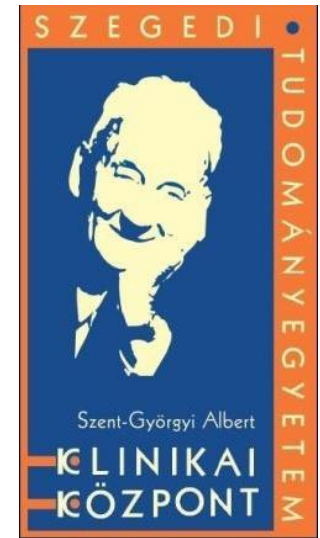


A nem biológiai szerek (methotrexat, leflunomid, azathioprine, cyclophosphamid, cyclosporin, mycofenolat, corticosteroidok) hatása az immunrendszerre, potenciális mellékhatásai



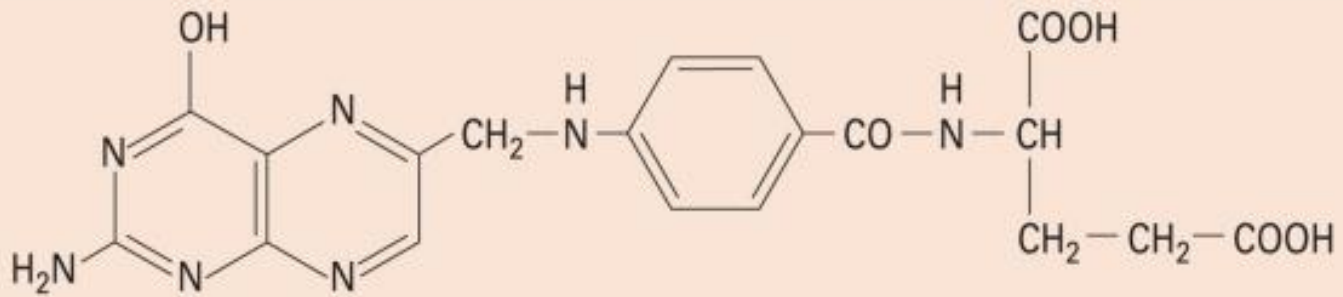
**Reumatológiai szakvizsga előkészítő és Immunológiai alapok tanfolyam**

Dr. Hulló Daniella

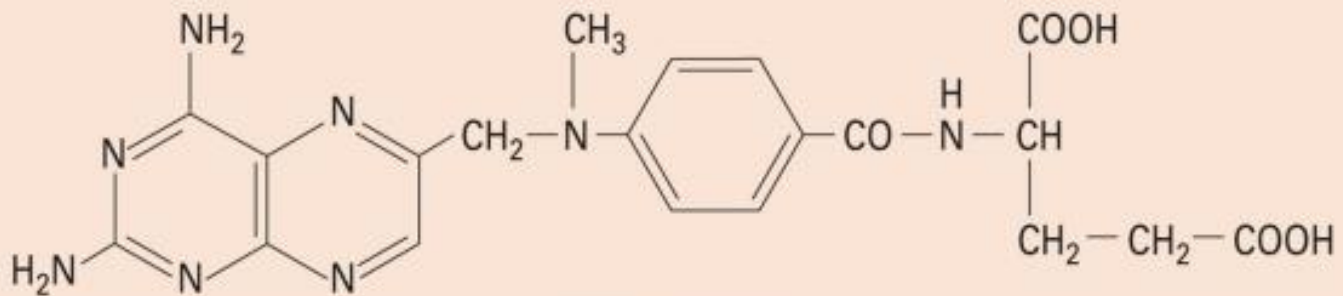
Szeged, 2018.11.08.

# Methotrexat

## CHEMICAL STRUCTURES OF FOLIC ACID AND METHOTREXATE



Folic acid

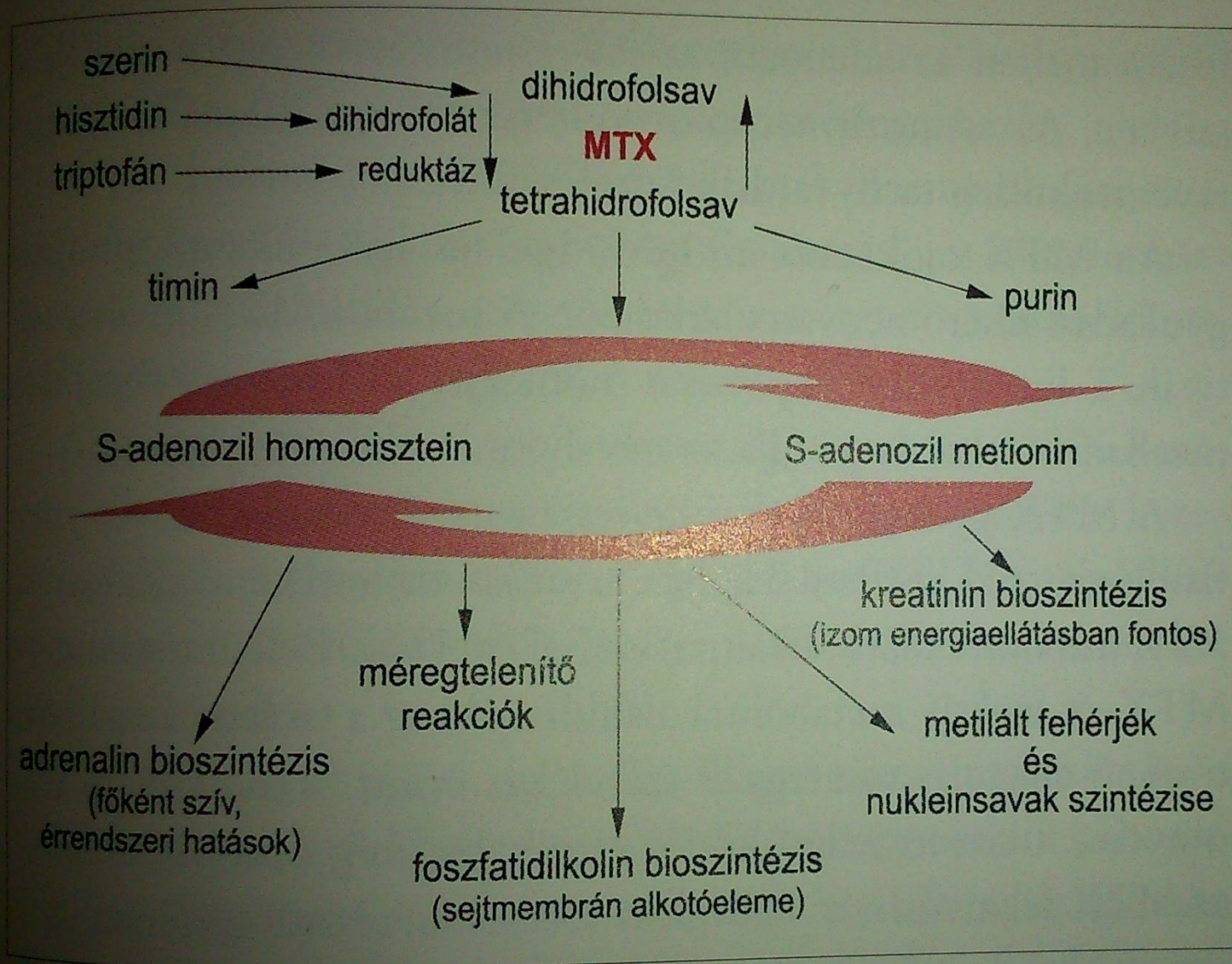


Methotrexate

# Methotrexat – folsav antagónista

- **A folsav** az intermedier anyagcserében alapvető szerepet játszó hidrogénszállító vegyület, főként a gyorsan osztódó szövetek, így a csontvelő és a daganatsejtek folsavigénye a jelentős
- A szerin-glicin átalakulás és a hisztidin és a triptofán lebontás során felszabaduló hidrogénnel **tetrahidrofolsavvá redukálódik**
- Purin bázisok és a timin bioszintéziséhez kell, a timin a DNS egyik építőeleme
- S adenzil homocisztein, S adenzil metionin átalakulását szintén a tetrahidrofolsav katalizálja
- S adenzil metionin kell a foszfatidil kolin, adrenalin, metilált fehérjék, metilált nukleinsavak, kreatinin bioszintéziséhez





1. ábra  
 Tetrahidrofolsav központi szerepe az intermedier anyagcserében

# Methotrexat (MTX)

- Az MTX a **dihydrofolát reduktáz kompetitív antagonistája**, így gátolja a DNS, RNS bioszintézist, protein bioszintézist
- Ezerszer erősebben kötődik a dihydrofolát reduktázhoz mint a folsav.
- Egy része **poliglutamáttá** alakul, mely sejteken belül marad, monoglutamátnál hatékonyabban gátolja a dihydrofolát reduktáz enzimet
- A poliglutamát gátolja az **4-aminoimidazol-4-carboxamid ribonukleotid (AICAR) transzformiláz enzimet**, mely alapvető szerepet játszik purin bázisok de novo bioszintézisében.
- **Fokozott adenozin koncentrációhoz vezet** – mely hatékony gyulladáscsökkentő, **IL-6, IL8, TNF  $\alpha$  szintézist gátol**,
- az adenozin AV csomó átvezetést is gátol, supraventricularis tachycardia kezelésre is jó

# Methotrexat immunmoduláns hatásai

I.

- **Apoptosis indukció**
  - Reaktív oxigén gyökök (ROS) fokozott termelődése révén a MTX apoptosist okoz
  - Gyorsan proliferáló lymphocytákban

# Methotrexat immunmoduláns hatásai

## II.

- **Cytokintermelés gátlása**

- TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-15, IL-17, IFN- $\gamma$
- IL-10 és IL-4 expresszió MTX-kezelt RA-es betegekben fokozódik
- Synovialis fibroblastok és lymphocyták interakcióját gátolja (IL-15, IL-6, IL-8, CD69 gátlása révén)
- NF- $\kappa\beta$  szuppresszió – az I $\kappa$ B $\alpha$  inaktiválás és lebomlás gátlása révén

# Methotrexat immunmoduláns hatásai

## III.

- **Adhaesiós molekulák expressziója csökken**
  - ICAM-1, ICAM-3, E-selectin,
- **Csontresorptio gátlása**
  - RANKL fehérje és mRNS csökken, OPG szekréció nő → osteoclastogenesis csökken



# Methotrexat adagolása

- Per os, vagy subcutan hetente 1x
- Tablettaként 33 %os, im mellett 76 %os biohasznosulás
- Bélbaktérium inaktív metabolittá alakíthatja
- Vancomycin, neomycin, fokozott bélműködés gátolja a felszívódást
- Obstipáció növeli
- Vesén át ürül
- Szalicilát, probenecid gátolja a tubuláris szekrécióját

# Methotrexat leggyakoribb mellékhatásai

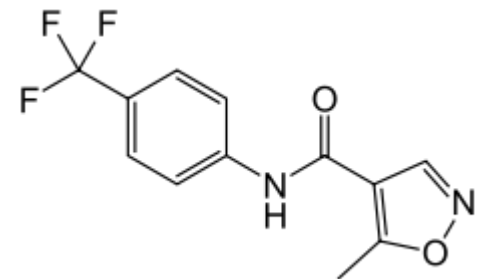
- Hányinger, hányás
  - Hepatotoxicitás
  - Csontvelő toxicitás
  - Alsó légúti fertőzés, pneumonitis
  - Tüdőfibrosis
  - Teratogén
- 
- Májfunkció, vesefunkció, vérkép kontroll!!!

# Methotrexat alkalmazási területei

- Rosszindulatú dagantok kezelése
- RA
- Psoriasis
- SLE
- Arteritis temporalis
- Dermatomyositis
- ANCA asszociált vasculitis
- PMR

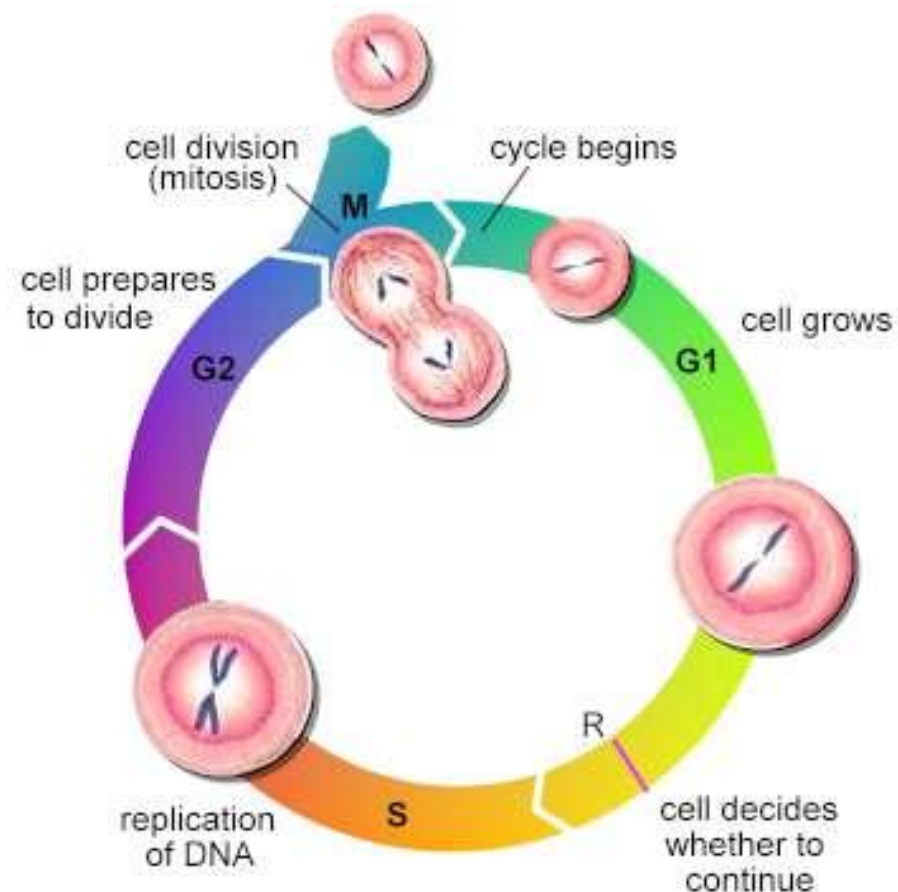
# Leflunomid

- Pirimidin antagonist, izooxazol származék
- Prodrug, és a metabolitja felelős a farmakológiai hatásért
- GI traktusban és májban aktív forma – teriflunomid lesz belőle



# Leflunomid hatásmechanizmusa I.

- **Tirozin kinázok gátlása**
- **De novo pirimidin bioszintézis**, elsősorban a dehidroorotsav-dehidrogenáz **gátlása** az aktív T-lymphocytákban
- Nyugvó T-sejtekre nem hat
- **Gátolja** a TNF $\alpha$  által indukált **NF  $\kappa$ B transzkripciós faktor aktiválódást**, mely számos proinflammatorikus citokin termelődést aktiválja



# Leflunomid hatásmechanizmusa II.

- Következményes hatások:
  - Csökkent IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , változatlan IL-6 szintézis (lymphocyta > monocyta hatás)
  - Csökkent adhaesiós molekula és MMP képződés
  - Gátolt osteoclastogenesis



# Leflunomid

- Leflunomid adagolás: Napi 20 mg, esetleg napi 10 mg per os
- Az aktív metabolit féléletideje 2 hét, enterohepatikus recirkuláció lassítja a kiürülést
- Kiürülés gyorsítható kolesztiraminnal (3x8 gr), aktív szénnel (4x50 gr) 10-12 napig.

# Leflunomid mellékhatásai

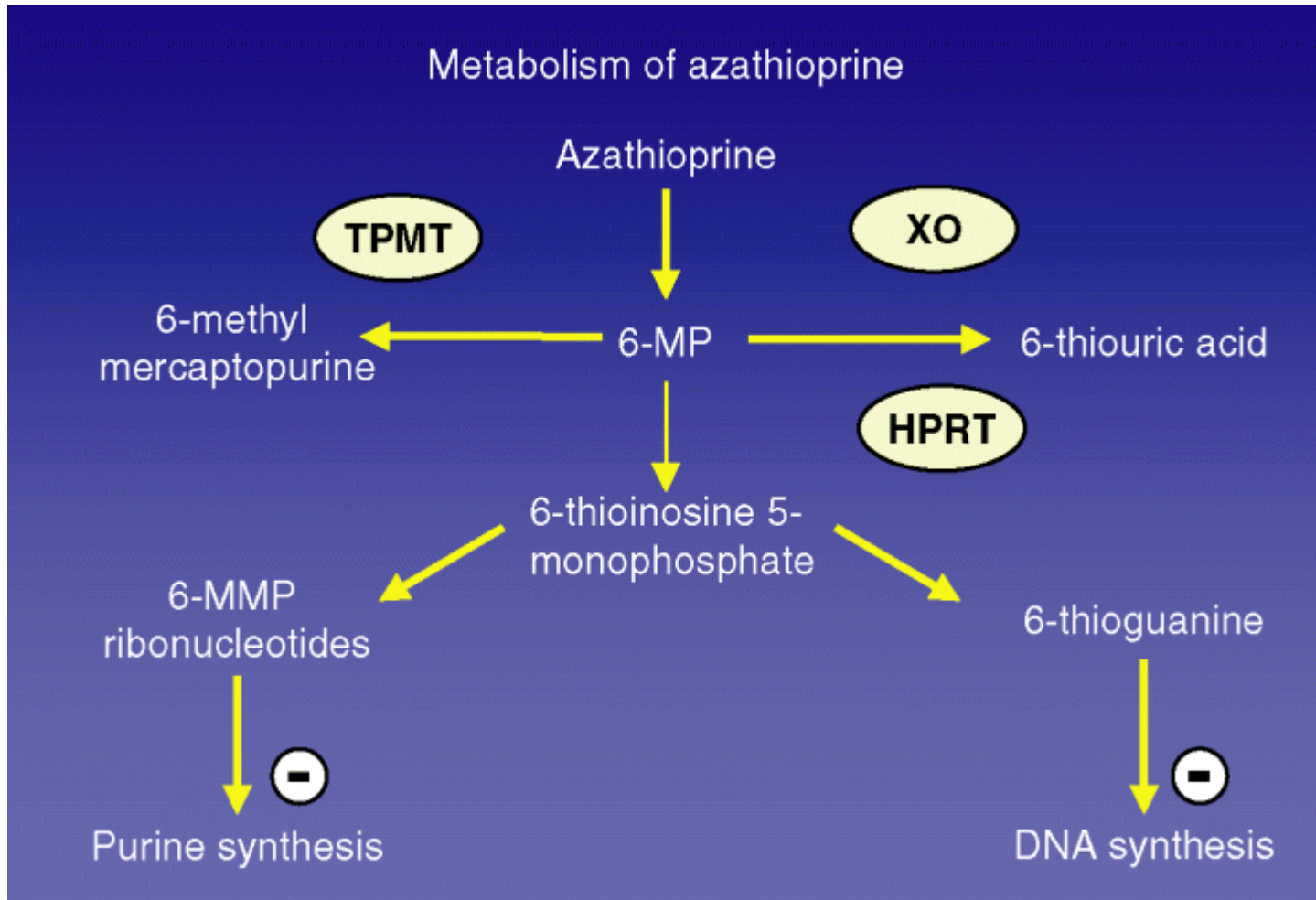
- Hasmenés
- Vérnyomás emelkedés
- Májfunkció, vesefunkció, vérkép!
- Alopecia
- Teratogén

# Leflunomid alkalmazási területei

- Alkalmazási területei
- RA
- Psoriasis
- Wegener granulomatosis (remisszió fenntartásra LEF > MTX),
- SLE (RCT nincs, SCLE-provokáló?),
- Felty syndroma
- Bullosus pemphigoid

# Azathioprine

- Purin analóg: aktív metabolitja a tiopurin- beépül a nukleotidláncba
- Gátolja a de novo DNS, RNS bioszintézist
- Csökkenti a keringő T és B lymphocyták számát
- Gátolja a B sejt antitest termelését és az NK sejt aktivitást
- Gátolja a purin szintézist
- IL-2 termelés csökkentése
- Ig termelés gátlása



# Azathioprine adagolás

- per os
- 2-3 mg/tskg
- Kezdő adag 50-75 mg



# Azathioprine mellékhatásai

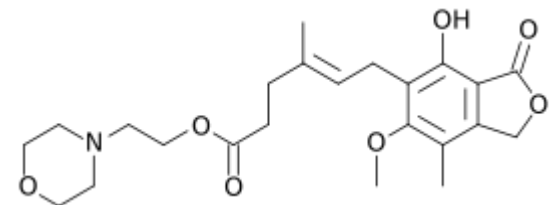
- Hányinger, hányás, hasmenés
- Transzamináz szint emelkedés, hepatitis
- Myelosuppresszio
- pancreatitis
- Sulphasalazinnal együtt sem ajánlott: fokozza AZA toxicitását
- Xantin oxidáz gátló ALLOPURINOL (Milurit) együtt ne adjuk , 75%-os AZA dózisredukcióra lenne szükség
- Febuxostatra (Adenuric) is ez vonatkozik

# Azathioprine alkalmazási területek

- SLE, lupus nephritis
- Polymyositis, polyarteritis nodosa
- Gyulladásos bélbetegség
- Szervtranszplantáció
- RA
- Behcet (uveitis), bullosus pemphigoid, atopiás dermatitis
- Myasthenia gravis

# Mycofenolat-mofetil

- Mycofenolsav: **purin antagonista**
- **Penicillin stoloniferum** terméke, illetve ennek észtere a mycofenolat-mofetil – ami prodrug, májban mycofenolsavvá bomlik, és szelektív purin szintézisgátló – inozin monofoszfát dehidrogenázt reverzibilisen gátolja **-erősen lymphocyta szelektív**,kevésbé csontvelőtoxicus



# Mycofenolat-mofetil immunrendszeri hatásai

- T és B lymphocyta proliferáció gátlás
- Cytokin-termelés gátlása (nem közvetlen)
- Antitesttermelés gátlása
- Cytotoxikus sejtek képződésének gátlása
- Adhaesiós molekulák (E- és P selectin, LFA, VLA-4...) expressziójának gátlása
- Nincs hatással: phagocytosis, ROS-termelés, degranulatio (természetes immunrendszer)

# Mycofenolat-mofetil mellékhatásai

- Hasmenés, hányinger, hányás
- Leukopenia, lymphopenia
- Eset: májfunckciós értékek emelkedése egy SS/myositises betegben

# Mycofenolat-mofetil

- **Alkalmazásai területei:**
- Vesetranszplantáció
- Off-label engedély birtokában SLE – indukciós és fenntartó immunszuppresszív kezelésként is
- **Adagolása** SLE-ben: napi 2000 mg per os



# Cyclophosphamid

- **Alkilálószer**
- DNS-hez kötődve, gátolják a kettőződést a premitotikus fázisban
- Aktívabban osztódó sejtekre kifejezettebb a hatásuk, de nem szelektív
- Inaktív előanyag, májban a citokróm p450 hatására hidroxilálódik, majd **aldofoszfamid**dá alakul, ebből keletkezik a foszforamid mustár – mely daganatellenes, immunszuppresszív hatású
- **Humoralis és cellularis immunválaszt is gátolja, csökkent a T lymphocyta. B lymphocyta szám, antitest termelés is.**

# Cyclophosphamid mellékhatásai

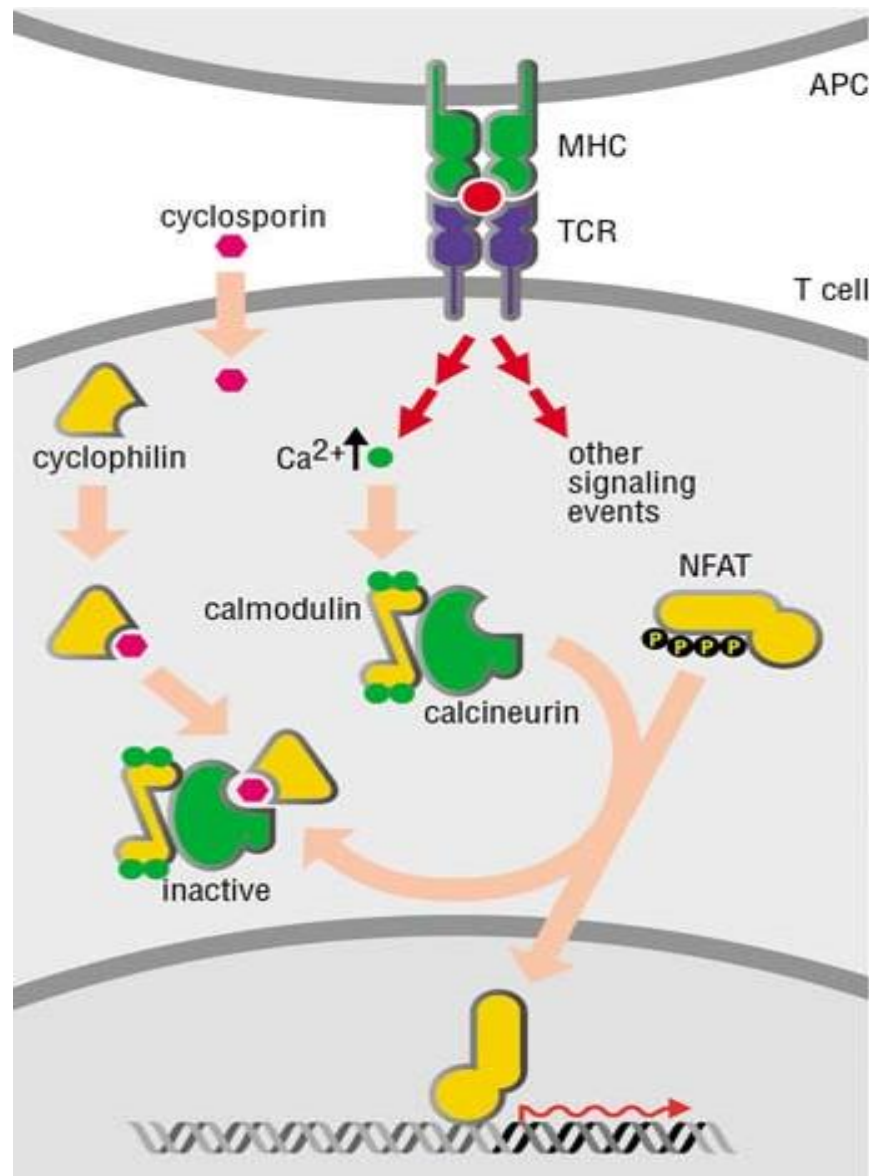
- Csontvelő depresszió
- Leukopenia, lymphopenia (10 napos vérkép)
- Hyponatraemia hányás, hasi görcs - SIADH
- Hányinger, hányás
- Toxikus hepatitis
- Alopecia
- Amenorrhoea, azoospermia
- Teratogén
- Hólyagcarcinoma
- Nagy adagok mellett haemorrhagiás cystitis

# Cyclophosphamid alkalmazási területei

- SLE
- Vasculitis
- Myositis
- Alveolitis, tüdőfibrosis
- Systemas sclerosis
  
- Iv havonta

# Cyclosporin-A

- *Beauveria nivea* (*Tolyocladium inflatum*) gombából származó, 11 aminosavból álló peptid
- Komplex immunosuppresszív hatása van
- Intracelluláris kötőfehérjéhez a **cyclophilinhez kötődik**, ez az enzim a **kalcineurin aktiválását** végzi (Ca dependens szerin-treonin-foszfatáz)



# Cyclosporin-A (CSA)

- CSA és cyclophyllin komplex meggátolja a **kalcineurin működését**, elmarad a NF-AT (aktivált T sejtek nukleáris faktora) aktivációja
- Az NF-AT főként az IL-2, IL-3, IL-4, TNF  $-\alpha$ , INF- $\gamma$ , GM-CSF transzkripciójához szükséges.

# Cyclosporin immunológiai hatásai

- Naiv és memória T-sejtek aktivációjának gátlása
- T-sejt dependens B-sejt válasz csökkentése
- CD4+ CD25+ Treg sejtek aktivációja is csökken
- TGF- $\beta$  transzkripció fokozása (Th3)
- CD40L expresszió gátlása  $\rightarrow$  csökkent T-B lymphocyta kostimuláció

# Cyclosporin-A mellékhatásai

- Vesetoxicitás, szerum kreatinin szint emelkedés
- Hypertonia
- Hányinger, hányás, izomgörcs
- Gingiva hyperplasia

# Cyclosporin-A alkalmazási területei

- Szervtranszplantáció
- RA
- Arthritis psoriatica, psoriasis vulgaris
- Uveitis
- atopiás dermatitis,
- dermatomyositis
- systemás lupus erythematosus,
- nephrosis syndroma,
- Behcet-kór,
- myasthenia gravis
- aplasticus anaemia
- autoimmun hepatitis
- Crohn betegség



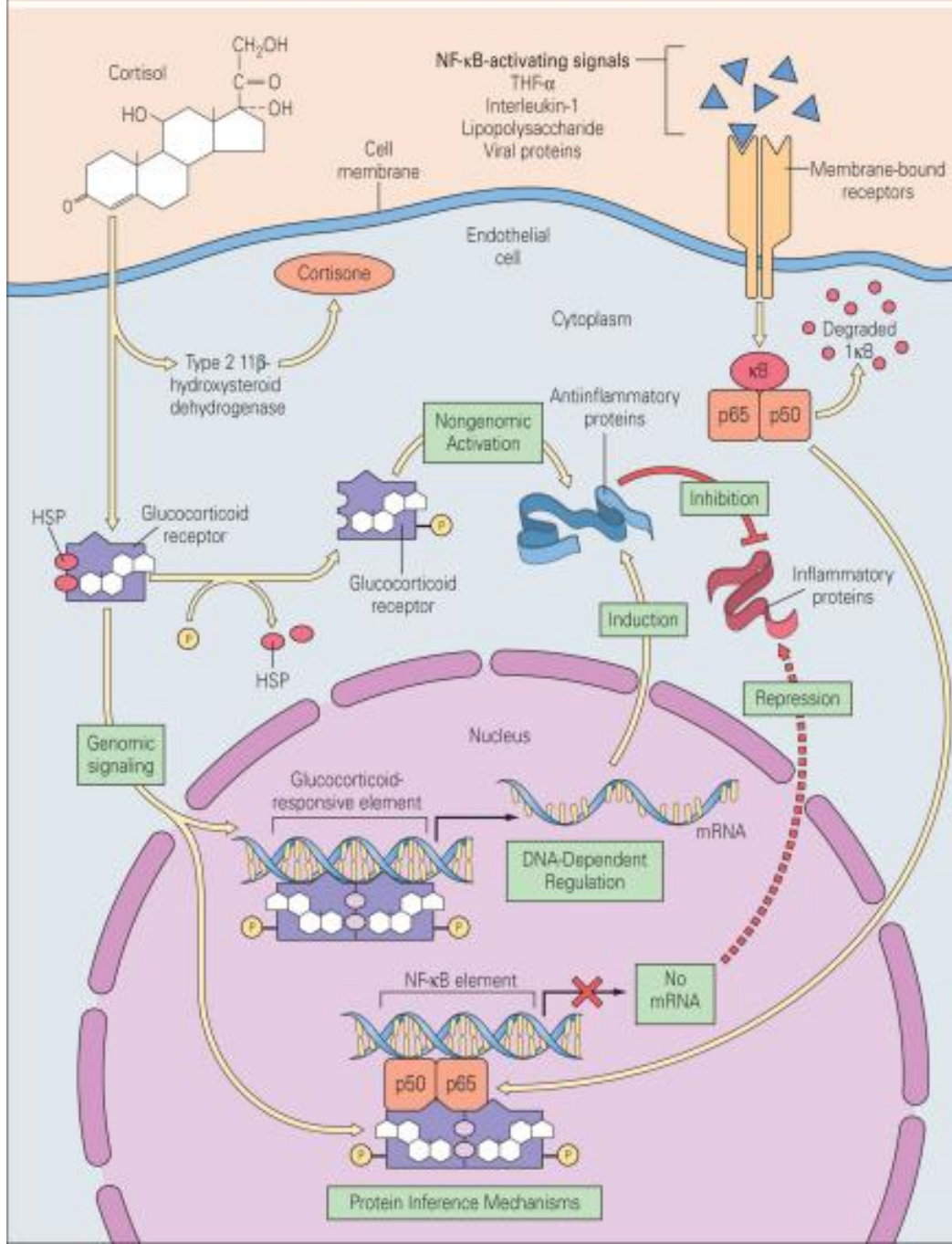
# Corticosteroidok

- A leghatékonyabb gyulladáscsökkentő vegyületek, számos ponton szabályozzák az immunrendszer működését

# Corticosteroidok hatásmechanizmusa

- Mivel lipidoldékony, diffúzióval vagy transzportmechanizmussal keresztül jut át sejtmembránon és **az intracellularis receptorához kötődik**
- A receptor-hormon komplex **bejut a sejtmagba**
- Speciális **DNS szakaszokhoz kötődik** (glucocorticoid response element)
- Majd transzaktivációval **szabályozza számos gén aktiválódását**, így serkenti, vagy gátolja bizonyos RNS molekulák és ezekből keletkező proteinek szintézisét

THREE GENERAL MECHANISMS OF ACTION OF GLUCOCORTICOIDS AND GLUCOCORTICOID RECEPTOR IN THE INHIBITION OF INFLAMMATION



Nem-genomikus hatások

Forrás: Hochberg Textbook of Rheumatology

Genomikus hatások:

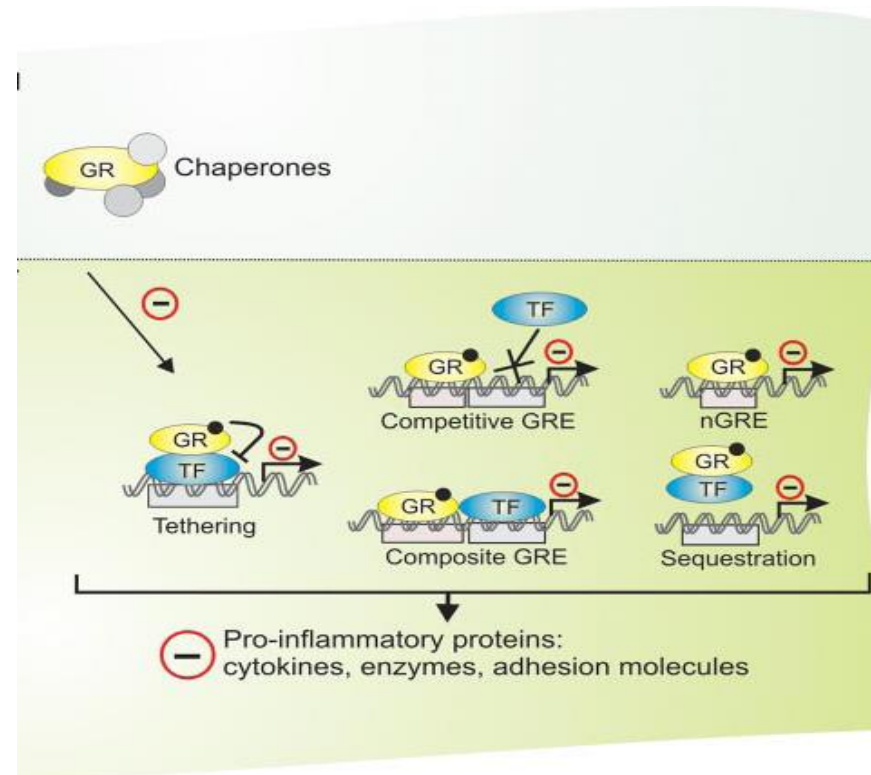
Transzaktiváció

Transzrepresszió

# Corticosteroidok celluláris hatásmechanizmusa - transzrepresszió

- Receptor-kortikoszteroid receptor komplex főképp az **AP-1 és NF- $\kappa$ B transzkripciós faktorhoz kapcsolódva gátolja a működésüket.**
- A corticosteroid **indukálja az I $\kappa$ B $\alpha$  protein termelődését, mely az AP-1hez és az NF- $\kappa$ B-hoz kötődve további transzkripció gátlást okoz.**

NF- $\kappa$ B számos gént szabályoz: IL-2, IL-2 receptor, IL-3, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , GM-CSF, indukálható NO-szintáz, ICAM-1, E-szelektin gének.



AP-1: activator protein-1

ICAM-1: intercellular adhesion molecule-1

# Corticosteroidok celluláris hatásmechanizmusa - transzrepresszió

- Csökkent TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-17, IL-12, COX-2
- Gátolt T-lymphocyta aktiváció és proliferáció
- Gátolt antitesttermelés
- ICAM-1, E-selectin csökkent expresszió

# Corticosteroidok celluláris hatásmechanizmusa – transzaktiváció

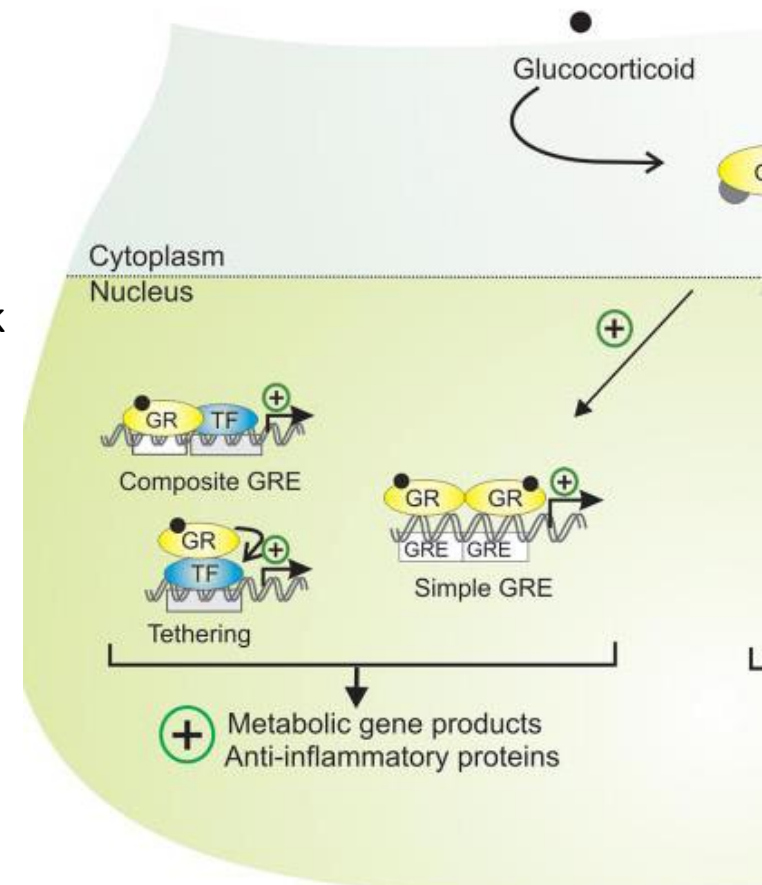
➤ **Gátolja a foszfolipáz A2 (PLA2)** enzimet, csökkenti a transzkripcióját, így csökken a prosztaglandinok és leukotriének szintézise, melyet a lipocortin indukciójával fejt ki.

➤ **Csökken a kemotaxis, csökkent érpermeabilitás jellemző**

(Keringő granulocyták száma nő, de nem tudnak a gyulladás helyére vándorolni és ott megtapadni.)

➤ **GSK-3 $\beta$  – Wnt szignálút gátlása: osteoblast képződés gátlása**

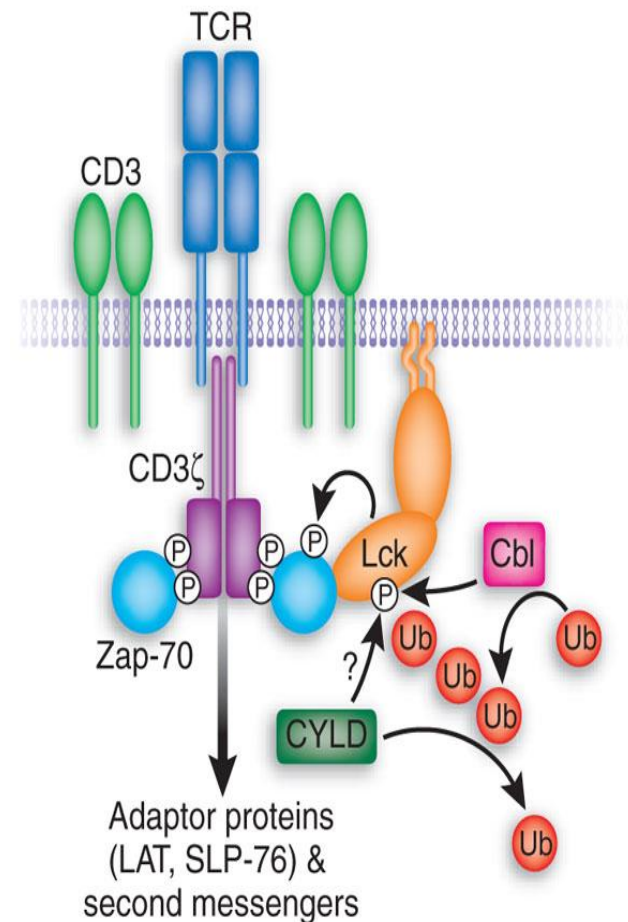
➤ **RANKL  $\uparrow$  (OPG  $\downarrow$ )**



# Corticosteroidok celluláris hatásmechanizmusa – nem-genomikus hatások

- Calcium-influx, neutrophil degranulatio, phagocytosis, chemotaxis gátlása
- NO felszabadulás (protein-kináz B aktiválódása)

Lehet **specifikus és nem specifikus nem genomos hatás**. A **specifikus** a sejtmembrán és a mitokondrium corticosteroid receptorain keresztül valósul meg néhány perc alatt (30-200 mg dózis). A **nem specifikus** a biológiai membránokon és a nem spec. Cortocosteroid receptorokon át, másodpercekkel a 250 mg feletti dózis esetén



# Glucocorticoidok immunmoduláns hatásai

- Gyulladásgátlás (PLA2, COX2, béta-adrenerg, NO, phagocytosis, chemotaxis, neutrophil degranulatio gátlása)
- Th1 és Th2 cytokinek termelésének gátlása (IL1, IL6: akut fázis reakció csökkentése)
- T és B lymphocyták aktivációjának, proliferációjának gátlása, számuk csökken
- Adhaesiós molekulák expressziójának csökkentése → csökkent sejtes exsudatio, homing, neutrophil marginalis pool csökkenése → leukocytosis
- Eosinophilia gátlása



# Corticosteroidok

- Gyulladásgátló hatások többsége: transzrepresszió
- Mellékhatások többsége: transzaktiváció
  - Osteoporosis, hyperglycaemia, myopathia, bőr-atrophia

# Corticosteroid

- Biológiai hatás kezdetéhez legalább 30 perc szükséges
- Nagyobb dózis (100 mg feletti prednisolon) esetén non-genomikus hatás is érvényesül – akár percekkel a beadás után

# Corticosteroid legfontosabb mellékhatásai

- Cushingizálódás
- Hypothalamus-hypophysis-mellékvese szabályozás zavara
- Na-retenció, hypokalaemia, hypertensio
- Glükóztolerancia romlása
- Hyperlipidaemia
- Lassult sebgyógyulás
- Osteoporosis
- Ulcerogen hatás
- Cataracta, glaucoma
- Szteroid myopathia
- Psychés zavarok

Köszönöm a figyelmet!

