

DEBRECENI EGYETEM
ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM, ÁLTALÁNOS ORVOSKAR
GYÓGYSZERTANI INTÉZET

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS

**ANTIFUNGÁLIS AZOL-SZÁRMAZÉKOK ÉS CITOKINEK
HATÁSA NORMÁL ÉS KÓROS HEMOPOETIKUS
KOLÓNIAKÉPZŐ SEJTEKRE**

DR. BENKŐ ILONA

Debrecen, 2001.

ÖSSZEFOGLALÁS

A gyógyszerek csontvelőtoxicitása különös figyelmet érdemel, ha neutropeniás betegnek adjuk őket, mert még a csekély mértékű myelotoxicitás is ronthatja a prognózist a csontvelő regenerációjának késleltetésével. Neutropeniás időszakban szóbajövő hatóanyagokat vizsgáltunk: Antifungális anyagokat, β -laktamáz-gátlókat, melyek a nagy dózisban esetenként neutropeniát okozó β -laktám antibiotikumok védelmére adhatók, és a csontvelő citosztatikum-okozta károsodásból való gyógyulását elősegítő myelopoetikus és pleiotrop citokineket. Ez utóbbiak hematológiai malignus betegségekben való alkalmazásakor azonban felmerülhet, hogy velük - nem kívánt módon - a malignus sejtek szaporodását is serkenthetjük. A lymphoid leukemiás sejtek myelopoetikus és pleiotrop citokinekkal szembeni érzékenységéről található irodalom ellentmondó adatokat tartalmaz.

E területen végzett kísérleteink új eredményei:

1. Antifungális anyagok hatása a granulocyta-macrophag kolóniaképző sejtek (GM-CFU) kolóniaképzésére

- 1.1. A vizsgált nyolc antifungális azol-származék - a fluconazol kivételével - gátolta a GM-CFU *in vitro* kolóniaképzését; a fluconazol még a terápiás adagok után észlelhető szérumszinteknél lényegesen nagyobb koncentrációban sem gátolta a kolóniák képződését.
- 1.2. E hatás tekintetében az imidazolok és a triazolok nem alkottak elkülönülő csoportokat. Potencia sorrendjük a human GM-CFU sejtek esetében: itraconazol > saperconazol > clotrimazol > ketoconazol > miconazol > econazol > oxiconazol > fluconazol-krotonát > fluconazol-kapronát > α -fenil-propionil-fluconazol >> fluconazol volt.
- 1.3. A GM-CFU kolóniaképzésének gátlása összefüggést mutatott az azolok lipophilitását jellemző logP értékekkel, amelyek a gátló hatás potencia sorrendjéhez hasonlóan az itraconazol > saperconazol > clotrimazol esetében voltak a legnagyobbak. A vízzoldékony fluconazol lipophil származékai jelentősen toxikusabbak voltak az anyavegyületnél.
- 1.4. Az egér csontvelőtenyészetekben mért logIC₅₀ adatok jó prediktív értékkel rendelkeztek a human sejt-toxicitás szempontjából.

2. β -laktamázt gátló β -lakton származékok hatása a GM-CFU kolóniaképzésére

Intézetünk új β -laktamázt gátló β -lakton származékai az anyavegyületnél kevésbé toxikusaknak bizonyultak, a kolóniaképzést nem gátolták jelentősen.

3. G-CSF, GM-CSF és SCF hatása akut lymphoid leukemiás betegek csontvelői blast sejtjeire

- 3.1. A vizsgált myelopoetikus és pleiotrop citokinek (G-CSF, GM-CSF és SCF) - fiziológias hatásaik alapján nem várt módon stimulálták ALL-es gyermekek leukémiás sejtjeinek kolóniaképzését. A GM-CSF volt a legkevésbé hatásos, míg a G-CSF és SCF hatása között nem volt különbség.
- 3.2. Az öt év alatt vizsgált 13 friss ALL-es gyermek esetében a csontvelői blast sejtek citokin-érzékenysége és a maximális válasz mértéke jelentős individuális különbségeket mutatott.
- 3.3. A spontán kolóniaképzést mutató csontvelőminták blast sejtjei valamennyi citokin hatására magasabb kolóniaszámokkal reagáltak, mint az exogen citokinek hozzáadása nélkül kolóniákat nem képzők.
- 3.4. A G-CSF, GM-CSF és SCF kombinációi az egyes citokinekkal önmagukban nem stimulálható esetekben is képesek voltak az ALL-es blastok kolóniaképzését kiváltani. Minden esetben a hármas kombináció hatására nőtt a legtöbb kolónia.

- 3.5. Az előbbieket ALL-es betegek citokin-kezelésénél érdemes figyelembe venni. Az *in vitro* kolóniaképződés vizsgálata segíthet az egyes betegeknél a citokinek lehetséges hatásainak előzetes felmérésében.

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

01. **Benkő I.**, Megyeri A., Hernádi F., Kovács P.
Antifungális hatású imidazol-származékok hatása egér csontvelősejtek *in vitro* kolóniaképzésére.
Acta Pharm. Hung. 66, 241-245, 1996.
02. **Benkő, I.**, F. Hernádi, A. Megyeri, A. Kiss, G. Somogyi, Z. Tegyei, F. Kraicsovits, P. Kovács,
Comparison of toxicity of fluconazole and other azole antifungal drugs to murine and human granulocyte-macrophage progenitor cells (CFU-GM) *in vitro*.
J.Antimicrob.Chemother. 43, 675-681, 1999.
IF: 3,296
03. Gál, Zs., Á. Koncz, I. Szabó, E. Deák, **I. Benkő**, Gy. Barabás, F. Hernádi, P. Kovács, A
synthetic γ -lactone group with β -lactamase inhibitory and sporulation effects.
J. Chemother. 12, 274-279, 2000.
IF: 0,921
04. **Benkő, I.**, P. Kovács, I. Szegedi, A. Megyeri, A. Kiss, É. Oláh, J. Kappelmayer, C. Kiss,
Effect of myelopoietic and pleiotropic cytokines on colony formation of blast cells of children with acute lymphoblastic leukemia.
Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 363, 499-508 2001.
IF: 2,869

Egyéb közlemények

01. Mórocz I., **Benkő I.**, Kiss Cs., Bársony Z., Fokális noduláris máj hyperplasia fiúgyermekekben Clostilbegyt kezelés után. Morphológiai és Ig. Orv. Szemle 25, 224-229, 1985.
02. **Benkő I.**, Surányi P., Maródi L., Szegedi Gy., Karmazsin L., T-lymphocytá szubpopulációk megoszlása érett újszülöttek és koraszülöttek perifériás és köldökzsinórvérében. Gyermekgyógyászat 37, 133-137, 1986.
03. Mórocz, I., **I. Benkő**, C. Kiss, Z. Bársony, Focal nodular hyperplasia of the liver after clomiphen treatment in a young boy. Acta Paediatr. Hung. 27, 15-21, 1986.
04. Kovács, P., F. Hernádi, L. Institoris, **I. Benkő**, Early regeneration of Colony Forming Units in culture (CFUc) of murine bone marrow after moderate doses of dibromomannitol. Acta Physiol. Hung. 75, 183-184, 1990.
05. Kovács, P., **I. Benkő**, F. Hernádi, A. Jeney, J. Kralovánszky, Effect of combinations of fluorouracil, uridine and leucovorin on murine bone marrow "Colony Forming Units in culture" (CFUc). Pharmacol. Res. 25, 308-309, 1992.
IF: 0,702
06. Hernádi, F., F. Krajcsovics, I. Czink, Á. Koncz, T. Schmidt, M. Fuxreiter, **I. Benkő**, P. Kovács, Investigation of antifungal effects of fluconazole ester derivatives. J. Chemother. 5, 430-431, 1993.

IF: 0,921

07. Kovács, P., F. Hernádi, E. Csányi, E. Király, **I. Benkő**, Effect of 1,6-di-o-methylsulfonyl-3,4-di-o-methyl-d-mannitol (GYKI-17230) on murine bone marrow colony forming units (CFUc). *J. Chemother.* 5, 804-805, 1993.

IF: 0,921

08. **Benkő, I.**, L. Maródi, A. Megyeri, R. Káposzta, P. Kovács, Effect of granulocyte colony-stimulating factor on granulopoiesis of congenital neutropenic children. *Acta Physiol. Hung.* 84, 169-170, 1996.
09. Megyeri, A., **I. Benkő**, A. Jeney, J. Kralovánszky, P. Kovács, Effect of ethyldeoxyuridine on 5-fluorouracil-induced neutropenia. *Acta Physiol. Hung.* 84, 217-218, 1996.
10. Kiss, C., **Benkő I.**, Szegedi I, Balogh E, Kovács P, Oláh É: Myelodysplastic syndromes in children: Clinical and laboratory observations from a single center in North-East Hungary. *Med. Pediatr. Oncol.* (submitted)

IF: 1,518

Könyvrészletek

01. Kovács, P., **I. Benkő**, F. Hernádi, L. Institóris, Damage and regeneration of bone marrow in mice given single or repeated doses of disuccinyl-dianhydrogalactitol (DisuDAG). In: *Recent Advances in Chemotherapy*, Adam, D., Büchner T., Rubinstein, E., Eds., Futuramed Verlagsges. pp. 2630-2631, Munich 1992.
02. Kovács, P., **I. Benkő**, A. Megyeri, F. Hernádi, A. Jeney, J. Kralovánszky, Effect of Uridine Rescue on Fluorouracil-Induced Neutropenia. *Recent Advances in Chemotherapy*, J. Einhorn, C.E. Nord, S.R. Norrby, Eds., American Society for Microbiology, p. 952, Washington, D.C. 1994.
03. **Benkő, I.**, P. Kovács, L. Maródi, F. Hernádi, Granulocyte-Macrophage CFUc Assay in Congenital Neutropenic Children Treated with Granulocyte Colony-Stimulating Factor. *Recent Advances in Chemotherapy*, J. Einhorn, C.E. Nord, S.R. Norrby, Eds., American Society for Microbiology, p. 994, Washington, D.C. 1994.

Citálható absztraktok

01. **Benkő, I.**, P. Kovács, A. Kiss, A. Megyeri, F. Hernádi, Comparison of the toxicity to human granulocyte-macrophage progenitor cells of four antifungal agents. *Antibiotika Monitor* 9, 118, 1993.
02. **Benkő, I.**, P. Kovács, A. Megyeri, F. Hernádi, Effect of imidazole antifungal agents on colony formation by murine CFUc (Colony Forming Units in Culture). *Pol.J.Pharmacol.* 46, 352-353, 1994.
03. Kovács, P., A. Megyeri, **I. Benkő**, A. Kurucz, A. Jeney, J. Kralovánszky, Effect of uridine and leukovorin on 5-fluorouracil-induced damage and regeneration of murine bone marrow. *Stem Cells* 13, 568-569, 1995.

IF: 2,780

04. Kovács, P., A. Megyeri, L. Institóris, J. Szentmiklósi, **I. Benkő**, Sensitivity of a bone marrow progenitor cell (CFUc) population to dianhydrogalactitol (DAG) or its diacetyl-derivative in mice pretreated with the same agent. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 356, R19, 1997.
IF: 2,869
05. Megyeri, A., **I. Benkő**, A. Jeney, J. Kralovánszky, P. Kovács, Modification of the myelotoxicity of single or repeated doses of 5-fluorouracil by ethyldeoxyuridine. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 356, R19, 1997.
IF: 2,869
06. **Benkő, I.**, P. Kovács, A. Megyeri, I. Szegedi, C. Kiss, Stimulation of blast cells in vitro in children with acute lymphoblastic leukaemia by granulocyte-macrophage colony stimulating factor (rhGM-CSF), granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF) and stem cell factor (SCF). Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 356, R20, 1997.
IF: 2,869
07. Kiss, C., **I. Benkő**, M. Kiss, Z. Jakab, I. Szegedi, Interferons in pediatric oncology. Med. Pediatr. Oncol. 31, 349, 1998 .
IF:1,518
08. **Benkő, I.**, C. Kiss, A. Megyeri, P. Kovács, Effect of granulocyte colony stimulating factor on bone marrow cells of children with acute lymphocytic leukemia. Fundam. Clin. Pharmacol. S1 13, 363s, 1999.
IF: 0,810
09. Megyeri, A., **I. Benkő**, J. Kralovánszky, P. Kovács, Effect of uridine and rhG-CSF on neutropenia induced by 5-fluorouracil and leucovorin in mice. Fundam. Clin. Pharmacol. S1 13, 360s, 1999.
IF: 0,810
10. Kovács, P., A. Megyeri, **I. Benkő**, A. Jeney, Synergism of uridine and rhG-CSF in promoting recovery from 5-fluorouracil-induced neutropenia. Fundam. Clin. Pharmacol. S1 13, 362s, 1999.
IF: 0,810
11. **Benkő I.**, A. Megyeri, A. Kiss, P. Kovács, Azol antifungális anyagok hatása in vitro granulocyt-macrophag progenitor sejtekre. Magyar Onkológia 43, 277, 1999.
12. Kiss, C., **I. Benkő**, É. Karászi, G. Vámosi, I. Szegedi, J. Kappelmayer, J. Szöllősi, Interferon- α -2b induces growth inhibition, apoptosis and differentiation in human B-cell lineage leukemic cells lines. Med. Pediatr. Oncol. 33, 271, 1999.
IF: 1,518
13. **Benkő, I.**, P. Kovács, I. Szegedi, A. Megyeri, A. Kiss, E. Balogh, É. Oláh, J. Kappelmayer, C. Kiss, Effect of myelopoietic and pleiotropoic cytokines on colony formation of blast cells of children with acute lymphoblastic leukemia. Med. Pediatr. Oncol. 35, 226, 2000.
IF: 1,518
14. Szegedi, I, **I. Benkő**, É. Karászi, G. Vámosi, J. Kappelmayer, J. Szöllősi, C. Kiss, Interferon-alpha-2b induces growth inhibition, apoptosis, and differentiation in human B-cell-lineage leukemic cell lines. Cytometry 42, 156, 2000.
IF: 2,843

Elsőszerzős előadás/poszter nemzetközi kongresszusokon

01. **Benkő, I.,** P. Kovács, A. Kiss, F. Hernádi, Effect of antifungal agents on colony formation by murine and human CFUc (Colony Forming Unit in culture). 4th Biennial Conference on Chemotherapy of Infectious Diseases and Malignancies. Prague, 1992.
02. **Benkő, I.,** P. Kovács, L. Maródi, F. Hernádi, Diagnostic role of Granulocyte-Macrophage Colony Forming Unit assay in congenital neutropenic children treated with Granulocyte Colony Stimulating Factor. 18th Int. Congr. Chemotherapy, Stockholm, 1993.
03. **Benkő, I.,** P. Kovács, A. Kiss, A. Megyeri, F. Hernádi, Comparison of the In Vitro Toxicity to Human Granulocyte-MACrophage Progenitor Cells of Four Antifungal Agents. European Society of Chemotherapy 1st Scientific Meeting, Budapest, 1993.
04. **Benkő, I.,** P. Kovács, L. Maródi, R. Káposzta, F. Hernádi, Granulocyte-Macrophage Bone Marrow Progenitor Cells in Congenital Neutropenic Children Treated with Granulocyte Colony Stimulating Factor (G-CSF). 5th Biennial Conference on Chemotherapy of Infectious Diseases and Malignancies, Salzburg, 1994.
05. **Benkő, I.,** P. Kovács, A. Megyeri, F. Hernádi, Effect of imidazole antifungal agents on colony formation by murine CFUc (Colony Forming Units in Culture). 4th Joint Meeting of Hungarian, Italian and Polish Pharmacological Societies, Poznan, 1994.
06. **Benkő, I.,** P. Kovács, A. Kurucz, A. Megyeri, F. Hernádi, Toxicity of antifungal agents to murine granulocyte macrophage progenitor cells. The first romanian meeting of pharmacology and therapeutics with international participation , Oradea-Baile Felix, 1995.
07. **Benkő, I.,** F. Hernádi, A. Kiss, A. Megyeri, A. Kiss, P. Kovács, Toxicity of itraconazole and ketoconazole to granulocyte-macrophage progenitor cells. Joint Symposium on Nosocomial Infections, Berlin, 1995. A German Society of Chemotherapy megosztott első díjával kitüntetett előadás.
08. **Benkő I.,** L. Maródi, A. Megyeri, P. Kovács, Effect of granulocyte colony stimulating factor on granulopoiesis of congenital neutropenic children. 5th Joint Meeting of Hungarian, Italian and Polish Pharmacological Societies, Pécs, 1996.
09. **Benkő, I.,** I. Szegedi, P. Kovács, C. Kiss, Differential stimulation of human bone marrow cells, Fanconi anemia cells and pediatric leukemia cells by rh G-CSF, GM-CSF and SCF, Advances in pediatric haematology, Symposium of the European Society for Paediatric Haematology/Immunology, Moscow, 1997.
10. **Benkő, I.,** P. Kovács, A. Megyeri, I. Szegedi, C. Kiss, Stimulation of blast cells in vitro in children with acute lymphoblastic leukaemia by granulocyte-macrophage colony stimulating factor (rhGM-CSF), granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF) and stem cell factor (SCF). Fall Meeting of the German Society of Experimental and Clinical Pharmacology and Toxicology, Wien, 1997.
11. **Benkő, I.,** A. Megyeri, F. Hernádi, A. Kiss, P. Kovács, Effect of itraconazole and saperconazole on colony formation of granulocyte-macrophage progenitor cells. 6th Joint Meeting of Italian, Hungarian and Polish pharmacological Societies, Pisa, 1998.
12. **Benkő, I.,** C. Kiss, A. Megyeri, P. Kovács, Effect of granulocyte colony stimulating factor on bone marrow cells of children with acute lymphocytic leukemia. 2nd European Congress of Pharmacology, Budapest, Hungary, 1999.

13. **Benkő, I., P. Kovács, I. Szegedi, A. Megyeri, A. Kiss, E. Balogh, É. Oláh, J. Kappelmayer, C. Kiss,** Effect of myelopoietic and pleiotropoic cytokines on colony formation of blast cells of children with acute lymphoblastic leukemia. Intl. Soc. of Pediatric Oncology SIOF XXXII. Congress, Amsterdam, 2000.

Elsőszerzős előadás/poszter hazai kongresszusokon

01. **Benkő I., Kovács P., Czink I., Hernádi F., Ötvös L.,** Fluconazol és észterszármazékainak hatása egér csontvelő CFUc sejtjeinek kolóniaképzésére. Magyar Kemoterápiai Társaság VI. Kemoterápiai Konferenciája, Hajdúszoboszló, 1991.
02. **Benkő I., Kovács P., Kiss A., Hernádi F.,** Antifungális anyagok granulopoezisre gyakorolt in vitro hatása egér és human csontvelőtenyészetekben. Magyar Kemoterápiai Társaság VII. Kemoterápiai Konferenciája, Hajdúszoboszló, 1992.
03. **Benkő I., Kovács P., Kiss A., Hernádi F.** Azol antifungális anyagok hatása a csontvelő CFUc sejtjeinek kolóniaképzésére. XIV. Hematológiai napok, Debrecen, 1992.
04. **Benkő I., Kovács P., Káposzta R., Maródi L., Hernádi F.,** Granulocita-macrophag progenitor sejtek vizsgálata G-CSF-el kezelt congenitális neutropéniás gyermekekben. Immunfarmakológiai Konferencia, Debrecen, 1994.
05. **Benkő I., Kovács P., Káposzta R., Maródi L., Hernádi F.,** Citokin terápiában részesült congenitális neutropéniás gyermekek csontvelői progenitor sejtjeinek vizsgálata. Magyar Kemoterápiai Társaság IX.Konferenciája, Debrecen, 1994.
06. **Benkő I., Hernádi F., Megyeri A., Kiss A., Kovács P.,** Itraconazol hatása a granulopoesisre in vitro egér és human csontvelőtenyészetekben. Magyar Kemoterápiai Társaság XI.Konferenciája, Debrecen, 1996.
07. **Benkő I., Kovács P., Megyeri A., Szegedi I., Kiss Cs.,** Granulocita kolónia stimuláló faktor in vitro hatása akut leukémiás gyermekek blast sejtjeire. Immunfarmakológiai Konferencia, Debrecen, 1997.
08. **Benkő I., Kovács P., Megyeri A., Szegedi I., Kiss Cs.,** Granulocita-macrophag kolónia stimuláló faktor in vitro hatása akut leukémiás gyermekek blast sejtjeire. Magyar Kemoterápiai Társaság XII.Konferenciája, Debrecen, 1997.
09. **Benkő I., Kovács P., Megyeri A., Szegedi I., Maródi L., Kiss Cs.,** Citokinek hatása kóros progenitor sejtekre. Magyar Hematológiai és Transzfuziológiai Társaság Experimentális Hematológiai Szekció Tudományos Ülése, Budapest, 1998.
10. **Benkő I., Kiss Cs., Megyeri A., Aradi J., Szegedi I., Kiss A., Kovács P.,** Chelidonin tumorelles hatásának in vitro vizsgálata. Magyar Kemoterápiai Társaság XIII.Konferenciája, Debrecen, 1998.
11. **Benkő I. Kovács P., Megyeri A., Maródi L., Kiss Cs.,** Citokinek hatása kóros vérképző sejtekre. DOTE Tudományos Ülése, Debrecen, 1999.
12. **Benkő I., Kovács P., Hernádi F., Megyeri A., Kiss A.,** Antifungális anyagok hatása egér és human haemopoetikus kolóniaképző sejtekre. DOTE Tudományos Ülése, Debrecen, 1999.

13. **Benkő I.**, Megyeri A., Kiss A., Kovács P., Imidazol és triazol antifungális anyagok hatásának összehasonlítása ggranulocyta-macrophag progenitor sejttenyészetekben. Magyar Kemoterápiai Társaság XIV.Konferenciája, Debrecen, 1999.
14. **Benkő I.**, Megyeri A., Kiss A., Kovács P., Azol antifungális anyagok hatása in vitro granulocyta-macrophag progenitor sejtekre. Magyar Onkológusok Társasága XXIII. kongresszusa, Budapest, 1999.
15. **Benkő I.**, Karászi É., Megyeri A., Szegedi I., Kiss Cs., Kovács P., Alfa-interferon hatása B lymphoid sejtvonalak szaporodására, apoptózisára. Magyar Kemoterápiai Társaság XV. Konferenciája, Debrecen, 2000.
16. **Benkő I.**, Kovács P., Megyeri A., Szegedi I., Kiss Cs., Myelopoetikus és pleiotrop citokinek hatása myelodysplasiás szindrómában szenvedő gyermekek myeloid sejteinek kolóniaképzésére. Magyar Hematológiai és Transzfúziós Társaság Experimentális Hematológiai Munkacsoportjának Tudományos Ülése, Budapest, 2001.
17. **Benkő I.**, Kovács P., Szegedi I., Megyeri A., Kiss A., Balogh E., Oláh É., Kappelmayer J., Kiss Cs., Myelopoetikus és pleiotrop citokinek hatása ALL-es blast-sejtek kolóniaképzésére. Immunfarmakológiai Konferencia, Debrecen, 2001.
18. **Benkő I.**, Megyeri A., Hernádi F., Kiss A., Kovács P., Antifungális gyógyszerek hatása granulocyta-macrophag progenitor sejtek kolóniaképzésére. Immunfarmakológiai Konferencia, Debrecen, 2001.