoblastinės leukemijos palaikomojoje gydymo stadijoje mažomis dozėmis vartojamas metotreksatas kartu su trimetoprimu ir sulfametoksazolu didina tikimybę, jog pacientams pasireikš mukozitas, nefrotoksiškumas ar net stipri mielosupresija (19).

Galiausiai ieškant uždelsto didelių dozių metotreksato išsiskyrimo rizikos veiksnių netgi bandoma išskirti maisto produktus ir augalinės kilmės preparatus, kurie gali paveikti metotreksato išsiskyrimo laiką. Vienas dažniausiai šiame kontekste įvardinamų augalinės kilmės preparatų ir maisto produktų šaltinis yra saldymedis (28).

## **6. IŠVADOS IR PASIŪLYMAI**

Tyrimo metu nustatyta, jog pediatrinių pacientų gydytų pagal NOPHO ALL2008 protokolą didelių dozių metotreksato uždelsto išsiskyrimo veiksniai yra: vyriška lytis, T ląstelių ūminė limfoblastinė leukemija, vidutinė ir aukšta leukemijos rizikos grupės, vyresnis amžius, trumpesnė prehidratacija ir nestandardizuota pacientų slauga. Iš visų leukemijos rizikos grupių vidutinė rizikos grupė pasižymėjo didžiausia uždelsto metotreksato išsiskyrimo rizika. Nors bendras metotreksato išsiskyrimo laikas reikšmingai nesiskyrė prieš prehidratacijos pailginimą su slaugos standartizavimu ir po jo, tačiau uždelsto metotreksato išsiskyrimo atvejų reikšmingai sumažėjo. Ilgesnės prehidratacijos ir standartizuotos slaugos svarbą papildomai pagrindžia išnagrinėti 6 gliukarpidazės indikacijas atitinkantys atvejai ir reikšmingai gausesni ūminio inkstų pažeidimo atvejai. Taip pat nustatyta, jog bendrai vyriškai lyčiai, T ląstelių ūminei limfoblastinei leukemijai, vidutinei ūminės limfoblastinės leukemijos rizikos grupei, vyresniam amžiui būdingas ilgesnis metotreksato išsiskyrimo laikas. Nors V, VI, VII ir VIII metotreksato infuzijos turi greitesnio metotreksato išsiskyrimo tendenciją, kol kas sunku daryti išvadas ar kuri nors infuzija pacientams yra mažesnis rizikos veiksnys.

Tolimesnių tyrimų metu būtų naudinga nuodugniau panagrinėti visus uždelsto metotreksato išsiskyrimo atvejus, įvertinant kartu skirtus vaistus, atsižvelgiant į šių vaistų pusinės eliminacijos laiką, surinkti prieinamus bilirubino ir kepenų fermentų tyrimų rezultatus, kiekvienai infuzijai jei įmanoma surasti ir priskirti prehidratacijos laiką taip dar tiksliau įvertinant įvestus pakeitimus 2014-taisiais metais. Taip pat gydant pacientus pagal naujus protokolus būtų naudinga visiems pacientams standartizuotai monitoruoti albuminų koncentraciją kraujyje prieš ir po didelių dozių metotreksato infuzijos, nes tai leistų įvertinti ar albuminų kiekio sumažėjimas yra rizikos veiksnys ir potencialiai koreguojant šį veiksnį išvengti dar daugiau metotreksato toksinio poveikio sveikiems organizmo audiniams. Galiausiai tolesnių tyrimų metu turėtų būti vertinama ir gliukarpidazės įsigijimo būtinybė atsižvelgiant į tai, jog iki šiol visų atvejų kai buvo indikuotina gliukarpidazė buvo galima išvengti.

## **7. LITERATŪROS SĄRAŠAS**

- (1) Hannoodee M, Mittal M. Methotrexate. StatPearls. 2022.
- (2) Koźmiński P, Halik PK, Chesori R, Gniazdowska E. Overview of Dual-Acting Drug Methotrexate in Different Neurological Diseases, Autoimmune Pathologies and Cancers. *Int J Mol Sci.* 2020 May; 21(10): 3483.
- (3) Cronstein BN, Aune TM. Methotrexate and its mechanisms of action in inflammatory arthritis. *Nature Reviews Rheumatology.* 2020; 145–154.



- (4) Maksimovic V, Pavlovic-Popovic Z, Vukmirovic S, Cvejic J, Mooranian A, Al-Salami H, et al. Molecular mechanism of action and pharmacokinetic properties of methotrexate. *Molecular Biology Reports*. 2020; 4699–4708.
- (5) Gaies E, Jebabli N, Trabelsi S, Salouage I, Charfi R, Lakhali M, et al. Methotrexate Side Effects: Review Article. *Journal of Drug Metabolism and Toxicology*. 2012; 3(4).
- (6) Ramsey LB, Balis FM, O'Brien MM, Schmiegelow K, Pauley JL, Bleyer A, et al. Consensus Guideline for Use of Glucarpidase in Patients with High-Dose Methotrexate Induced Acute Kidney Injury and Delayed Methotrexate Clearance. *The Oncologist*. 2018;23:52–61.
- (7) Howard S, Harry MT, John S, Marada S, Napier N. Management of Delayed Elimination of High-Dose Methotrexate in Community Oncology Practices Can Mitigate Its Effect on Length of Hospital Stay, Treatment Dose-Density, Acute Kidney Injury, Dialysis, and Death. *Blood*. 2019;134:1.
- (8) Chen AR, Wang YZM, Lin M, Kuocorresponding DJ. High-Dose Methotrexate in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia: Predictors of Delayed Clearance and the Effect of Increased Hydration Rate on Methotrexate Clearance. *Cureus*. 2020 Jun; 12(6): e8674.
- (9) Wippel B, Gundle KR, Dang T, Paxton J, Bubalo J, Stork L, et al. Safety and efficacy of high-dose methotrexate for osteosarcoma in adolescents compared with young adults. *Cancer Medicine*. 2019 Jan; 8(1): 111–116.
- (10) Grissinger M. Severe Harm and Death Associated With Errors and Drug Interactions Involving Low-Dose Methotrexate. *P&T*. 2018 Apr; 43(4): 191-192, 248.
- (11) Perazella MA, Moeckel GW. Nephrotoxicity From Chemotherapeutic Agents: Clinical Manifestations, Pathobiology, and Prevention/Therapy. *Seminars in Nephrology*. *Semin Nephrol*. 2010 Nov;30(6):570-81.
- (12) Mikkelsen TS, Mamoudou AD, Tuckuviene R, Wehner PS, Schroeder H. Extended Duration of Prehydration Does Not Prevent Nephrotoxicity or Delayed Drug Elimination in High-Dose Methotrexate Infusions: A Prospectively Randomized Cross-Over Study. *Pediatr Blood Cancer* 2014;61:297–301.
- (13) Valade S, Mariotte E, Azoulay E, Darmon M. High-dose methotrexate in ICU patients: a retrospective study. *Annals Of Intensive Care*. 2020;10:81.

- (14) Amitai I, Rozovski U, El-Saleh R, Shimony S, Shepshelovich D, Rozen-Zvi B, et al. Risk factors for high-dose methotrexate associated acute kidney injury in patients with hematological malignancies. *Hematol Oncol*. 2020 Oct;38(4):584-588.
- (15) Nakano T, Kobayashi R, Matsushima S, Hori D, Yanagi M, Suzuki D, et al. Risk factors for delayed elimination of high-dose methotrexate in childhood acute lymphoblastic leukemia and lymphoma. *International Journal of Hematology*. 2021 May;113(5): 744–750.
- (16) Howard SC, McCormick J, Pui CH, Buddington RK, Harvey RD. Preventing and Managing Toxicities of High-Dose Methotrexate. *Oncologist*. 2016 Dec; 21(12): 1471–1482.
- (17) Taylor ZL, Mizuno T, Punt NC, Baskaran B, Sainz AN, Shuman W, et al. MTXPK.org: A Clinical Decision Support Tool Evaluating High-Dose Methotrexate Pharmacokinetics to Inform Post-Infusion Care and Use of Glucarpidase. *Clin Pharmacol Ther*. 2020 Sep; 108(3): 635–643.
- (18) Ranchon F, Vantard N, Henin E, Bachy E, Sarkozy C, Karlin L, et al. Delayed methotrexate elimination: Incidence, interaction with antacid drugs, and clinical consequences? *Hematological Oncology*. 2018 Apr; 36(2).
- (19) Wiczer T, Dotson E, Tuten A, Phillips G, Maddocks K.. Evaluation of incidence and risk factors for high-dose methotrexate-induced nephrotoxicity. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*. 2015; 22(3): 430–436.
- (20) Cudmore J, Seftel M, Sisler J, Zarychanski R. Methotrexate and trimethoprim-sulfamethoxazole. *Can Fam Physician*. 2014 Jan; 60(1): 53–56.
- (21) Zarychanski R, Wlodarczyk K, Ariano R, Bow E. Pharmacokinetic interaction between methotrexate and piperacillin/tazobactam resulting in prolonged toxic concentrations of methotrexate. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2006; 58(1): 228-230.
- (22) Seideman P, Muller-Suur R. Renal effects of aspirin and low dose methotrexate in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 1993; 52: 613-615
- (23) Skärby T, Jönsson P, Hjorth L, Behrentz M, Björk O, Forestier E, et al. High-dose methotrexate: on the relationship of methotrexate elimination time vs renal function and serum methotrexate levels in 1164 courses in 264 Swedish children with acute lymphoblastic leukaemia (ALL). *Cancer Chemother Pharmacol*. 2003 Apr;51(4):311-20.

- (24) Asselin BL, Devidas M, Wang C, Pullen J, Borowitz MJ, Hutchison R, et al. Effectiveness of high-dose methotrexate in T-cell lymphoblastic leukemia and advanced-stage lymphoblastic lymphoma: a randomized study by the Children's Oncology Group (POG 9404). *Blood*. 2011 Jul 28; 118(4): 874–883.
- (25) Toft N, Birgens H, Abrahamsson J, Griskevicius L, Hallbook H, Heyman M, et al. Results of NOPHO ALL2008 treatment for patients aged 1-45 years with acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2018; 32: 606–615.
- (26) Khera S, Sharma G, Negi V, Shaw SC. Hypoalbuminemia and not undernutrition predicts high-dose methotrexate-induced nephrotoxicity in children with acute lymphoblastic leukemia in resource-constrained centers. *Pediatr Blood Cancer*. 2022 Apr 21;e29738.
- (27) Reiss SN, Buie LW, Adel N, Goldman DA, DevlinSM, Douer D. Hypoalbuminemia is significantly associated with increased clearance time of high dose methotrexate in patients being treated for lymphoma or leukemia. *Annals of Hematology*. 2016; 95(12)
- (28) Lin SP, Tsai SY, YC, Chao PDL. Glycyrrhizin and licorice significantly affect the pharmacokinetics of methotrexate in rats. *J Agric Food Chem*. 2009 Mar;11;57(5):1854-9.

PRIEDAI



VILNIAUS UNIVERSITETO MEDICINOS FAKULTETAS

Kodas 21 1950810, M.K.Ciurlionio 21/27, 03101.Vilnius Tel.(85)2398701, 2398700.faks.2398705.El.p. mf@mf.vu.lt

VILNIAUS REGIONINIS BIOMEDICININIS TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS  
M.K.Ciurlionio 21/27, LT-03101,Vilnius Tel.(85) 2686998, el.p.:rbtek@mf.vu.lt

# LEIDIMAS ATLIKTI BIOMEDICININĮ TYRIMĄ

2011-10-04 Nr.158200-10-407-1 II

Tyrimo pavadinimas:

**Leukeminių blastų subpopuliacijų ir ligoinių genetinio polimorfizmo įtaka leukemines mases išsivystymui bei šių biologinių faktorių prognostine reikšme vaikams, sergantiems ūmine limfoblastine leukemija**

Protokolo Nr.: 001  
Versija: 1  
Data: 2011-09-09

Asmens informavimo forma tėvams/globėjams (lietuvių kalba):

Versija: 1  
Data: 2011-09-09

Asmens informavimo forma 10-18 m. paaugliams (lietuvių kalba):

Versija: 1  
Data: 2011-09-09

Asmens informavimo forma vaikams iki 10 m. (lietuvių kalba):

Versija: 1  
Data: 2011-09-09

Pagrindiniai tyrejai: L.Ragelienė (G.Vaitkevičienė)

Biomedicininio tyrimo vieta:

tstaigos pavadinimas: Vaikų ligoinė, Vsl Vilniaus universiteto ligoinės „Santariskų klinikos“ filialas

Istaigos adresas: Santargių g.1, Vilnius LT-08660

Leidimas išduotas Vilniaus regioninio biomedicininio tyrimų etikos komiteto posėdžio (rotokolas Nr. 158200-2011/10), vykusio 2011 m. spalio 04 d., s. rendimu.

Vilniaus regioninio biomedicininio tyrimų etikos komiteto ekspertų apšaukimas			
Nr.	Pavardė, vardas	veiklos sritis	dalyvavo posėdyje
1	doc. Dr.Laimute Jakavonyte	filosofija	taip
2	dr. Indrė Isokaite	epidemiologija	taip
3	dr. Indrė Isokaite	teisė	ne
4	dr. Marija Veniute	visuomenės sveikata	ne
5	doc.dr. Jolanta Gulbinovic	medicina	ne
6	rof.dr. Ytaute Peculiene	medicina, odontologija	taip
7	Laura Malinauskienė	medicina	taip
8	dr. Giazina Pastavkaite	klinikinė psichologija	ne
9	Ugne Sakuniene	pacientų teisės	taip

Pirmininke ytaute





VILNIAUS REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS  
*sui generis* darinys prie VILNIAUS UNIVERSITETO

---

**Biomedicininio tyrimo** „Leukeminių blastų subpopuliacijų ir ligočių genetinio polimorfizmo įtaka leukemines mases išsivystymui bei šių biologinių faktorių prognostinė reikšmė vaikams, sergantiems umine limfoblastine leukemija“  
**pagrindinei tyrejai** Vilmai Rutkauskaitei

2021-03-23 Nr. 2021-LP-21

**PRITARIMAS**  
**BIOMEDICININIO TYRIMO DOKUMENTŲ PAKEITIMAMS**

**Leidimo Nr. 158200-10-407-111 pakeitimas Nr. 7**

Vilniaus regioninis biomedicininių tyrimų etikos komitetas išnagrinėjęs prašymą atlikti su vykdomu biomedicininiu tyrimu „*Leukeminių blastų subpopuliacijų ir ligočių genetinio polimorfizmo įtaka leukemines mases išsivystymui bei šių biologinių faktorių prognostinė reikšmė vaikams, sergantiems umine limfoblastine leukemija*“ (leidimas Nr. 158200-10-407-111, išduotas 2011 10 04) susijusių dokumentų pakeitimus nusprendė, kad pakeitimai **atitinka** LR biomedicininių tyrimų etikos įstatymo II skyriuje nustatytus biomedicininių tyrimų etikos reikalavimus. Atsisvelgiant į tai **pritariama**, kad būtų:

- Tyrimas pratysiamas iki 2026 01;
- keičiama pagrindinė tyreja-vietoj V. Rutkauskaitės tyreja Goda Elizabeta Vaitkevičienė;
- įtraukiamas kitas tyrimci atliekantis asmuo - VU MF studentas Liudas Stakenas;
- vadovaujama atnaujintu protokolu (Nr. 004, versijos Nr. 4, data 2020 09 28);
- teikiamos informuoto asmens sutikimo formos suaugusiems (versijos Nr. 4 data 2020 12 01) ir 12-17 metų paaugliams (versijos Nr. 4 data 2020 12 01).

Pirmininkas

doc. dr. Alfredas Laurinavicius

## AUTORINĖ SUTARTIS Nr.

2020 m. d. Nr.  
Vilnius

**VšĮ Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos**, atstovaujamos generalinio direktoriaus Felikso Jankevičiaus, veikiančio pagal įstaigos įstatus (toliau – Užsakovas),

ir

**Liudas Lukas Stakėnas**, mokslo institucija Vilniaus universiteto medicinos fakultetas, medicinos studijų programos 5 kursas (toliau – Autorius),  
toliau kartu vadinami Šalimis, o kiekvienas atskirai – Šalimi,  
sudarė šią sutartį (toliau – Sutartis):

### 1. Sutarties dalykas

1.1. Autorius įsipareigoja parengti mokslinio tyrimo Leukeminių blastų subpopuliacijų ir ligonių genetinio polimorfizmo įtaka leukeminės masės išsivystymui bei šių biologinių faktorių prognostinė reikšmė vaikams, sergantiems ūmine limfoblastine leukemija dalies apie didelių dozių metotreksato klirensą medžiagos apibendrinimą (toliau – Autorinis darbas), o Užsakovas tinkamai ir kokybiškai atliktą Autorinį darbą įsipareigoja priimti.

1.2. Šalys susitaria, kad už atliktą Autorinį darbą atlygis Autoriui nemokamas.

### 2. Autoriaus teisės ir pareigos

2.1. Autorius įsipareigoja iki 2022-05-31 parengti biomedicininio tyrimo Leukeminių blastų subpopuliacijų ir ligonių genetinio polimorfizmo įtaka leukeminės masės išsivystymui bei šių biologinių faktorių prognostinė reikšmė vaikams, sergantiems ūmine limfoblastine leukemija), tyrimo (protokolo) kodas 001, dalies apie didelių dozių metotreksato klirensą medžiagos apibendrinimą, kuris turi apimti:

2.1.1. Duomenų surikimą: surinktų ir nuasmenintų duomenų rinkinio analizė ir sisteminimas biomedicininiams tyrimams;

2.1.2. Duomenų protokolavimą;

2.1.3. Duomenų sisteminimą.

2.2. Autorius įsipareigoja perduoti Užsakovui visas Autoriaus turtines teises į Sutarties 1.1 punkte nurodytą Autorinį darbą. Autorius suteikia Užsakovui visas teises naudoti Autorinį darbą savo nuožiūra jį skelbiant, platinant, kitaip atgaminant be papildomo (atskiro) Autoriaus sutikimo.

2.3. Autorius įsipareigoja saugoti konfidencialią informaciją, kurią sužinojo atlikdamas Sutartyje numatytus darbus, be Užsakovo raštiško sutikimo neperduoti šios informacijos trečiosioms šalims, išskyrus atvejus, kai to reikalauja Lietuvos Respublikos įstatymai.

### 3. Užsakovo teisės ir pareigos

3.1. Užsakovas įsipareigoja Šalims priimtinu būdu ir laiku teikti Autoriui visus reikiamus dokumentus bei informaciją, kuri reikalinga Autoriui kuriant Sutarties 1.1. punkte nurodytą Autorinį darbą.

3.2. Autoriui pilnai įvykdžius sutartinius įsipareigojimus, Užsakovas įsipareigoja pasirašyti Autorinio darbo perdavimo-priėmimo aktą.

### 4. Autorinio darbo perdavimo-priėmimo tvarka

4.1. Autorius perduoda Autorinį darbą Užsakovui pasirašant Autorinio darbo perdavimo-priėmimo aktą.

4.2. Autoriaus pateiktą Autorinio darbo perdavimo-priėmimo aktą Užsakovas privalo pasirašyti arba, esant pastabų, pateikti pastabas per 3 darbo dienas. Ištaisęs Užsakovo nurodytus trūkumus, Autorius teikia Autorinį darbą ta pačia tvarka.

**5. Nenugalimos jėgos (Force majeure) aplinkybės**

5.1. Sutartyje numatytų įsipareigojimų neįvykdžiusios Šalys nuo atsakomybės atleidžiamos, jei susidaro nenugalimos jėgos (force majeure) aplinkybės, kurių negalima numatyti arba išvengti, taip pat jokiomis priemonėmis jų pašalinti. Šalis, susidūrusi su nenugalimos jėgos (force majeure) aplinkybėmis, privalo apie tai pranešti kitai Šaliai per tris kalendorines dienas.

**6. Sutarties galiojimas ir nutraukimas**

6.1. Sutartis įsigalioja jos pasirašymo dieną ir galioja iki kol Šalys pasirašo Autorinio darbo perdavimo-priėmimo aktą, kuris yra neatsiejamas Sutarties priedas.

6.2. Sutartis gali būti nutraukta bet kurios iš ją pasirašusių Šalių iniciatyva, jei toji Šalis dėl kitos Šalies veiksmų ar neveikimo negali vykdyti Sutartyje numatytų įsipareigojimų. Sutartį nutraukianti Šalis privalo kitą Šalį apie tai raštu informuoti per 10 (dešimt) kalendorinių dienų.


6.3. Bet kokie Sutarties pakeitimai arba papildymai turi būti atliekami raštu, pasirašant papildomą susitarimą prie Sutarties.

**7. Taikoma teisė ir ginčų sprendimas**

7.1. Ši Sutartis yra sudaryta ir aiškinama pagal galiojančius Lietuvos Respublikos įstatymus ir kitus norminius teisės aktus.

7.2. Šalių ginčai, kylantys dėl Sutarties, sprendžiami dvišalėse tarpusavio derybose. Nepavykus susitarti, ginčas perduodamas Lietuvos Respublikos teismui.

7.3. Sudaryti ir pasirašyti du Sutarties egzemplioriai, po vieną kiekvienai Šaliai. Abu egzemplioriai turi vienodą juridinę galią.

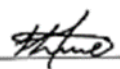
<b>Užsakovas</b>  <b>VŠĮ Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos</b> Įmonės kodas: 124364561 Adresas: Santariškių g. 2, LT-08661 Vilnius Tel.: 85 2365000, faks.: 85 2365111  _____	<b>Autorius</b>  <b>Liudas Lukas Stakėnas,</b> el. paštas liudas.stakenas@gmail.com Tel. Nr. 862939282   _____
---	--

## PERDAVIMO-PRIĖMIMO AKTAS

2020 m. d.  
Vilnius

**Liudas Lukas Stakėnas**, veikdamas pagal šios Autorinės sutarties (toliau – Sutartis) nuostatas, patvirtina, kad atliko ir Užsakovui perdavė šios Sutarties 1.1 punkte numatytą Autorinį darbą. Autorius patvirtina, kad pagal Sutartį neturi pretenzijų Užsakovui.

**VŠĮ Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos**, atstovaujamos generalinio direktoriaus Felikso Jankevičiaus, veikiančio pagal įstaigos įstatus (toliau – Užsakovas), veikdamos pagal Autorinės sutarties nuostatas, patvirtina, kad priėmė Sutarties 1.1 punkte nurodytą Autorinį darbą iš Autoriaus ir neturi Autoriui pretenzijų dėl Autorinio darbo kokybės, pateikimo formos ir terminų.

<b>Užsakovas</b>	<b>Autorius</b>
<p><b>VŠĮ Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos</b> Įmonės kodas: 124364561 PVM kodas: LT243645610 Adresas: Santariškių g. 2, LT-08661 Vilnius Tel.: 85 2365000, faks.: 85 2365111</p> <hr/>	<p><b>Liudas Lukas Stakėnas</b>, el. paštas liudas.stakenas@gmail.com Tel. Nr. 862939282</p> <p></p> <hr/>