12. Fejezet: KÉMIAI TERATOGENEZIS

A. BEVEZETÉS

1. A kémiai teratogenezis fogalma. **2.** A magzati fejlődési zavarok gyakorisága és okai.

B. A TERATOGENEZIS TÖRTÉNELMI PÉLDÁI

1. 1914, Ausztrália – Rubeola járvány; **2.** 1960, Németország – Talidomid (Contergan®); **3.** 1966-69, USA – Dietilstilbösztrol (DES); **4.** 1970-es évek, USA – Etanol; **5.** 1980-as évek, USA – Isotretinoin (Acutane®, Roacutane®).

C. HUMÁN KÉMIAI TERATOGÉNEK

I. GYÓGYSZEREK: ACE gátló szerek, androgének, antibiotikumok (tetraciklinek), antiepileptikumok (phenytoin, trimethadion, valproát), antitiroid szerek, antitumor szerek (alkilálók: cyclophosphamid, buszulfán; folsav-analógok), bosentan, dietilstilbösztrol (DES), D-vitamin túladagolás, fémkelátorok (penicillamin), kumarinok, lítium, leflunomid, retinoidok, talidomid.

II. ÉLVEZETI SZEREK: Etanol, dohányfüst, kokain.

III. EGYÉB VEGYSZEREK, KÖRNYEZETSZENNYEZŐK
Etilén-oxid, poliklórozott bifenilek (PCB), TCDD (dioxin), fémvegyületek (pl. metil-Hg, ólom).

D. A GYÓGYSZEREK TERHESSÉG ALATTI KOCKÁZATÁNAK JELLEMZÉSE

I. OSZTÁLYOZÁS A, B, C, D és X CSOPORTOKBA – 1979-2015 között érvényes US FDA eljárás.

II. LEÍRÓ JELLEMZÉS A GYÓGYSZERTÁJÉKOZTATÓBAN terhesség, szoptatás és termékenység alcímek alatt – a *Pregnancy& Lactation Labeling Rule* rendszer – 2015-től érvényes US FDA eljárás.

E. A XENOBIOTIKUMOK VIZSGÁLATA REPRODUKTÍV- ÉS FEJLŐDÉS-TOXIKOLÓGIAI HATÁSRA

I. TESZTELÉS ÁLLATOKON – Reproduktív toxikológiai („reprotox”) vizsgálatok.
1. Fertilitási és korai embrionális fejlődési teszt.
2. Pre- és posztnatális fejlődési teszt.
3. Embrionális/fötális fejlődési teszt – „teratogenitási teszt”.

II. HUMÁN EPIDEMIOLÓGIAI VIZSGÁLATOK A MÁR ALKALMAZOTT GYÓGYSZEREKKEL
1. „Case-control” vizsgálatok.
2. „Cohort” vizsgálatok.

F. A KÉMIAI TERATOGÉN HATÁSOK JELLEMZŐI

I. Hatástípusok
II. Dózis – hatás összefüggés
III. Gesztációs kor – hatás összefüggés

G. A KÉMIAI TERATOGÉN HATÁSOK MECHANIZMUSA

I. AZ ANYAI TOXICITÁS MINT A TERATOGÉN HATÁS ALAPJA – Állatkísérletes példák.
II. A PLACENTÁLIS TOXICITÁS MINT A TERATOGÉN HATÁS ALAPJA
III. A MAGZATRA IRÁNYULÓ TERATOGÉN HATÁSOK MECHANIZMUSA
1. Sejtszintű mechanizmusok: DNS károsodás, az intracelluláris jelátvitel zavara, direkt sejtkárosodás az embrióban.
2. Szervrendszer-szintű mechanizmusok. Pl. a keringést érintő hatás – ACE gátlók; a velőcső záródását késleltető hatás – folsavhiány; a csontképződést gátló hatás – kumarinok.

H. FÜGGELÉK

1. A talidomid hatásmódja – *1. teória*: Glutamin-mimikri, transzkripciós faktorok gátlása.
2. A talidomid hatásmódja – *2. teória*: Kötődés a cereblonhoz, transzkripciós faktorok degradálása.
3. A talidomid hatásmódja – *3. teória*: Toxikus metabolit (kinon)-képződés az embrióban.

A. BEVEZETÉS

1. A kémiai teratogenezis fogalma

Szűkebb értelemben: A terhes szervezetébe került kémiai anyag által kiváltott magzati torzképződés (görögül: teras, teratos = szörny vagy csoda).

Tágabb értelemben: A terhes szervezetébe került kémiai anyag által kiváltott magzati fejlődés-zavar, amely megnyilvánulhat:
- Torzképződésben (= malformáció)
- Funkcionális károsodásban
- Növekedési deficitben
- Magzati halálban.

2. A magzati fejlődési zavarok gyakorisága és okai

A sikeres kimenetelű terhességek arányát meglepően alacsonyra becsülik: a terhességek kevesebb, mint felében születik teljesen egészséges újszülött (Schardein, 1993).

Az emberi terhességek kimenetele	
SIKERES	<50%
SIKERTELEN	
• Abortusz – általában észrevétlen	30%
• Veleszületett: - Idegrendszeri működészavar	16%
- Enyhe malformáció	14%
- Növekedési elmaradás	7%
- Súlyos malformáció	4%
• Újszülöttkori halál	1%

A magzati fejlődési zavarok okai	
ISMERETLEN	65%
ISMERT	
• Genetikai hátterű	15-25%
• Anyai betegség: pl. diabetes, epilepszia, láz, kezeletlen asztma	4%
• Anyai fertőzés: pl. rubeola, CMV, toxoplasmosis, listerosis, zika vírus	3%
• Mechanikai zavarok a méhben	1-2%
• *Kémiai expozíció*	<1%

Az alsó táblázat utolsó sorában feltüntetett adat ellenére hazánkban évi 5-6 ezer terhességet szakítanak meg vélelmezett gyógyszerártalom indikációjával. 2015-ben kb. 31 ezer terhesség megszakítás történt és 85 ezer gyermek született.

B. A KÉMIAI TERATOGENEZIS TÖRTÉNELMI PÉLDÁI

Az első felismert exogén ágens által okozott „torzfejlődési járványt” nem egy testidegen vegyület, hanem élő kórokozó okozta – a rubeola vírus. A vírus okozta teratogenitás megjelenési formái azonban tanulságul szolgáltak a xenobiotikumok, gyógyszerek okozta fejlődési rendellenességekre vonatkozóan is.

Hírhedt teratogén tragédiák		
1940-41, Ausztrália	**Rubeola járvány**	Szem-, szív-, fül-malformációk, mentális retardáció.
1960, Németország	**Talidomid (Contergan®)**	Phocomelia, amelia
1966, Boston, USA	**Dietilstilbösztrol (DES)**	Vaginális *clear cell* adenocarcinoma – transzplacentális karcinogenezis.
1970-es évek, USA	**Etanol**	Fötális alkohol szindróma
1980-as évek, USA	**Isotretinoin (Acutane®, Roacutane®)**	Cardiális, Craniofaciális, és CNS malformációk.

1. 1940-41, Ausztrália – Rubeola járvány

A rubeola teratogén hatását egy ausztrál szemorvos fedezte fel: „...In 1941 an Australian ophthalmologist, *Sir Norman Gregg*, discovered that an unusual number of his infant patients, born with cataracts, had been conceived during a 1940 rubella epidemic. Doctors then began to recognize many other birth defects resulting from maternal rubella, including abnormalities in the heart, limb deformities, deafness and mental retardation." – Cataracta = szürkehályog, a szemlencse elszürkülése, az áttetszőségének megszűnése.

Kétféle veleszületett rendellenességet okozhat a rubeola:
- *Szervi defektusokat* – Típusuk attól függ, hogy melyik gesztációs hónapban történt a fertőzés.
  - *Szív és szem* – ha az fertőzés az 1-2. hónapban történt.
  - *Fül* – ha az infekció a 2-3. gesztációs hónapban történt.
- *Mentális retardációt.*

Fejlődési zavart csak az 1. trimeszterben idéz elő a rubeola. Ezek gyakorisága attól függ, hogy melyik gesztációs hónapban érte az anyát a rubeola fertőzés: 1. hó, 61%; 2. hó, 26%; 3. hó, 13%.

Következtetés*: A teratogén hatás formája is és gyakorisága is a behatás idejétől (a gesztációs kortól) függ.*

2. 1960, Németország – Talidomid (Contergan®)

Történet
- 1957: A Chemie Grünenthal bevezeti a talidomidot Contergan® néven. A talidomid egy dioxo-piperidin származék, mint a glutethimid (valaha a Noxyron tablettában). Indikáció: alvászavar, terhességi hányinger!
- A Hamburgi Egyetemi Klinika adatai a phocomelia előfordulásáról:
  1959: **1** eset – jóllehet az előző 20 évben egyetlen phocomelia sem volt! 1960: **30** eset, 1961: **154** eset!
- 1961-ben Dr. Widukind Lenz német gyermekorvos és Dr. William McBride ausztrál szülész arra következtetett, hogy *az esetek okozója a talidomid*!
- 1961 végére *a talidomidot visszavonják.*

Talidomid-okozta elváltozások
- Leggyakoribb: *amelia* = végtaghiány; *phocomelia* = csökevényes végtag. Későbbi vizsgálatok igazolták, hogy a legsúlyosabb deformitások akkor következtek be, amikor az anya a megtermékenyítést követő 20. és 36. napok között (a 3.-5. hét alatt) szedett talidomidot. Akár 50 mg is teratogén volt!
- Ritkábbak: szív, szem, bél, vese malformációk; külső-fül deformitások.

Megállapították, hogy 46 országban több mint 10 000 gyermek született talidomid-okozta súlyos deformitással (az ilyen gyermekek fele meghalt)! Magyarországon nem került forgalomba a talidomid, így hazai eset nem volt. Az USA-ban a forgalomba hozatali kérelmet az FDA vizsgálta, de – ***Frances Oldham Kelsey*** (1914-2015) újabb és újabb aggályai miatt – az ügy elhúzódott. Közben kiderült a szer teratogenitása, így ott sem vezették be a talidomidot. Kennedy elnök 1962-ben kitüntette Kelsey-t – lásd a Wikipédiában.

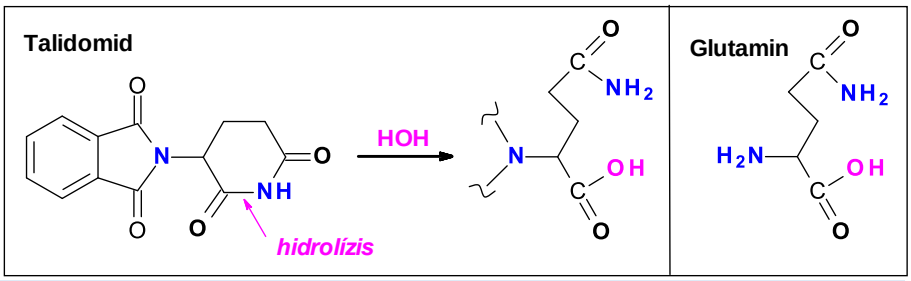
A talidomid tragédia okai
- A gyógyszerek teratogenitási vizsgálatát nem szabályozták szigorúan, pl. csak egy állatfajon tesztelték.
- A talidomid teratogén hatása faj- és törzsfüggő:
  - Nem teratogén rágcsálókban (egér, patkány, hörcsög) – teoretikus magyarázatát lásd a 3. Függelékben.
  - Teratogén a legtöbb nyúltörzsben és a főemlősökben – ezeken akkor nem végeztek teratogenitási tesztet.

A talidomid-tragédiát követő intézkedések
- Az UNESCO megalapítja az *International Clearinghouse for Birth Defect Monitoring System*-et.
- A teratogenitási vizsgálatok szigorítása – 1966-ban *az US FDA új vizsgálati protokollt vezet be*:
  - Legalább 2 speciesen végzendő: rágcsálón és nem rágcsálón (pl. nyúlon).
  - A vizsgálati protokoll 3 részből (segment) álljon:
    - Segment I. **Fertilitási teszt:** Hím és nőstény állatok kezelése pároztatás előtt, a gametogenezis alatt.
    - Segment II. **Teratogenitási tesz:** A terhes állat kezelése a szervfejlődés alatt.
    - Segment III. **Perinatális toxicitási teszt:** A terhes állat kezelése a szervfejlődés után és a laktáció alatt.

  Jelenleg ennek a tesztrendszernek egy továbbfejlesztett változatát használják – lásd a 10-11. oldalakon.

A talidomid teratogén hatásának mechanizmusa – számos teória magyarázza, mint pl. a következő három:

- A talidomid hidrolízisének terméke a glutamint utánozva gátolja olyan *transzkripcós faktorok* DNS-hez való kötődését, melyeknek a DNS-aktiváló doménja glutaminban gazdag – ilyen az Sp1 és Egr1. Ezzel a talidomid károsítja a magzati végtagfejlődést (lásd az 1. Függeléket).

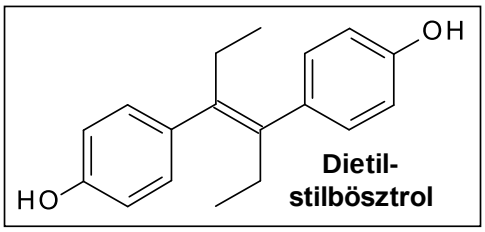


- A talidomid a cereblon fehérjéhez kötődve fokozza egyes *transzkripciós faktorok* (pl. IKZF1 és IKZF3) proteoszómális degradációját, ezzel károsítja a magzati végtagfejlődést (lásd bővebben a 2. Függelékben).
- A talidomid a magzati (és/vagy) a placentális CYP3A hatására citoxikus metabolitot (kinont) képez, amely kovalensen kötődve és/vagy redox körforgás révén $O_2^{\bullet-}$, HOOH, és $HO^{\bullet}$ metabolitokat termelve károsítja a magzati végtagfejlődést (lásd a további részleteket a 3. Függelékben).

A talidomidot és származékait (lenalidomid és *pomalidomid) ismét használják gyógyszerként!* Ezek a szerek:

- Gátolják a plazma sejt (B sejt)-eredetű *daganatok* (myeloma multiplex és a B-sejtes limfómák) növekedését. A talidomid és analógjai a cereblonhoz kötődve fokozzák a B sejtek éréséhez fontos IKAROS típusú transzkripciós faktorok (pl. IKZF1 és IKZF3) proteoszómális degradációját – lásd a 2. Függelékben.
- Gátolják gyulladásos citokinek (TNF, IL1) termelését immunsejtekben → *erythema nodosum leprosum.* Az utóbbi kór kezelése kapcsán Braziliában újabb „talidomid epizódot" figyeltek meg az 1990-es években!
- Gátolják az angiogenezist (lásd az 1. Függelékben), ezért alkalmazhatók a *diabetes retinopátia* kezelésére.

3. 1966-69: USA – dietilstilbösztrol (DES)



Története

- 1966-69, Boston (Massachusetts General Hospital): Hét fiatal (15-22 éves) nőben észleltek *vaginális clear cell adenocarcinomát* (VCC). Nem láttak ilyen esteket a megelőző 30 év alatt!
- Epidemiológiai vizsgálat (ún. „case-control study") eredménye: A daganatos nők édesanyja DES-kezelést kapott terhessége alatt, a 18. gesztációs hét előtt. Indikációja fenyegető vetélés (!?) volt. A leánygyermekekben („DES daughters") *transzplacentális karcinogenezis* történt!

A DES-okozta elváltozások

- VCC – gyakorisága az exponáltakban szerencsére csak 1/10 000 – 1/1 000; bár így is kb. 40-szer gyakoribb, mint azokban a nőkben, akik nem szenvedtek el transzplacentális DES expozíciót.
- Egyéb elváltozások – gyakoriságuk igen magas, >75% volt.
  - Leánygyermekekben:
    > Mikroszkópos lelet: *vaginális adenosis* = a cervix külső felszínét és a vaginát fedő, rendesen csak laphámsejtekből álló nyálkahártyában oszlopos hengerhám-szigetek vannak; prekancerózus elváltozás. Feltételezhetően a DES egy embrionális struktúra, a *Müller vezeték* sejtjein fejti ki a hatását; azok hengerhámsejtjeinek laphámsejtekké történő differenciálódását gátolja – bővebben lásd a 15. oldalon.
    > Makroszkópos lelet: vaginális és cervicális *kötegek és polipok.*
  - Fiúgyermekekben: A *herében* hipotrófia, induráció észlelhető; a spermiumképzés mennyisége és minősége elégtelen. A *mellékherében* ciszta képződhet, a *húgycsőben* hypospadiasis alakulhat ki.

4. 1970-es évek: USA – Etanol (Az etanol teratogén hatását ekkor írták le, de nyilván korábban is létezett.)

Fötális alkohol szindróma (FAS) a terhesség alatt alkoholizáló (>70 g tiszta etanol/nap) anyák újszülöttjein

A FAS tünetei

- Craniofaciális jelek: Távol ülő szemek, pici és fitos orr, a philtrum hiánya, epicanthusredő a szemzugban.
- Növekedési zavar – alacsony születési súly.
- Immunhiány – gyakran történnek fertőzések csecsemőkorban.
- Mentális fejlődési zavar (alacsony IQ) – *A terhesség alatti alkoholfogyasztás a mentális retardáció fő oka.*

5. 1980-as évek: USA – isotretinoin, ACUTANE® (nálunk ROACUTANE®)

Története

- 1982-ben került forgalomba a 13-cisz-retinoinsav (13-cisz-retinolsav, isotretinoin) ACUTANE® néven. Indikáció: súlyos cisztikus *akne* helyi és szisztémás kezelése. – Emlékeztető: Mi a klórakne; valóban akne?
- Előzmények: Az isotretinoin állati teratogén hatása ismert volt. Teratogén a retinolsav (all-trans retinoic acid, ATRA) és a nagy dózisú (>10 000 IU/nap) retinol (az A vitamin) is. Megfelelő mértékű A vitamin bevitel (5000 IU/nap) azonban szükséges az embrionális fejlődéshez!

  Az ismert állati teratogenitása miatt figyelmeztetéssel hozták forgalomba az ACUTANE-t:
  - Alkalmazása terhes nőkön TILOS!
  - Több hónappal a kívánt terhesség előtt abba kell hagyni a kezelést!
- 1983-tól mégis többszáz újszülött született fejlődési defektusokkal a figyelmeztetés negligálása miatt.

*Isotretinoin-okozta malformációk – „**3C**”*

- Cardiális defektusok (a szívben és az aortaívben); thymus-hiány.
- Craniofaciális defektusok – pl. anotia = fülhiány.
- CNS – a nervus opticus és a belső-fül defektusai, hydrocephalus.

Ezek a defektusok a *neural crest* (NC; velősánc) fejlődésének zavarát tükrözik. Az embrionális NC sejtek pluripotens őssejtek, amelyek több irányban migrálva különböző szövetelemekké differenciálódnak: a craniofaciális régióban pl. csonttá, porccá és idegekké; a cardiális régióban a szívben lévő szeptumokká, az aortaív simaizom- és kötőszövetévé, valamint thymusszá (de a NC sejtekből erednek a melanocyták és az enterális neuronok is). A NC sejtek migrációját és differenciálódását többek között a retinoidok irányítják intracelluláris receptoraikon keresztül (RAR, RXR) – a retinoid hiány és többlet is zavart okozhat.

Felmérés („cohort study”) 115 isotretinoin-exponált terhességről – két megfigyelés:
(1) A terhességek kimenetele – csaknem a fele súlyos: 18%-ban spontán abortusz – szerencsére (?)
28%-ban legalább 1 nagy malformáció.
(2) Az 5 éves gyermekek felének IQ-értéke <85 %.

A Roacután® kapszula (10 és 20 mg) gyógyszerismertetőjéből – két megszorítás:
(1) Fogamzásképes korú nőnek csak fogamzásgátlással egyidejűleg adható! Fogamzásgátlás: 4 héten át az isotretinoin kezdete előtt – majd folyamatosan az isotretinoin alatt – végül 4 héten át az isotretinoin után.
(2) Ha az isotretinoin terápia alatt a kezelt nő terhes lesz, a terhesség megszakítása ajánlott!

C. HUMÁN TERATOGÉNEK

- Sugárhatás
- Fertőzések, pl. rubeola (lásd Ausztrália, 1941), cytomegalovírus fertőzés, toxoplasmosis, zika vírus.
- Anyai megbetegedések, pl. magas láz, diabetes, epilepszia, kezeletlen asztma.
- **Kémiai anyagok – gyógyszerek, élvezeti szerek, vegyszerek, környezetszennyezők,** mint az alábbiak.

I. GYÓGYSZEREK

1. ACE-gátló szerek. Veszélyük: *ACE-gátló fötopátia* (a 2. és 3. trimeszterben). Hasonló magzati hatást okozhatnak az **angiotenzin-II receptor antagonisták** (pl. losartan, valsartan, irbesartan) is.

Az ACE-gátló fötopátia pathomechanizmusa: Az ACE-gátló (pl. captopril, enalapril, perindopril, fosinopril) átjutva a magzatba dilatálja a fötális ereket – következményei:

- Szisztémás vazodilatáció, ezért fötális hipotenzió alakul ki.
- A veseműködés zavara: A posztglomeruláris arteriola kitágul a vesében → a glomerulusban csökken a filtrációs nyomás → veseelégtelenség, anuria → oligohydramnion = a magzatvíz mennyisége csökken. Az oligohydramnion és/vagy a tartós fötális hipotenzió következményei: (1) a végtagok kontraktúrája; craniofaciális deformitások; (2) hipopláziák: pl. calvariális (koponyatető) és tüdő; (3) növekedési zavar; (4) intrauterin halál.
- A vese szerkezeti károsodása: renális tubuláris dysplasia – oka: renális ischemia.

Az ACE-gátló fötopátia kísérleti állatokon nem reprodukálható, valószínűleg azért, mert:
• Az ACE gátlók emberben jobban átjutnak a placentán – a PEPT karrieren át (?) –, mint kísérleti állatokban.
• Emberben előbb fejlődnek ki az ACE-gátlók célszervei: a renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer és a vese.

FIGYELMEZTETÉS: *Az ACE-gátlók és angiotenzin-II antagonisták abszolút kontraindikáltak terheseknek! Terheseknek ajánlott vérnyomáscsökkentők: α-metildopa* (DOPEGYT®) *és labetalol* (TRANDATE®).

2. Androgének: magzati *virilizációt* okoznak. – Veszélyben a body builder nők! A progeszteron és a progesztogén hatású nortesztoszteron-készítmények azonban nem okoznak magzati ártalmat.

Antiandrogének (női indikációjuk: hirsutismus) magzati *feminizációt* okoznak. Pl.: Cyproteron (AR gátló), bicalutamid (nem-szteroid AR gátló), finasterid (5α-reduktáz gátló; gátolja a tesztoszteron átalakulását az aktív dihidrotesztoszteronná), abirateron acetate (androgén-szintézis gátló) – mindezek X jelölést kaptak. A spironolakton és a ketokonazol is antiandrogén hatású – de ezeket a US FDA a C kategóriába sorolta.

3. Antibiotikumok – Tetraciklinek (US FDA: D-csoport): Az oxitetraciklin Ca^{2+} affinitással bír → beépül a növekvő csontokba, tejfogakba → torzulás, növekedés-gátlás, a fogak barna elszíneződése. Gyermekkorban a maradandó fogakba épül be. Az oxitetraciklin a terhes nőre is veszélyes: zsírmájat okozhat. A doxi- és a minociklin ilyen hatásai enyhébbek, mert dózisuk jóval alacsonyabb; ennek ellenére D csoportbeliek.

4. Antiepileptikumok – phenytoin, trimetadion, valproát (valproinsav), carbamazepin – mind D csoportbeli, az alábbi tünetegyütteseket idézhetik elő.

Fötális hydantoin szindróma – jellemzői: Intrauterin növekedési retardáció, esetleg microcephalia. Craniofaciális jelek: távol ülő szemek, széles filtrum, deformitások: ajak- és/vagy szájpadhasadék. Csontdefektusok – pl. a disztális ujjpercek és a köröm hypopláziája, csípőficam. Hernia: umbilicalis és/vagy inguinalis. *A trimetadion kockázata igen nagy, a lamotriginé viszont csekély.*

Lumbosacrális spina bifida aperta (nyitott gerinc): meningocele vagy meningomyelocele. A valproát és a carbamazepin 10-20-szorosára növeli ezek gyakoriságát. A valproát a hiszton-deacetiláz gátló hatása miatt lehet teratogén – lásd a 15. oldalon.

Dilemma: *Az epilepszia bármely antiepileptikumnál veszélyesebb terhesség alatt!*

5. Antitiroid szerek (methimazol, jodidok) – terhesség alatti használatuk két következménnyel járhat:
(1) Kreténizmus, kis születési súly – T3-, T4-hiány miatt. (2) Újszülöttkori golyva – TSH túltermelés miatt.

6. Antitumor szerek – két csoportjuk különösen veszélyes:
Alkiláló szerek: pl. cyclophosphamid és buszulfán.
Folsav-analógok (dihidrofolsav-reduktáz gátlók): metotrexát (MTX), pemetrexed (D osztályú, ld. 9. old.).
Következmények: - Fötális halál (művi abortuszhoz: MTX i.m., 3 nap múlva intravaginális misoprostol).
- CNS: hydrocephalus, meningomyelocele, mentális retardáció, szájpadhasadék.

7. Benzodiazepinek. Benzodiazepinek adagolása az utolsó trimeszterben fötális gyógyszerfüggőséget, az újszülöttben pedig megvonási tüneteket okozhat, valamint ún. floppy infant szindrómát (izomtónuscsökkenéssel és hipoventillációval). Az utóbbi oka, hogy a szervezetébe még a szülés előtt átjutott benzodiazepint az újszülött csak igen lassan képes eliminálni (mert a CYP és UGT enzimek expressziója a neonatális májban alacsony), ezért a szer farmakológiai hatást fejt ki (centrális izomrelaxáns hatást is). – Tartósan benzodiazepint használókban a hirtelen megvonás is veszélyekkel járhat, pl. súlyos megvonási tüneteket, akár spontán abortuszt is kiváltva, ill. az alapbetegség súlyosbodását okozva. – Az US FDA bizonyítottnak vélte, hogy az **alprazolam** az első trimeszterben malformációkat okozhat, ezért ezt a benzodiazepint a D csoportba sorolta – lásd a 9. oldalon).

8. Endotelin rec. antagonisták (ERA; bosentan, ambrisentan, macitentran) és a **szolubilis guanilát cikláz aktivátorok** (riociguat) – mindkét csoportot a pulmonális artériás hipertenzió kezelésére adják. Potens teratogének patkányban: fej, száj, nagyerek malformációit okozzák, talán a *neural crest* sejtek ET-mediált migrációját és proliferációját gátolva. Humán teratogenitásuk valószínű. Ezért ERA és riociguat csak megbízható fogamzásgátlás mellett adható fogamzóképes nőnek.

9. Dietilsztilbösztrol (DES) adagolásának veszélyei a terhesség alatt: vaginális adenosis és transzplacentális karcinogenezis a leánygyermekben: *vaginális clear cell adenocarcinoma* – lásd a 4. oldalon. Más ösztrogének szerepét humán daganatok (méh, emlő) indukálásában a 11. Fejezet 24. oldalán ismertetjük.

10. D vitamin nagyfokú túladagolása (>50 000 egység/nap); hatásai:
Korai terhesség alatt: Teratogén hatás a magzatban – *supravalvularis aorta stenosis*.
Késői terhesség alatt: A magzati parathormon szintézis szuppressziója, amely születés után az újszülöttben *hipoparatireoidizmus*t, ezért hipokalcémiát, ami pedig tetániát válthat ki.

11. Kelátorok: A *penicillamin* (a PEPT transzportálhatja a placentán át a magzatba) Cu^{2+} és Zn^{2+} hiányt okozhat. Következménye: Túlzottan laza és sérülékeny bőr – *Cutis laxa*. A laza kötőszövet miatt a bőr és a fülek rendkívüli mértékben nyújthatók és az ujjak abnormális mértékben elmozdíthatók az ízületi vápából. A cutis laxa veszélyei: a bőr rossz gyógyulási hajlama, szívbillentyű-hibák.

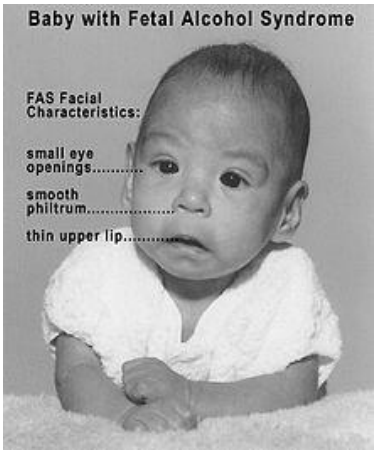
12. Kumarinok (warfarin, acenocoumarol; de patkányban, egérben és nyúlban nem teratogének) – hatásaik: Csontrendszeri zavarok: nazális hipoplázia, digitális hipoplázia (rövid *kéz*- és lábujjak), növekedési elmaradás; gócos meszesedések csontokban (femur, csigolyák), scoliosis – *korai* terhességi expozíció esetén. CNS- és szem-malformációk, halláskárosodás, mentális retardáció – *késői* terhességi expozíció esetén.

A kumarinok abszolút kontraindikáltak terhesség alatt! Helyettesítendők heparinnal – nem jut át a placentán!

13. Leflunomid, teriflunomid (a leflunomid aktív metabolitja, de gyógyszer is) – immunszuppresszív szerek. A dihidroorotát-dehidrogenáz gátlásával a teriflunomid gátolja a de novo pirimidin szintézist, ami létfontosságú a limfociták számára. Mindkét gyógyszer sclerosis multiplex, rheumatoid arthritis és psoriasisos arthritis kezelésére javallt.

Patkányban, nyúlban és egérben potens teratogének (patkányban: cranioscisis, exenchephalia). Humán teratogenitásukat valószínűsítik. Ezért e szerek csak megbízható fogamzásgátlás mellett adhatók. Ha egy leflunomidot/teriflunomidot szedő nő teherbe esik, kolesztiramint (3 x 8 g/nap) kell adagolni 2 hétig. Ez köti a bélben a teriflunomidot, gátolja reabszorbcióját a bélből, így gyorsítja kiürülését a széklettel. A teriflunomid $T_{1/2}$-ideje 14 nap (!), ezért tervezett terhesség előtt is javallt a *kolesztiraminos „kimosás”*.

14. Lítium: Teratogén hatása állatokon igazolt. Vitatott azonban, hogy terhesek szakszerű Li kezelése is magzatkárosító-e. Egyesek szerint a tricuspidális billentyű (jobb szívfél) fejlődési zavarát okozhatja.



15. Retinoidok, pl. isotretinoin = ACUTANE®, ROACUTANE® – ld. 5. old. Következmény: Cardiális + Craniofaciális (pl. anotia) + CNS defektusok.

16. Talidomid → amelia, phocomelia – részletezve a 3. és a 18-20. oldalakon.

II. ÉLVEZETI SZEREK

1. Etanol – következménye: Fötális alkohol szindróma (lásd a 4. oldalon).

2. Dohányfüst – a passzív dohányzás is.

Teratogének a dohányfüstben:

- Elektrofil metabolitot képző vegyületek (ld. 11. Fejezet 6-13. old), mint pl.:
  - PAH – pl. benzpirén → benzpirén-diol-epoxid, a BP reaktív metabolitja.
  - Benzol → p-benzokinon. Epidemiológiai vizsgálatok felvetik az *in utero* benzol-expozíció (üzemanyagokból is származhat) oki szerepét gyermekkori leukémiákban.
  - Nitrózaminok: Dimetil-nitrózamin (DMNA) → CYP → metil-karbónium-ion (ld. 11. Fejezet 9. old.). Dohány-specifikus nitrózaminok: NNK, NNN → CYP → karbónium-ion metabolit.
- Nikotin: Kísérleti állatokban neuro-teratogén, tanulási és viselkedési zavart okoz az utódokban (Bruin et al., Toxicol. Sci. 116: 364-374, 2010; Hall et al., Toxicol. Sci. 151: 236-244, 2010).

Következmények: - Halálozás: Spontán abortusz, bölcsőhalál – *Sudden infant death syndrome*.
- Deficitek: > Mentális: tanulási-, figyelem- és viselkedési zavar (ADHD).
  > Növekedési elmaradás – alacsony születési súly.
- Neonatális hipertenzió – talán a nikotin hatása.

3. Kokain – a terhesség alatti abúzus következményei

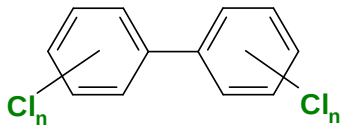
Prenatális következmény: Placentaleválás, koraszülés.

Neonatális következmény: - Microcephalia, alacsony születési súly.
- Neonatális neurológiai szindróma: alvászavar, izgatottság, tremor és görcsök (ritkán), szopási elégtelenség, hallászavar, bölcsőhalál.

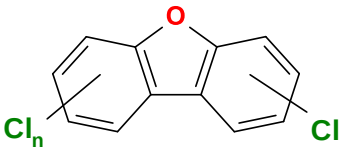
III. EGYÉB VEGYSZEREK, KÖRNYEZETSZENNYEZŐK

1. Poliklórozott bifenilek (PCB), poliklórozott dibenzofuránok (PCDF) és dioxin (TCDD)

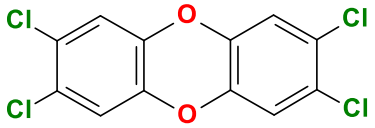
A terhességi expozíció fő következménye: a gyermek szellemi fejlődésének visszamaradása.



polychlorinated-biphenyl (PCB)



polychlorinated-dibenzofuran (PCDF)



2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-p-dioxin (TCDD, dioxin)

• Kémiai jellemzők: A klóratomok számától függően sok homológjuk lehet (pl. a pentaklór-bifenilnek 46). E vegyületek kifejezetten lipofil jellegűek. Rendkívül perzisztensek a környezetben és hajlamosak bio-magnifikációra. A szervezetből igen lassan eliminálódnak – felezési idejük több év; a dioxiné pl. 7 év.

• Expozíciós forrás: A PCB-ket hűtőfolyadékként, szigetelőként (transzformátorokban, kondenzátorokban), kenőanyagként, hidraulikus- és vákuum-pumpa-folyadékként, valamint műanyagok és festékek égésgátló adalékaként használták. Egykori egyik kereskedelmi nevük: Aroclor. Gyártásukat több évtizede betiltották. A PCB vegyületek gyártása és pirolízise során PCDF és TCDD keletkezhet melléktermékként.

• Hatásmechanizmus: A PCB és PCDF vegyületek is Ah-receptor aktivátorok (bár jóval kevésbé potensek, mint a TCDD – ld. a 4. Fejezet 19-21 oldalait a TCDD-ről) és CYP induktorok. Mivel aktiválják az ösztrogén-receptorokat is, gyenge ösztrogén-hatásuk is van; ezért endokrin diszruptorként is viselkedhetnek.

• Tömeges PCB-expozíció példái a múlt században

- Étolaj-szennyezés PCB és PCDF keverékkel (1968) – következményei a Távol-Keleten:
  Japánban: *Yusho disease* (Yusho = étolaj), Taiwanon: *Yu-Cheng disease* (Yu-Cheng = étolaj).
  > *Felnőttekben* klóraknét (lásd 4. Fejezet, 20. oldal), bőr hiperpigmentációt, szemhéj-duzzanatot, ízületi duzzanatot és fájdalmat, májfunkciós zavart és perifériás neuropátiát okozott a szennyezett étolaj.
  > A terhességük alatt a szennyezett étolajat fogyasztó anyák *újszülöttjében* a bőr hiperpigmentációját észlelték, és a perinatális mortalitás növekedését – immunhiány (?)
  > Később az ilyen *gyermekekben* jelentős – a mentális retardációt megközelítő – IQ csökkenést mértek.
- Környezeti PCB szennyezés a PCB biomagnifikációjához vezethet édesvízi halakban – pl. az USA-beli Michigan és Ontario, ill. a hollandiai tavakban. Az ilyen halat fogyasztókban tartós expozíció történhet. Terhes anyák a placentán át, majd a tejjel vihették át a PCB-t a magzatba, ill. az újszülöttbe.
  Tünetek: - Újszülötteken: gyengült reflexeket és csökkent izomtónust észleltek.
  - Későbbi jelek: gyenge teljesítmény a mentális és pszichomotor fejlődést mérő tesztekben, a figyelem és a rövidtávú memória csökkenése, olvasási és szövegértésbeli nehézség.

2. Fémvegyületek

• **Metilhigany:** A transzplacentális expozíciója KIR-i hatásokhoz vezethet. Következményei: csökkent tanulási képesség (kisebb fokú prenatális expozíció hatására), agyi atrófia, mentális retardáció, spaszticitás (nagy expozíció után) – ld. Minamata Bay Disease, a 6. Fejezet 7. oldalán.

Csaknem minden hal tartalmaz **metilhiganyt** nyomokban, de a nagyobb fajták (hosszabb életűek) többet! Az FDA azt ajánlja, hogy **terhesek, szoptató anyák és kisgyermekek ne fogyasszák** a következő halakat: **swordfish (kardhal), tilefish, king mackarel, shark (cápa)**. Fogyaszthatók viszont a shrimp (garnélarák), a konzervált light tuna (világos – nem fehér! – tonhal), a salmon (lazac), a pollock és a catfish (harcsa).

Halfogyasztókban más étrendi tényezők is befolyásolhatják a prenatális metil-Hg expozíció hatását az értelmi képességekre: pl. a halban lévő többszörösen telítetlen zsírsavak fogyasztása mérsékelheti (ezt vélelmezik a *Seychelle*-szigeteken élő népességben), a halak PCB szennyezettsége pedig növeli – erre utalt a Feröer szigeti halevők epidemiológiai vizsgálata.

• **Ólom:** Főként KIR-i hatásokat vált ki a korai életkorban: tanulási zavar, csökkent IQ. A szervezetbe jutott ólom különösen terhesség alatt aggályos, mert ilyenkor az Pb^{2+} ion (a Ca^{2+}ionhoz hasonlóan) fokozottan mobilizálódik az anyai csontból, és a placentán átjutva idegrendszeri károsodást okozhat a magzatban – lásd még a 6. Fejezet 2-5 oldalait.

D. GYÓGYSZEREK TERHESSÉG és SZOPTATÁS ALATTI KOCKÁZATÁNAK JELLEMZÉSE

I. A gyógyszerek osztályozása kockázatuk szerint. Az US Food and Drug Administration (US FDA) 1979-ben bevezetett rendszere osztályozza és jelöli a gyógyszereket a terhesség alatti kockázatuk, ill. rendelhetőségük alapján. Az FDA **A, B, C, D** és **X** gyógyszerkategóriákat különböztetett meg – ld. az alábbi táblázatot. Más országok átvették ezt a rendszert, esetleg módosítva és egyes szerek besorolását megváltoztatva. Például az ausztrál gyógyszerügyi hatóság B1, B2 és B3 alosztályokat is megkülönböztet és néhány gyógyszert (pl. aszpirin, metformin, paroxetin – lásd a táblázatot) másként értékel, mint a US FDA.

Osztály	Meghatározás	Példák
A	Veszélytelen, humán vizsgálatok bizonyítják.	Heparin, teofillin (AUS), paracetamol (AUS)
B	Nincs bizonyíték a veszélyességére humán vizsgálatok alapján.	Paracetamol (FDA), benzodiazepinek (kivétel alprazolam), loperamid, diphenhydramin, hydrochlorothiazid, metformin (FDA), penicillinek, cefotaxim, makrolidek, aciclovir, bromocriptin, cabergolin (D receptor agonisták hiperprolaktinémiára)
C	Veszélyessége nem kizárható.	Aszpirin (AUS), diclofenac, teofillin (FDA), furoszemid, trimetoprim, penicillin – β-laktamáz-gátló kombinátum, rifampicin, ciprofloxacin, fluoxetin, paroxetin (AUS), levetiracetam, metformin (AUS), spironolacton, lamotrigin (FDA), rivaroxaban, dabigatran
D	Bizonyítottan veszélyes! Csak az előny / kockázat mérlegelésével adható!	Aszpirin a 3. trimeszterben (FDA), daganatgátlók, efavirenz (de nem más antiretrovirális szer), hidroxiurea, antiepileptikumok, alprazolam (FDA), tetraciklinek, metimazol, PTU, paroxetin, lamotrigin (AUS)
X	Bizonyítottan veszélyes! **Terhesnek tilos adni!**	Isotretinoin, kumarinok, talidomid (és lenalidomid, pomalidomid), ACE-gátlók, AT-II receptor gátlók, androgének, antiandrogének (ciproteron, bicalutamid, finasterid, abirateron acetát), sztatinok, mifepriston, leflunomid, bosentan és más ERA, penicillamin

AUS = az ausztrál hatóság szerint; FDA = a US FDA szerint; ERA = endotelin receptor aktivátor

II. A gyógyszerek kockázatának leíró jellemzése. Az FDA 2015-ben publikálta a *Pregnancy and Lactation Labeling Rule* c. előiratát, amit az EMA már a 2008-ban javasolt *Guideline on Risk Assessment of Medicinal Products on Human Reproduction and Lactation. From Data to Labelling* című előiratában (http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003307.pdf). Az új irat kiváltja a korábbi jelölési rendszert, azt ugyanis túlzottan leegyszerűsítőnek és nem mindig egyértelműen értelmezhetőnek ítélték. Az új rendszer előírja, hogy (1) a gyógyszer *nem-klinikai* (farmakológiai, farmakokinetikai és toxikológiai) és *klinikai* vizsgálatában nyert adatok integrált értékelése alapján kell megfogalmazni a szer humán terhességi kockázatát, és (2) a gyógyszerek ide vonatkozó jellemzőinek részletes, de tömör szöveges leírását a gyógyszerismertetőben közzé kell tenni az alábbi három alcím alatt.

1. Terhesség (Pregnancy). Ha a gyógyszer szerepel egy terhességi regiszterben (Pregnancy Exposure Registry), itt meg kell adni a nyilvántartás elérhetőségét. Továbbá le kell írni a terhesség alatti használat kockázatait, beleértve az ide vonatkozó állatkísérletes és humán adatok összefoglalását (Risk Summary). Ki kell térni a lehetséges klinikai megfontolásokra (Clinical Considerations), mint pl. hogy az adagolás módosítása hogyan befolyásolja az anyai és magzati nem-kívánt hatásokat. Végül ismertetni kell azokat az adatokat (Data), amelyek alapján a kockázatok összefoglalása és a klinikai megfontolások leírása készült.

2. Szoptatás (Lactation). Itt leírandó, hogy a gyógyszer milyen mértékben jut az anyatejbe, milyen hatással bírhat a tejképződésre és az anyatejjel táplált gyermekre.

3. Termékenység (Females and Males Fertility). Szükség esetén itt kell nyilatkozni arról, hogy a gyógyszer használójának kell-e terhességi próbát végeztetni és fogamzásgátlást alkalmazni a kezelés előtt, alatt, vagy után; továbbá, hogy vannak-e humán és állatkísérletes adatok arról, hogy a gyógyszer károsan érintheti a termékenységet, ill. a megtermékenyített petesejt elvesztését okozhatja a beágyazódás előtt.

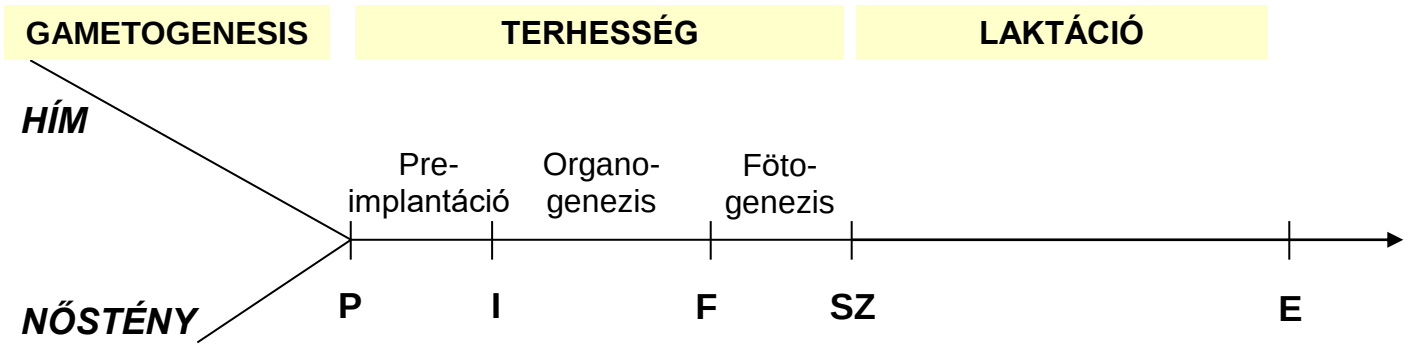
Jelenleg a legtöbb országban a korábbi és új gyógyszerek terhességi kockázatának ismertetésére is kizárólag az FDA és az EMA előiratok szerinti leíró jellemzést alkalmazzák. A kézieladású (OTC) gyógyszerek korábbi jelölése azonban nem változik. – Az ausztrál hatóság fenntartotta a gyógyszerek kategorizálását, de hangsúlyozza, hogy „the database must not be used as the sole basis of decision making in the use of medicines during pregnancy". Forrás: https://www.tga.gov.au/prescribing-medicines-pregnancy-database

E. TESTIDEGEN VEGYÜLETEK VIZSGÁLATA FEJLŐDÉS-TOXIKOLÓGIAI HATÁSRA

I. Tesztelés állatokon: Reproduktív toxikológiai vizsgálatok

A vizsgálatok célja: annak kiértékelése, hogy a vegyület adagolása károsan érinti-e a reprodukciós folyamatot annak *bármely* szakaszában – a gametogenezis, a terhesség (vemhesség) és a laktáció alatt.

A reprodukció szakaszai



P = pároztatás, **I** = implantáció (egér, patkány, nyúl: 6. nap),
F = fötogenezis kezdete (a kemény szájpad záródása; *egér, patkány:* 15. nap; *nyúl*: 18. nap),
SZ = szülés (*egér, patkány:* 21. nap; *nyúl*: 31. nap), **E** = elválasztás

Előiratok

- 1966: *FDA-teszt protokoll* – elkészítésének indítéka a Talidomid tragédia volt (lásd a 3. oldalon). 1994-ig a leginkább elfogadott előirat volt világszerte.
- 1994: *ICH-előirat:* Nemzetközileg harmonizált előirat. Kiadta: **I**nternational **C**onference on **H**armonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. Az **EMA** által átvett ICH guideline-nak a reproduktív toxikológiai vizsgálatokat leíró része az alábbi linken érhető el:

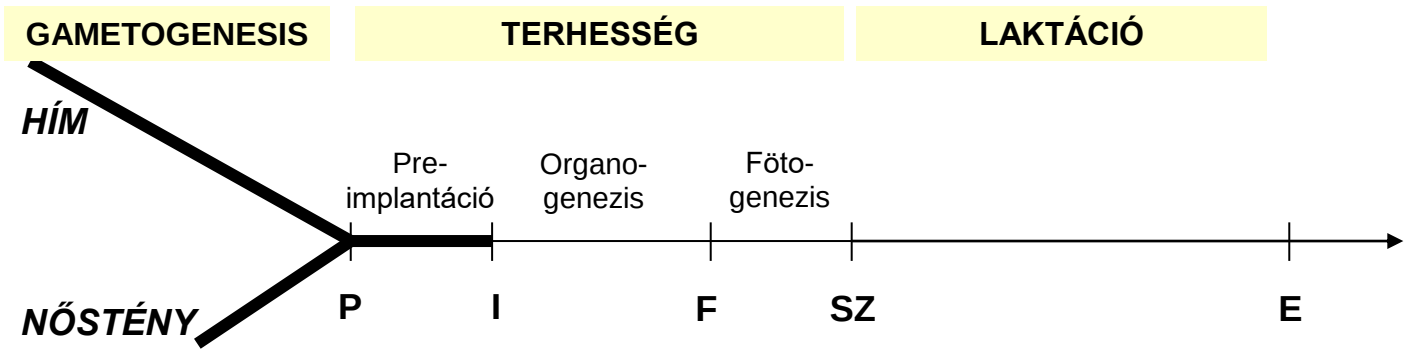
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general_content_000397.jsp&mid=WC0b01ac058002956f#Reproductive/developmental%20and%20juvenile%20toxicity

Az alábbi három tesztben a vegyülettel történő expozíció a reprodukció más-más szakaszában történik.

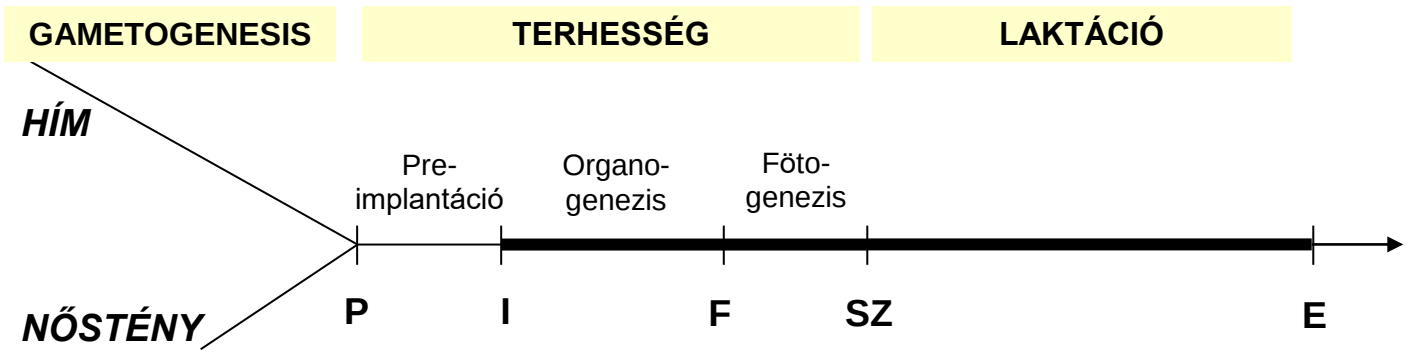
A teszt megnevezése	A kezelés időtartama	Vizsgálandó
Fertilitási és korai embrionális fejlődési teszt	• A *szülő állatok* kezelése a pároztatás (P) előtt, a spermio- ill. oogenezis alatt: Hím: 4 hétig, nőstény: 2 hétig, **majd** • *A terhes állat* kezelése az implantációig (I)	• Hím: a here súlya, szövettana; a spermiumok száma, motilitása • Nőstény (a terhesség félidejében): - *Ovarium:* a sárgatestek száma* - *Méh:* implantációk száma* • Embrió életképessége
Pre- és posztnatális fejlődési teszt	A *terhes, majd a laktáló állat* kezelése • a pete beágyazódásától (I) • a laktáció végéig (E)	A született állatok életképessége, növekedése, fejlődése, funkciózavarai (viselkedési, érési, reprodukciós)
Embrionális/fötális fejlődési teszt ("teratogenitási teszt")	A *terhes állat* kezelése • a pete beágyazódásától (I) (egér, patkány, nyúl: 6. nap) • a szervfejlődés végéig (F) (egér, patkány: 15. nap; nyúl: 18. nap) Két fajon végzendő: rágcsáló és nem rágcsáló	A terhesség végén feltárt újszülöttek életképessége és morfológiája (külső, zsigeri, csontrendszeri; zsiger-festés pikrinsavval, csont-festés alizarin vörössel)

*A sárgatestek száma megadja az ovulációk számát. Az ovulációk és implantációk számának különbsége pedig jelzi a preimplantációs veszteséget.

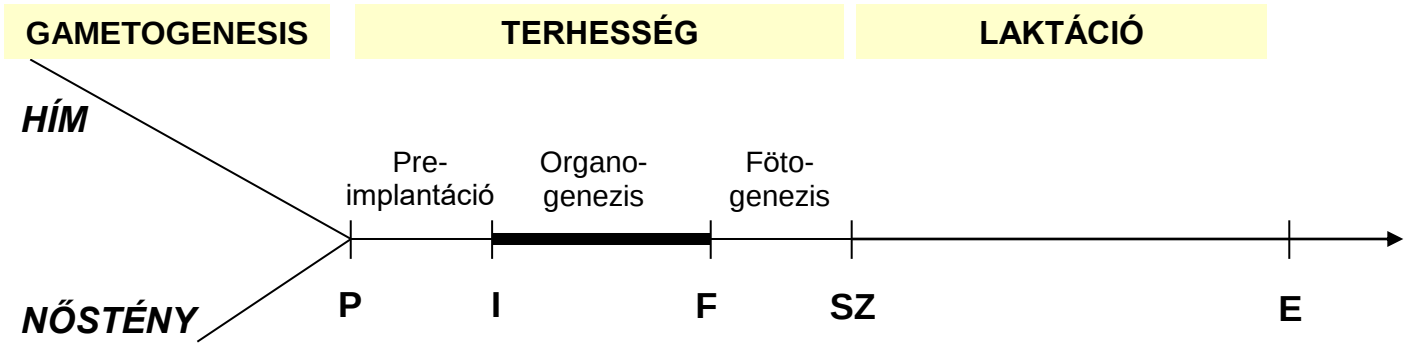
Fertilitási és korai embrionális fejlődési teszt



Pre- és posztnatális fejlődési teszt



Embrionális/fötális fejlődési teszt – „teratogenitási teszt”



Adagolás: 3 különböző dózisban (a legnagyobb dózis okozzon minimális anyai toxicitást, mint pl. testsúly és/vagy táplálékfogyasztás csökkenést), egyszer naponta, a várható emberi beviteli úton.

Gyógyszerjelöltek „reprotox” vizsgálatai közül elsőként a két állatfajon elvégzendő embrionális/fötális fejlődési tesztet követelik meg, de csak a fázis-II klinikai vizsgálatok előtt (hiszen a fázis-I vizsgálatokba nők nem vonhatók be). A fázis-III előtt a fertilitási és korai embrionális fejlődési teszt, a regisztráció előtt pedig a pre- és posztnatális fejlődési teszt eredményét is ismerni kell a hatóságnak – lásd a 13. Fejezet 21. oldalán lévő táblázatban.

Elvi probléma: az állatokon végzett teratogenitási vizsgálatok prediktivitása nem tökéletes – *például:*

1. Az aszpirin és a glukokortikoidok teratogének egéren és patkányon, de nem egyértelműen azok emberben.
2. Nem biztos, hogy az állatkísérlet kiszűr minden humán teratogént (lásd talidomid, ACE gátlók). Ezért:

- Gyógyszerjelölt vegyület terhesnek nem adható! Az I. fázisú klinikai vizsgálatokba nők nem vonhatók be, a további fázisokba pedig csak negatív terhességi teszt és folyamatos fogamzásgátlás esetén.
- Terhes lehetőleg kerülje a gyógyszereket! Ez azonban nem vezethet ahhoz, hogy a lázát ne csillapítsa, és ne kezeltesse a genitális fertőzést, az asztmát és a diabetest, hiszen ezek az állapotok ismert magzatkárosítók!
- Epidemiológia vizsgálatok végzendők gyógyszert szedő terhes nőkön.

II. Epidemiológiai vizsgálatok embereken a már alkalmazott gyógyszerekkel – két típusuk van:

1. „Case-control" vizsgálatok: A bekövetkezett eset (case; pl. ritka fejlődési rendellenesség) retrospektív vizsgálata, azzal a céllal, hogy kiderítsék a kiváltó okot. Ez a vizsgálat hasonlítható a bűnügyi nyomozáshoz, amely a „Ki a tettes?" kérdésre keresi a választ. Case-control vizsgálatokkal derítették ki pl. a DES transzplacentális karcinogén hatását (lásd a 4. oldalon) és a talidomid teratogén hatását (lásd a 3. oldalon).

2. „Cohort" vizsgálatok: Azonos gyógyszert szedő terhesek csoportjának (cohort) prospektív vagy retrospektív vizsgálata, azzal a céllal, hogy felmérjék, nőtt-e a veleszületett fejlődési rendellenességek gyakorisága a gyógyszert szedő kismamák gyermekeiben a szert nem szedő csoporthoz képest. Pl. Miután a *case-control* vizsgálatok feltárták, hogy a tiszta-sejtes hüvelyi karcinómák hátterében anyai DES kezelés áll, megvizsgálták a terhességük alatt DES-t kapó páciensek gyermekeit (cohort). Ezen *retrospektív cohort vizsgálatból* megállapították, hogy a DES-szel kezelt kismamák gyermekeiben (a lányokban és a fiúkban is) gyakoriak a nemi szervek veleszületett rendellenességei – lásd a 4. oldalon.

F. A KÉMIAI TERATOGÉN HATÁSOK JELLEMZŐI

1. Hatástípusok, 4 féle:
- Magzati halál (embrioletalitás)
- Torzképződés (malformáció)
- Növekedési deficit
- Funkcionális deficit

2. Dózis–hatás összefüggés – *állatkísérletek alapján*

Van egy *küszöb-dózis*, ami alatt nem mutatható ki hatás.

A küszöb okai:
- Kinetikai – a kis adagban adott szer nem ér el hatékony koncentrációt a magzatban.
- Magzati reparációs kapacitás – a kis adag-okozta károsodás reparálódik.

Küszöb feletti dózisokban a magzati fejlődést zavaró vegyületek hatásai *három minta szerint alakulhatnak*:

- Tipikus minta:
  - Alacsony dózis → Növekedési deficit
  - Nagyobb dózis → Malformáció
  - Még nagyobb adag → Embrioletalitás – az embrioletalitás miatt sem a növekedési deficit, sem pedig a torzképződés nem észlelhető.
- Nem ritka minta: *Növekedési zavar* és *embrioletalitás* (torzképződés nélkül). Minősítés: *„embriotoxikus" vagy „embrioletális"* vegyület.
- Ritka minta: *Torzképződés* és *embrioletalitás* (növekedési zavar nélkül). Minősítés: szűkebb értelemben vett *„teratogén vegyület"*.

3. Gesztációs kor–hatás összefüggés – *emberi terhességben*

Az embrió/fötusz kémiai érzékenysége jelentősen változik a terhesség alatt, ezért vegyületek magzatkárosító hatása attól függ, hogy mikor éri a magzatot a kémiai hatás. Az alábbi időszakokban a hatás eltérő:

(1) A megtermékenyítéstől a pete beágyazódásig (a beágyazódás emberben 8-13. nappal a megtermékenyítés után van, azaz a 4. gesztációs héten, hiszen *a gesztációt az utolsó menstruációtól számítják a szülészek*):

Ekkor a „minden vagy semmi" jelenség következik be, vagyis a zygota, a morula vagy a blastocysta elpusztul, vagy károsodás nélkül túlél.

Magyarázat: A zygota (1-8 sejt), a morula (16-32 sejt) és a blastocysta (64-128 sejt) omnipotens őssejtekből áll. Erős ártalomra ezek a képződmények elpusztulnak, gyenge károsodásra azonban csak egyes sejtjei pusztulnak el, de azok pótlódnak a túlélőkből.

A szülészi terminológia szerinti első gesztációs hónapban egy szer valószínűleg nem okoz veleszületett fejlődési rendellenességet, mert a megtermékenyítést követő (posztkoncepciós) első két hétben a zygota-morula-blastocysta kémiai ártalomra vagy túlél épségben, vagy elpusztul. – Lásd a táblázatot a 13. oldalon.

A szervezetből lassan eliminálódó vegyületek (pl. isotretinoin, leflunomid) azonban ekkor szedve is kiválthatnak veleszületett fejlődési rendellenességet, hiszen a megtermékenyítést követő két héten túl is a szervezetben maradnak. Ezért kell pl. az isotretinoin kezelést jóval a tervezett terhesség előtt befejezni (ld. az 5. oldalon), a leflunomidot (vagy teriflunomidot) pedig kolesztiraminnal „kimosni" (lásd a 7. oldalon).

Szervrendszerek érzékenysége fejlődési rendellenességre a gesztációs kortól függ:

FEJLŐDÉSI STÁDIUM:					EMBRIONÁLIS kor						FÖTÁLIS kor		
Gesztációs kor (hónap):	1				2					3			
Gesztációs kor (hét):	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Posztkoncepciós kor (hét):	0	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Fejlődő szervek:													
Központi idegrendszer*													
Szív													
Fül													
Szem													
Végtagok													
Ajak													
Szájpad													
Fogak													
Külső nemiszervek													
Testsúly (gramm):										35	45	58	73
Testhossz (cm):						0.4	1	1.6	2.3	3.1	4.1	5.4	6.7

A táblázat vörös sávjai azokat a gesztációs korokat jelzik, amelyekben az egyes szervek legérzékenyebbek a *súlyos szerkezeti* defektusokra (malformáció, torzképződés). A szürke sávok pedig azokat a gesztációs korokat jelzik, amelyekben az egyes szervek legérzékenyebbek a fejlődési *funkcionális* defektusokra és enyhe szerkezeti defektusokra (malformáció). Forrás: http://www.obfocus.com/high-risk/meds1.htm

(2) A szervfejlődési periódus alatt – egérben és patkányban a 6-15. napon; nyúlban a 6-18. napon; emberben a 21-56. napon a megtermékenyülés után, vagyis a 2. és 3. gesztációs hónapban – torzképződés jöhet létre. Ez történt pl. a rubeola fertőzés, a talidomid és isotretinoin expozíció hatására. Ekkor ugyanis az embrionális sejtek zöme már szervképzővé differenciálódik. – *Megjegyzés*: Az 1. havi rubeola fertőzés magas teratogenitása azzal magyarázható, hogy a vírus még a 2. hónap elején is jelen lehet a magzatban.

(3) A 2-3. trimeszterben bekövetkező transzplacentális magzati expozíció előidézhet:

- Funkcionális zavart, mint például
  - Keringési zavart – pl. *ACE-gátló*-embriopátia (a gyógyszer magzati vazodilatátor hatására).
  - Központi IR-i zavart – pl. IQ csökkenést fötális *alkohol* szindróma és *PCB* expozíció esetén, és/vagy
- Növekedési visszamaradást, pl. fötális *alkohol* szindróma, *dohányzás*, és *kokain* abúzus esetén, és/vagy
- Transzplacentális karcinogenezist, például transzplacentális dietilsztilbösztrol (DES) expozíció hatására.

G. KÉMIAI TERATOGÉN HATÁSOK MECHANIZMUSA

Egy kémiai teratogén alapvetően három támadásponton okozhat magzatfejlődési zavart:
• az anyára hatva
• a placentára hatva
• az embrióra/magzatra hatva (vagy ezek kombinációjával).

A molekuláris szintű hatásmechanizmus leírása – különösen a magzatban kifejtett hatásokra vonatkozóan – általában spekulatív elemeket is tartalmaz, mivel xenobiotikumok embrionális és fötális hatásának mechanizmusai igen nehezen vizsgálhatók.

1. Az anyai toxicitás mint a teratogén hatás alapja – *állatkísérletes példák*

• *Az acetazolamid* (karboanhidráz gátló gyógyszer) *teratogén egerekben*
- Mechanizmusa: anyai karboanhidráz gátlás ($CO_2 + H_2O \neq H_2CO_3$) miatt $\uparrow CO_2$ szint = *anyai hiperkapnia*.
- Támogató érv: - A hiperkapnia ($\uparrow CO_2$) önmagában is teratogén hatású egérben.
  - A hiperkapnia potenciálja az acetazolamid teratogén hatását.

• *Hidroxiurea (HU) teratogén nyúlban:* embriopátiát okoz: bevérzések az arcon, koponyán, pericardiumban.
- Mechanizmusa: a hidroxiurea a csökkenti az anyai perctérfogatot és a méh átáramlását.
- Támogató érv: a méh-erek leszorítása hasonló elváltozásokat okoz az embriókon.
- Megjegyzés: Az anyai toxicitás mellett, a HU közvetlenül is teratogén az embrióban – gátolva a DNS szintézist, leállítja a replikációs villa haladását és DNS lánctörést kelt. HU-val kezelt egerek embrióiban a DNS károsodás hatására a p53 fehérje szintje nő és fokozódik az apoptózis. (A p53 tumor szuppresszív transzkripciós faktor. DNS károsodásra foszforilálódik és stabilizálódik – lásd a 11. Fejezet 22. oldalán.)

Kitérő a farmakológiába: A HU ribonukleotid-reduktáz-gátló gyógyszer. A ribonukleotid reduktáz képezi a dezoxi-ribonukleotidokat a ribonukleotidokból, ezért fontos enzim a sejtciklus S fázisában folyó DNS szintézishez. A HU-t sugárkezelés előtt adagolják a daganatsejtek „szinkronizálására", azaz a sejtek „megakasztására" az osztódási ciklus G1 fázisának végén. A sejtek ugyanis a G1 fázisban – amikor számos DNS-szintézishez szükséges enzim (pl. dihidrofolát reduktáz, timidin kináz, timidilát szintetáz, DNS polimeráz), transzkripciós faktor (pl. E2F) és ciklin (pl. cE, cA) expressziója megnő – viszonylag érzékenyek a besugárzásra. A HU-t használják még mieloproliferatív betegségek (pl. polycytemia vera, krónikus mieloid leukémia) kezelésére is.

• *Phenytoin:* csökkenti a folsav felszívódását a bélből; ez hozzájárulhat a teratogén hatásához – ld. 16. oldal.

2. A placentális toxicitás mint a teratogén hatás alapja – *állatkísérletes példák*

• *Kadmium* – legalább két hatása van a méhlepényre:
- Csökkenti az uteroplacentális keringést.
- A placentában indukálja a metallotioneint (MT); ez köti a Zn^{2+} iont, csökkenti a Zn^{2+} átjutását a magzatba. Támogató érv: Zn-só adásával enyhíthető a Cd toxikus hatása a magzatra. – Ez azonban lehet, hogy nem a Zn^{2+} pótlásán alapul, hanem a MT indukcióján, ami véd a Cd-mal szemben, hiszen megköti a Cd^{2+} iont.

• *Kromát* – patkányok placentájában a trofoblaszt-sejtek apoptózisát okozza és gátolja a szteroid-szintézist. Humán relevanciája valószínű, mert terhes anya foglalkozási kromát-expozíciójának következményei a spontán abortusz, a koraszülés, és az alacsony születési súly.

3. A magzatra irányuló teratogén hatások mechanizmusa

Igen nehéz kideríteni. Újabb próbálkozások: tenyészetben tartott embrió, embrionális szövetek, sejtek, egérből származó ős-sejt eredetű embrioid testek (embryoid bodies; gömb alakú sejtmassza, ami néhány napos, ún. függő csepp rendszerű tenyésztés során elongálódik a cranio-caudális tengelynek megfelelően). A magzati teratogén hatások vizsgálatának nehézsége miatt az alább tárgyalt mechanizmusok többnyire hipotetikusak.

(1) *Sejtszintű mechanizmusok*

a. A génexpresszió közvetlen gátlása a transzkripció szintjén gátolhatja a *szervfejlődésben fontos fehérjék expresszióját*. Így hathat a **talidomid** – az ún. GC boxokhoz kötődve egyes transzkripciós faktorok DNS-kötődésének gátlásával (ld. az 1. Függeléket), vagy a cereblon fehérjéhez kötődve (Ito et al., Science 327: 1345-1350, 2010) bizonyos transzkripciós faktorok degradációjának előidézésével (ld. a 2. Függelékben).

b. DNS károsodás: p53 akkumulációt, majd apoptózist okoz = DNA damage response – ld. 11. Fejezet 22. o. Így hathatnak: DNS-reaktív alkiláló szerek, pl. ciklofoszfamid, buszulfán, hidroxiurea (ld. a 11. Fejezetet). *Támogató érv*: A ciklofoszfamid sejtciklus-blokkot és apoptózist vált ki az embrióban; az embrionális neuroepitelium különösen érzékeny. Itt ugyanis sok sejt van az S fázisban, amikor a DNS fokozottan alkilálható, mert a replikálódó DNS „kitakarózik", vagyis a hiszton-fehérjék lazábban burkolják.

c. Intracelluláris jelátvitel zavara, amely gyorsult vagy gátolt mitózist és/vagy apoptózist kelt. Így hathatnak:

• *Ligandum-függő transzkripciós faktorokat* (azaz intracelluláris receptorokat) *aktiváló vegyületek*, mint pl.:
- Retinoidok (RAR-RXR) – az embrionális fejlődést irányító ún. Hox gének expresszióját befolyásolják.
- TCDD, PCB – Ah receptor aktivátorok (az aktív dimér: AhR-ARNT; lásd a 4. Fejezet 20. oldalán).
- Dietilstilbösztrol (DES) a Müller vezeték sejtjeinek ösztrogén-receptorain (ERα) hat.

A Müller vezeték hengerhámsejtekből álló embrionális struktúra, amelyből többek között a cervix külső felszínét és a vaginát fedő laphámsejtes epitélium fejlődik ki. A DES-aktivált ERα itt csökkenti egy olyan transzkripciós faktor (RUNX1) kifejeződését, amely ahhoz szükséges, hogy a Müller vezeték hengerhámsejtei laphámsejtekké differenciálódjanak. Így jön létre DES hatására a cervix felszínén és a hüvelyben a *vaginális adenosis* – amelyet az jellemez, hogy a laphámsejtes epitéliumban abnormális módon hengerhám-szigetek vannak (Laronda et al., Develop. Biol. 381: 5-16, 2013). E prekancerózus elváltozás daganatos átalakulását valószínűleg a pubertásban beinduló nemi hormontermelés indukálja – lásd a DES-okozta transzplacentális karcinogenezist a 4. oldalon.

• *A hiszton-deacetilázt (HDAC) gátló valproát* (VPA): hatására a hiszton-fehérjék (a DNS-t „becsomagoló" bázikus fehérjék) acetilált állapotban maradnak. Az acetilált hisztonok lazábban „fedik be" a DNS-t, ezért transzkripciós faktorok jobban hozzáférnek a DNS-hez, ami a normális sejtciklust megzavarhatja.

A HDAC-gátlás oki szerepét támogató állatkísérletes megfigyelések:
- Csak azok a VPA analógok teratogének, amelyeknek van HDAC-gátló hatásuk.
- Trichostatin-A (HDAC-gátló antifungális szer) hasonló malformációt kelt egér embrióban, mint a VPA.

• *A protein kináz C (PKC)-aktiváló Pb^{2+} ion* – amely a Ca^{2+} iont utánozva hat: a Pb^{2+} így felerősítheti a mitogén szignál-transzdukciót.

• *A Zn-ujjakat tartalmazó szignál-aktivált transzkripciós faktorokat a Zn^{2+} kötésével inaktiváló penicillamin*.

• *Az embriogenezisben fontos, mitogén szerepű Hedgehog jelátvitelt gátló kolecalciferol* (D_3-vitamin).

d. Direkt sejtkárosító hatás az embrióban – lehetséges példák

• Etanol: toxikus metabolitjai (acetaldehid, hidroxietil sz-gyök) gátolják a mitokondriális fehérjeszintézist.
• Talidomid: toxikus kinon metabolitja károsíthatja a magzati végtagfejlődést (lásd a 3. Függelékben).

(2) *Szervrendszer szintű mechanizmusok*

a. ACE gátlók, AT-II receptor antagonisták – elsődlegesen fötális **keringés**i zavart okoznak:

Az ACE gátlók és AT-II receptor antagonisták a magzatban (a 2. és 3. trimeszterben) vazodilatációt váltanak ki; ennek kettős közvetlen következménye lehet:

• Fötális hipotenzió, amely csökkenti a renális vérátáramlást is, ezzel pedig renális tubuláris dysplasiát okoz.
• A posztglomeruláris arteriola dilatációja a vesében. Emiatt a filtrációs nyomás esik a glomerulusban és veseelégtelenség, anuria, továbbá **oligohydramnion** (csökkent magzatvíz térfogat) alakul ki. Az utóbbi következményei: végtagi kontraktúrák, koponya- és tüdő hipoplázia, növekedési zavar, magzati halál.

b. Kumarinok (acenokumarol, warfarin) – **csontrendszer**i zavart okoznak:

Hasonlóan a II-VII-IX-X alvadási faktorokhoz, a csontban is több olyan fehérje van, amely azért válik Ca^{2+}-kötővé (és így működőképessé), mert glutamátjuk gamma-karboxilálódik. Ilyen pl. az oszteoblasztok által termelt *osteocalcin*. – Megjegyzés: A szérum osteocalcin szint a csontképződés biomarkere.

A kumarinok az osteocalcin egyes glutamát aminosavainak K-vitamin-függő gamma-karboxilációját gátolva **csontképződési zavar**t okoznak a magzatban. Következményei: nazális hipoplázia, rövid kéz- és lábujjak, scoliosis, növekedési elmaradás, gócos meszesedések csontokban (pl. a femurban, csigolyákban) – Rtg-felvételen látható.

Megjegyzés: A kumarinok gátolják a *vitamin-K-kinon-epoxid reduktáz* enzimet (VKOR), ezért csökkentik az alvadási faktorok gamma-karboxilálódását – lásd az ábrát a 4. Fejezet 28. oldalán.

c. Folsavhiányt okozók – **velőcsőzáródási rendellenességet idéznek elő**. Némely szer több módon is hathat.

• *Az N^5-metil-tetrahidrofolát* (N^5-CH_3-THF; növényi folsav-származék) *felszívódását a belekből gátolják*:
- Antiepileptikumok: pl. phenytoin, carbamazepin, valproát és lamotrigin.
- Más gyógyszerek: pl. trimethoprim, pyrimethamin; sulfasalazin és az antidiabetikum metformin.

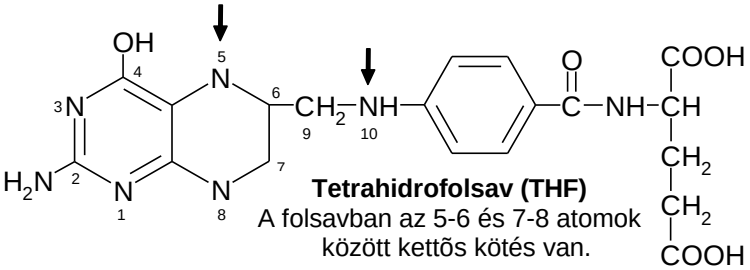
• *A folil-poliglutamát szintetázt gátolják a májban.* Ezek gátolják a folát tárolását a májban poliglutamátként.
- Ilyen gyógyszer pl. a phenytoin.

• *Dihidrofolsav-reduktáz gátlók* – gátolják a dihidrofolát (DHF) redukcióját aktív tetrahidrofoláttá (THF). Emlékeztető: Az N^5, N^{10}-metilén-THF a *timidilát-szintáz* (TS) metil-donora, amely a metilcsoport átadásával DHF-vá alakul. Ezt redukálja vissza THF-vá a dihidrofolsav-reduktáz (DHFR). A THF aztán ismét átalakulhat N^5,N^{10}-metilén-THF-vá – lásd az alsó ábrát a következő oldalon.
- Metotrexát és pemetrexed – ismert DHFR gátlók – autoimmun és daganatos betegségek gyógyszerei.
- Triamteren – K^+ spóroló diuretikum, gyenge DHFR gátló hatása is van.

A folsav hiánya elsődlegesen a folsav alábbi három aktív formájának hiányát eredményezi:

(1) **N^5-CH_3-THF** (vagy N^5-me-THF)
(2) **N^5, N^{10}-metilén-THF**
(3) **N^{10}-formil-THF**

Az aktív formák hiánya másodlagos metabolikus zavarokat okoz – lásd a következő oldalon lévő ábrákat.



Tetrahidrofolsav (THF)
A folsavban az 5-6 és 7-8 atomok között kettős kötés van.

A folsav aktív formái

(1) Az **N^5-CH_3-THF** a B_{12} vitamin közvetítésével a *metionin-szintáz* enzim (MS) metildonora; ld. ábrát a 17. oldalon. A MS katalizálja a homocisztein metilációját metioninná. A *metionin* pedig az *S-adenozil-metionin* (SAM) prekurzora, ami viszont igen sok metil-transzferáz enzim metil-donor koszubsztrátja. Az SAM a metildonor pl. a foszfatidilkolin szintézisében is – amit a foszfatidil-etanolamin-metiltranszferáz (PEMT) katalizál; ld. a felső ábrát a következő oldalon. Ezért fontos a N^5-CH_3-THF, a MS, a SAM és PEMT mielin képzéséhez, ami foszfatidilkolint igényel. Tehát:

Az **N^5-CH_3-THF hiány a mielinképzés zavarát okozza**; ennek következménye:
- Magzatban: **Velőcsőzáródási zavar** – pl. *spina bifida aperta, anencephalia*.
- Felnőttben: **Funicularis myelosis** a gerincvelőben – ezt jellemzően a B_{12} vitamin-hiány okozza priméren.

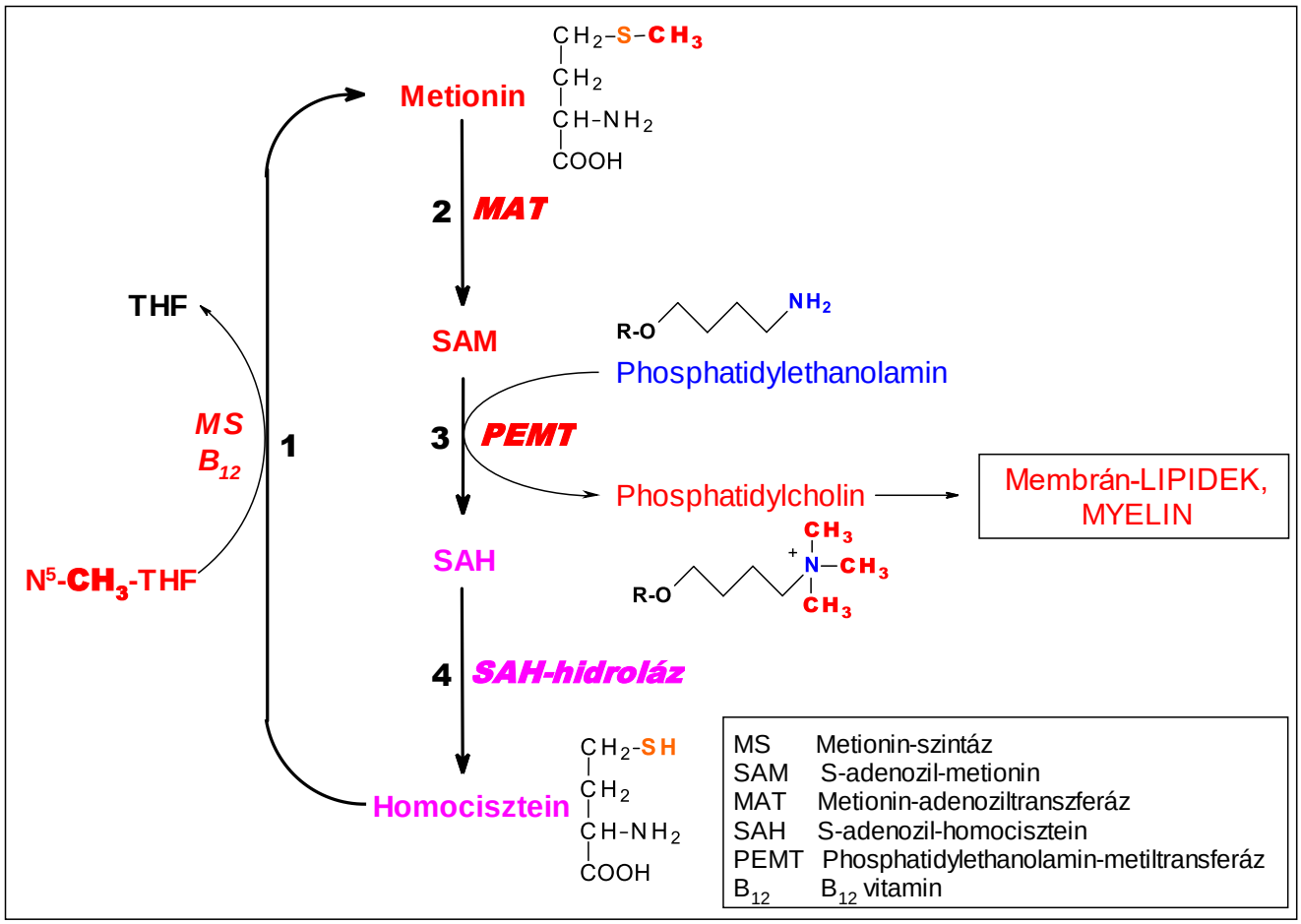
(2) Az **N^5, N^{10}-metilén-THF** a *timidilát-szintáz* (TS) metil-donora. A TS katalizálja a dUMP metilációját dTMP-vé (más néven timidiláttá), ami a dTTP (a DNS szintéziséhez szükséges egyik nukleotid) prekurzora (lásd az alsó ábrát a következő oldalon).

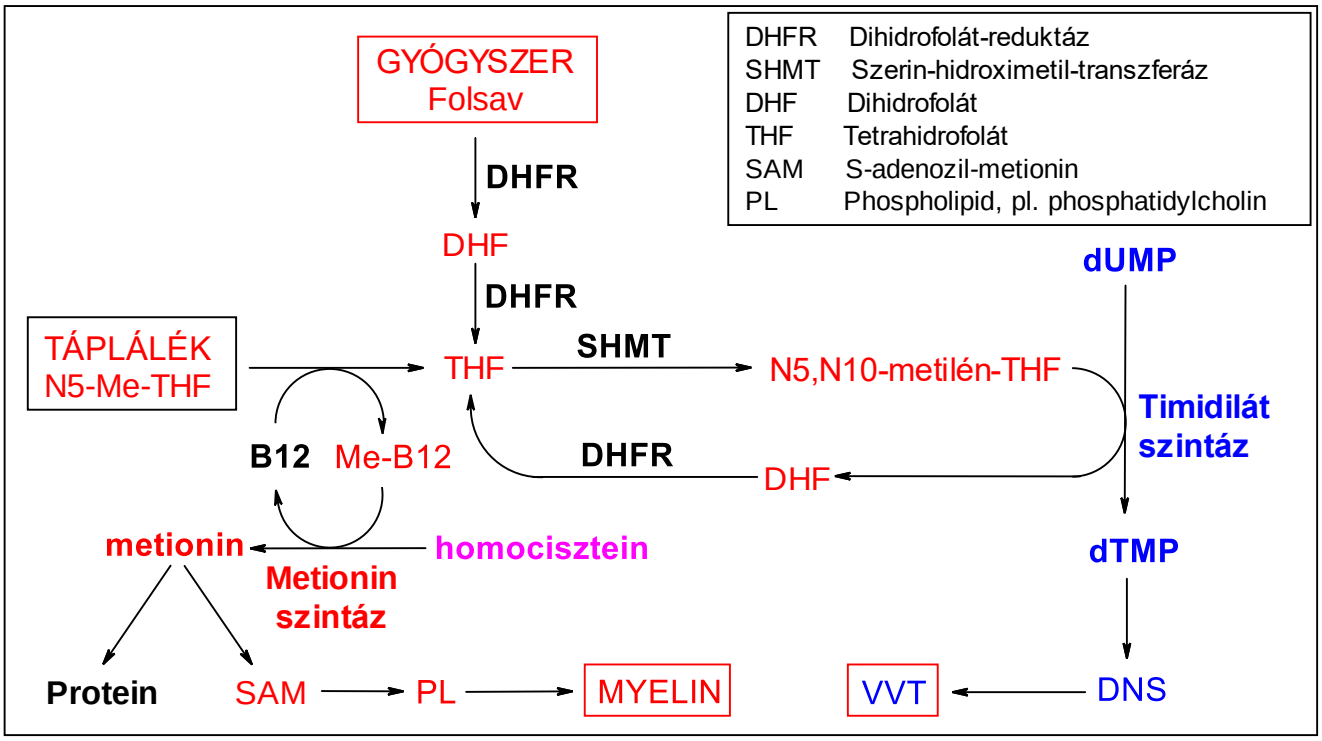
(3) Az **N^{10}-formil-THF** formil-donor a purin bázisok bioszintésének két lépésében.

Összefoglalva: az **N^5, N^{10}-metilén-THF hiány** és **N^{10}-formil-THF hiány a DNS szintézis zavarát okozza**. Ennek következménye felnőttben megaloblasztos anémia (amely morfológiailag hasonló az anemia perniciosához, ami a B_{12} vitamin hiányában jön létre, a feljebb említett funicularis myelosis mellett – ld. a folsav és B_{12} vitamin anyagcseréjének kapcsolatát a következő oldal ábráin).

MEGJEGYZENDŐ: Elégtelen folsavbevitel terhesség alatt velőcsőzáródási rendellenességet okozhat. Terhesek folsav-pótlása jelentősen mérsékeli az idegcső-defektusok (mint a spina bifida és az anencephalia) gyakoriságát. A velőcső-záródási rendellenességek 2/3-a megelőzhető lenne, ha **a terhes anya legalább napi 0,4 mg folsavat** fogyasztana. Ezt **általában *nem* biztosítja az étrend**. Ezért adagolunk folsavat a kismamáknak. Nő a folsavigény, ha a terhes anya az 5-CH_3-THF felszívódását gátló antiepileptikumot szed.

Részlet egy közlemény (Eur. J. Epidemiol., 2019) „beharangozásából”: **Moms Eating Nuts Improves Fetal Neurodevelopment.** The brain undergoes a series of complex processes during gestation, and this means that maternal nutrition is a determining factor in fetal brain development and can have long-term effects” – says the first author Florence Gignac. “The nuts we took into account in this study were walnuts, almonds, peanuts, pine nuts, and hazelnuts. We think that the beneficial effects observed might be because the nuts provided high levels of **folic acid** and, in particular, **essential fatty acids** like omega-3 and omega-6. These components tend to accumulate in neural tissue, particularly in the frontal areas of the brain, which influence memory and executive functions.





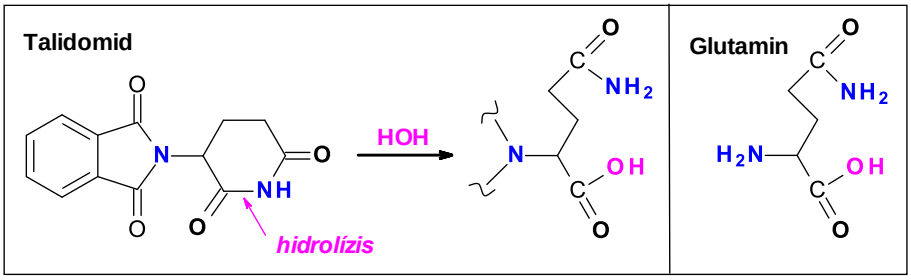
ÁBRA – **fent**: ***A B_{12} vitamin (B12) és a folsav metabolizmusának kapcsolata.*** Az N^5-metil-tetrahidrofolsav (5-CH_3-THF; a növényi táplálékban lévő forma) a B_{12} vitamin mellett elengedhetetlen ahhoz, hogy a homocisztein remetilálódjon metioninná, majd az utóbbiból S-adenozil-metionin (SAM) képződjön. Az SAM a metil-transzferázok által használt metil-donor. Az egyik élettanilag igen fontos metil-transzferáz a foszfatidil-etanolamin-metiltranszferáz (PEMT), amely három metilcsoportot visz rá a foszfatidil-etanolaminra, így termelve a foszfatidilkolint, amely szükséges a membránlipidek és a mielin képzéséhez.

ÁBRA – **lent**: ***A B_{12} vitamin (B12) és a folsav metabolizmusának kapcsolata*** – *további részletek.*

H. FÜGGELÉK

1. A talidomid hatásmódja – 1. teória: A talidomid hidrolízis-terméke a glutamint utánozva gátolja olyan transzkripciós faktorok DNS-kötődését, amelyek DNS-aktiváló doménja glutaminban gazdag, ezzel károsítja a magzati végtagfejlődést.

A teória alapja: *talidomid a szervezetben hidrolizál; a hidrolizált talidomid szerkezete utánozza a glutaminét.* Ezért a talidomid hidrolízis-terméke (lásd az ábrát) – utánozva azon transzkripciós faktorokat, amelyek DNS-kötő doménja glutaminban gazdag (pl. Sp1, Egr1) – kötődik bizonyos gének promoterében található GC-boxokhoz, amelyekhez az ilyen transzkripciós faktorok kapcsolódnak, ezzel gátolva ezen gének transzaktiválását, és olyan kódolt fehérjék kifejeződését, amelyek az angiogenezishez ill. a végtagfejlődéshez nélkülözhetetlenek.



Bővebb magyarázat: Három „box” (DNS szakasz) kötheti azokat a transzkripciós faktorokat, amelyek az ún. preiniciációs komplexet képezik. Ezt a preiniciációs komplexet felismerve kapcsolódik az RNS-polimeráz-II a gén iniciáló helyét jelző bázis-szekvenciához (TAC), hogy megkezdje az átírást az mRNS-re. A gének 91%-ában a TATA-box (5'-TATAAA-3') és/vagy a CCAAT-box (5'-GGCCAATCT-3') van. Viszonylag kevés olyan génünk van, amelynek promoter régiója csak GC-boxot (5'-GGGCCGG-3') tartalmaz a preiniciációs komplexet képző transzkripciós faktorok kötőhelyéül.

A GC-boxokhoz csak olyan transzkripciós faktorok kötődnek, amelyek DNS-aktiváló doménja glutaminban gazdag (pl. Sp1, Egr1). A talidomid a szervezetben hidrolizálva glutamint utánzó metabolitot képez (lásd a fenti ábrát), így (a DNS-hez interkalálódva) kötődik a GC-boxokhoz, meggátolva azt, hogy oda transzkripciós faktorok (pl. Sp1, Egr1) kötődhessenek és aztán a gén átírása mRNS-re megkezdődhessen.

Érdekes, hogy az angiogenezisben szerepet játszó fehérjéket kódoló gének között több olyan is van, amelyek promotere TATA- és CCAAT-box-mentes, és csak GC-boxot tartalmaz. Ilyenek pl. növekedési faktorok (IGF-1, FGF-2), az IGF-1-et támogató fehérjék (IGF-1BP, IRS-1), valamint e két növekedési faktor-keltette jelátvitel hatására expresszálódó integrin fehérjék génjei. – Integrinek horgonyozzák le a sejteket az extracelluláris mátrixhoz, azaz integrálják a sejteket a szövetbe – lásd a következő táblázatot is.

Gének, amelyek csak GC-boxot tartalmaznak (ide kötődik a talidomid)	**A kódolt fehérje funkciója**	**Szerep az angiogenezisben**
Alfa-v integrin (α_V)	Integrin, a β_3 integrinnel dimért képez	Az $\alpha_V\beta_3$ integrin fontos az erek és az extracelluláris matrix adhéziójában*
Béta-3 integrin (β_3)	Integrin, az α_V integrinnel dimért képez	
Fibroblast growth factor-2 (FGF-2)	A szubendoteliális EC mátrixban lévő növekedési faktor, amely sejtfelszíni, tirozin-kináz aktivitású receptoron hat	Az FGF-2 fokozza a α_V és a β_3 integrin-monomérek képződését; növeli az endotélsejtek proliferációját is
Insulin-like growth factor-1 (IGF-1)	GH hatására főleg a májban képződő fehérje, amely sejtfelszíni, tirozin-kináz aktivitású receptoron hat (IGF-1R)	Az IGF-1 (miután kötődik az IGF-1BP-hez) aktiválja receptorát, majd az IRS-1-et. Az így elindított intracelluláris jelátvitel – többek között – az α_V és a β_3 integrin-monomérek fokozott expresszióját eredményezi.
IGF-1 binding protein (IGF-1BP)	Kötődve az IGF-1-hez, elősegíti az IGF-1 kötődését a receptorához	
IGF-1 receptor szubsztrát-1 (IRS-1)	A sejtben kötődik az aktivált IGF-1R-hoz, majd foszforilálódik, és aktiválja a PI3K jelátviteli utat és a MAPK utat	

* *Egy $\alpha_V\beta_3$ integrin-ellenes humanizált monoklonális antitest-készítmény – etaracizumab, amelyet angiogenezis-gátló daganat-ellenes gyógyszernek szánnak – jelenleg klinikai kipróbálás alatt van.* (EC = extracelluláris).

Tehát a talidomid több olyan gén expresszióját gátolhatja (a génben lévő GC-boxhoz kötődve), amelynek szerepe van az érképződésben. Az érképződés gátlása miatt a végtagkezdemények növekedése leállhat az embrióban, és így kialakulhat a talidomid teratogén hatását jellemző amelia és phocomelia.

2. A talidomid hatásmódja – 2. teória: A talidomid a cereblonhoz kötődve fokozza bizonyos transzkripciós faktorok proteoszómális degradációját. Egyes transzkripciós faktorok (IKZF1 és IKZF3) degradációja magyarázza a talidomid terápiás hatását myeloma multiplexben, mások (PLZF) degradációja pedig a talidomid teratogén hatásáért felelős.

Japán kutatók azonosítottak egy olyan fehérjét, amely a talidomidot nagy affinitással és enantioszelektív módon köti (Ito et al., Science 327: 1345-1350, 2010). Kiderült, hogy ez a fehérje – a **cereblon** (CRBN) – egy 4 proteinből álló ún. ubiquitin-ligáz komplex (jelölése $CRL4^{CRBN}$) egyik tagja. Ez a komplex ubiqutinnel* kapcsol (azaz ubiquitinál) fehérjéket, amelyek – ilyen módon „halálos jelölést" kapva – a sejt proteoszómáiban („hulladékdarálóiban") peptidekké degradálódnak. A $CRL4^{CRBN}$ komplexen belül a cereblon köti meg a szubsztrátot (az ubiquitinálandó fehérjét), majd átadja a cullin-4 (CUL4) nevű fehérjének, amely a komplexben lévő ligáz. A cereblon fehérjén lévő zseb képes megkötni a talidomidot, annak analógjait (a lenalidomidot és a pomalidomidot), valamint a CYP által képzett 5-hidroxi-talidomidot is. Amikor a zsebet a talidomid (vagy analógja, ill. 5-OH metabolitja) foglalja el, akkor egyes fehérjék kötődése a cereblonhoz és azok ubiquitinálása fokozódik, ezért gyorsabban degradálódnak a proteoszómákban.

A talidomiddal asszociált cereblon fokozza az ún. IKAROS családbeli transzkripciós faktorok, pl. **IKZF1** és **IKZF3** degradációját. Ezek fontos szerepet töltenek be a plazma sejtek (B sejtek) fejlődésében és fokozottan fejeződnek ki a malignus B-sejtekben (pl. a myeloma sejtekben). Myeloma sejteken végzett kísérletek igazolják, hogy az IKZF1 és IKZF3 talidomid-okozta depléciója szükséges és elégséges mechanizmus a talidomid terápiás hatásában a myeloma multiplex ellen (Lu et al., Science 343: 305-309, 2014). E hatásmódból érthető, hogy talidomidra és származékaira érzékenyebbek azok a myeloma sejtek, amelyekben a cereblon szintje magas, de rezisztensek azok, amelyekben a cereblon szintje alacsony.

A talidomiddal vagy 5-hidroxi-talidomiddal asszociált cereblon gyorsítja **PLZF** nevű transzkripciós faktor (egy zinc finger fehérje§) degradációját is (Yamanaka et al., The EMBO Journal 40: e105375, 2021). A PLZF számos fejlődési folyamatban – pl. a csontfejlődésben is – kritikus szerepet játszik. Csirkeembrióban teratogén volt nemcsak PLZL fehérje expressziójának genetikai megszüntetése (ún. „PLZL knockdown"), hanem talidomiddal vagy 5-hidroxi-talidomiddal végzett kezelés is. A PLZL genetikai „overexpressziója" csirkeembrióban viszont mérsékelte talidomid vagy 5-hidroxi-talidomid okozta teratogén hatást. E megfigyelések támogatják azt a teóriát, hogy a talidomid, származékai, ill. 5-hidroxilált metabolitja a cereblonhoz kötődve, így a PLZF proteoszómális degradációját gyorsítva váltja ki a végtagfejlődés zavarát.

Kiegészítő magyarázat a talidomid myeloma ellenes hatásmódjáról: Az IKZF1 és IKZF3 (mint transzkripciós faktorok) gének transzkripcióját fokozhatják ill. represszálhatják. Az IKZF1 és IKZF3 például represszálja az IL-2 gén transzkripcióját IL-2 fehérjévé (amit T-limfocita növekedési faktornak is neveznek). Régóta ismert, hogy a talidomid növeli az IL-2 szintézist emberi mononukleáris sejtekben (limfocita, bazofil leukocita, makrofágok). Ennek is az lehet a mechanizmusa, hogy a talidomid fokozza IKZF1 és IKZF3 proteoszómális degradációját, ezzel az IL-2 gén derepresszióját idézve elő. A citotoxikus T-sejtek aktiválásával az IL-2 szerepet játszhat a tumor-elleni védelemben.

Emlékeztető:

Az **Mdm-2** fehérje (lásd a 11. Fejezet 18. oldalán) és a **Keap-1** fehérje (lásd a 11. Fejezet, 44. oldalán) is **ubiquitin ligázok**. Az Mdm-2 a p53 fehérjét, a Keap-1 pedig a Nrf2 fehérjét ubiqutinálja, ezzel elősegítve ezen transzkripciós faktorok proteoszómális degradációját és intracelluláris koncentrációjuk alacsony szinten tartását fiziológiás körülmények között.

- *DNS-károsodás* hatására az **Mdm-2** foszforilálódik, ezért kapcsolódása a p53 fehérjéhez megszűnik. Így a p53 („a genom őrangyala") nem ubiqutinálódik, nem degradálódik, szintje a sejtben megnő és olyan gének transzkripcióját aktiválja, amelyek termékei leállítják a sejtosztódási ciklust és/vagy a sejt apoptózisát idézik elő, meggátolva azt, hogy a károsodott DNS-t hordozó sejtek esetleg daganatsejtekké alakulhassanak (lásd a 11. Fejezet 18. oldalán).
- *Elektrofil vegyületek* kovalensen kötődhetnek a **Keap1** SH csoportjaihoz, *az oxidatív stressz* során képződő HOOH pedig oxidálhatja azokat (pl. szulfénsavvá vagy diszulfiddá). E módosulások hatására a Keap-1 disszociál az Nrf2-től, és az így szabaddá vált (és az ubiqutinálódástól megmenekült, ezzel stabilizálódott) Nrf2 a sejtmagba transzlokálódhat, ahol olyan gének transzkripcióját aktiválja, amelyek termékei fokozzák a sejt ellenállóképességét az elektrofil ill. oxidáns hatású vegyületekkel szemben (lásd a 11. Fejezet, 7-8. Függelékében).

---

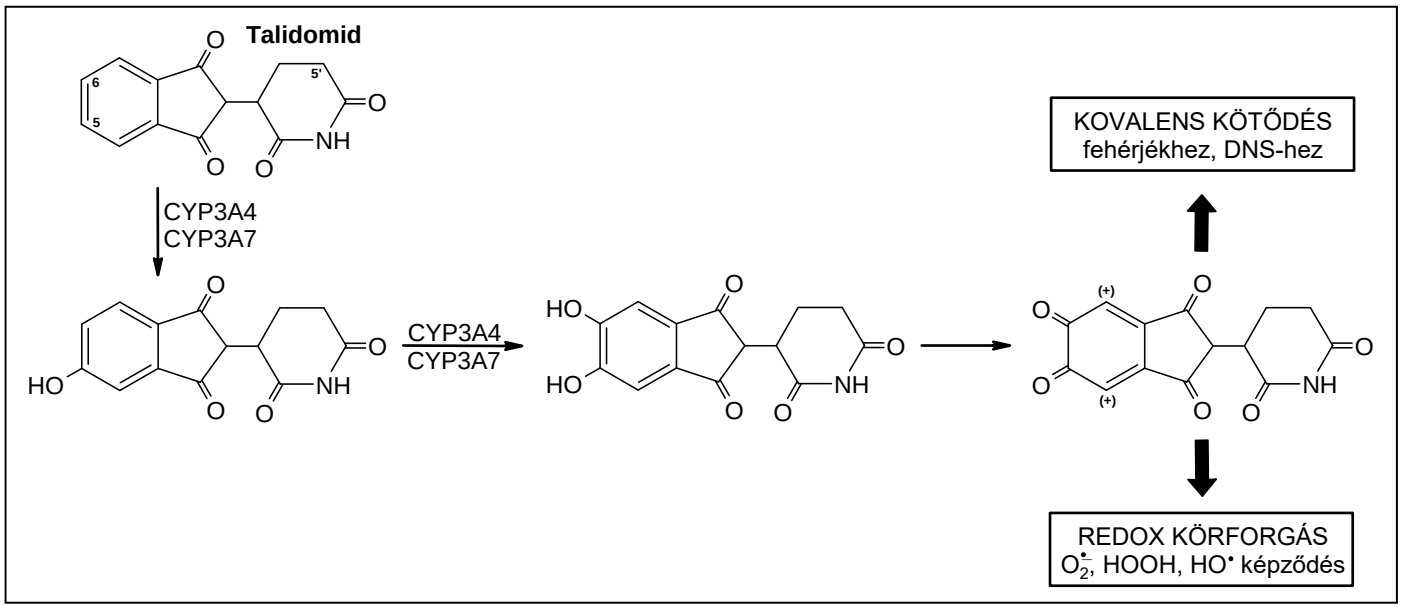
* **Ubiquitin:** Kis (8 kDa) ubikviter fehérje, amelyet ubiquitin ligázok kapcsolnak más fehérjék lizin amino-csoportjához. A fehérjéhez kötött ubiquitin is rendszerint ubiquitinálódik (poliubiquitinálódás).

§ A **zinc finger (cinkujj) fehérjékről** a 6. Fejezet 4. Függelékében olvashatók tudnivalók.

3. A talidomid hatásmódja – 3. teória: A talidomid a humán magzati (és esetleg placentális) CYP3A hatására toxikus metabolitot (kinont) képez, amely kovalensen kötődve és/vagy redox körforgás révén reaktív oxigén-metabolitokat ($O_2^{\bullet-}$, HOOH és $HO^{\bullet}$) termelve károsítja a magzati végtagfejlődést.

A teória alapját az alábbi ábra szemlélteti. A humán CYP3A4 és/vagy a fötális szövetekben kifejeződő CYP3A7 által katalizált folyamatban a talidomid előbb 5-hidroxi-, majd 5,6-dihidroxi metabolitot képez, végül pedig – dehidrogenálás révén – orto-kinonná oxidálódik (Wani et al., Chem. Res. Toxicol. 30: 1622-1628, 2017). Mivel a kinonok elektrofil jellegűek – hiszen részlegesen elektronhiányos C atomot tartalmaznak, amelyeket (+) jellel jelöltünk meg – kovalensen reagálhatnak fehérjék és DNS-bázisok nukleofil (elektrondús) atomjaival. Emellett a kinonok hajlamosak elektronfelvétellel, majd a felvett elektronnak az O_2 molekulára történő leadásával (redox körforgás közben) szuperoxid aniont ($O_2^{\bullet-}$) képezni, amelyből HOOH, abból pedig az igen reaktív $HO^{\bullet}$ keletkezhet az ún. Fenton reakció termékeként – lásd bővebben a 4. Fejezet 23. oldalán, a paraquat redox körforgása kapcsán. E két módon a talidomid-kinon citotoxikus hatást és fejlődési zavart okozhat az embrióban.

Emlékeztető: A benzol csontvelőkárosító és leukemogén hatásáért is egy kinon, a benzolból képződő p-benzokinon tehető felelőssé – lásd a 7. Fejezet 4-5. oldalain.



Ez a teória képes leginkább magyarázni a talidomid teratogén hatásában észlelt fajok közötti eltérést. A rágcsálók (egér, patkány) azért lehetnek rezisztensek talidomidra, mert a terhes rágcsáló májában a talidomid hidroxilációja (ami főleg az 5' C-atomon, és nem az 5 C-atomon megy végbe), majd glükuronidációja igen gyors. Így a szer gyorsan eliminálódik a terhes egérben, ezért az embrióba csak ártalmatlan koncentrációban juthat át. Ezzel szemben emberben a talidomid eliminációja hidroxiláció révén (ami emberben főleg az 5 C-atomon, majd a 6 C-atomon megy végbe) jóval lassabb, mint rágcsálókban, ezért a talidomid nagyobb mennyiségben juthat át a placentán a terhes anyából a humán embrióba. Ebből a szempontból a talidomid-okozta teratogén hatásra szintén érzékeny nyúl a rágcsálók és az ember között áll.

Úgy látszik továbbá, hogy az egérben kifejeződő embrionális cyp3a4 – szemben a humán CYP3A izoformákkal – nem vagy alig képes a fenti ábrán illusztrált biotranszformáció katalizálására. Ezt a következtetést támogatja az a kísérlet, amelyet olyan génmanipulált egér-embriókon végeztek, amelyekben azt a kromoszóma-szakaszt, amely az egér cyp3a4 gént tartalmazza, helyettesítették a humán CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 és CYP3A43 géneket tartalmazó szakasszal (transzkromoszómális egerek). Az ilyen embriókat in vitro talidomiddal kezelve azt találták, hogy bennük deformált végtag-kezdemények képződtek. Az olyan embriókban azonban, amelyekben az egér cyp3a4 gént tartalmazó szakaszt nem helyettesítették a humán CYP3A géneket tartalmazó kromoszóma-szakasszal, a talidomid kezelés nem okozott deformitást a végtag-kezdeményekben (Kazuki et al.: *Thalidomide-induced limb abnormalities in a humanized CYP3A mouse model.* Sci. Rep. 2016 Feb 23;6:21419. doi: 10.1038/srep21419).