سیکلوسپورین ـ آ

دکتر هادی خرازی

گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

دکتر غلامعلی خوش سرور

آزمایشگاه بالینی بخش جراحی بیمارستان دانشگاه گراتس ـ اتریش

خلاصه

امروزه استفاده از داروهای سرکوبگر ایمنی در جراحی‌های پیوند اعضا نظیر، کلیه، کبد، قلب، مغز استخوان و هم‌چنین تعدادی از بیماریهای خود ـ ایمنی (اتو ـ ایمیون) اجتناب‌ناپذیر می‌باشد. از میان این دسته داروها می‌توان سیکلوسپورین ـ آ (CyA) را یکی از مؤثرترین و پرمصرف‌ترین داروهای سرکوبگر ایمنی به شمار آورد. استفاده از این دارو در عین حال دارای اثرات جانبی، سمیت عصبی، کلیوی و کبدی می‌باشد.

برای اولین بار نشان داده شد که متابولیت نوعی قارچ بنام Tolypcladium inflatum gams دارای اثر سزکوبگر سیستم ایمنی است.

مطالعات فارماکودینامیک CyA نشان می‌دهد که اثر سرکوبگری دارو بر روی T ـ لنفوسیت‌ها متمرکز بوده و باعث مهار ژن رونویس T ـ لنفوسیت می‌گردد و در نهایت منجر به عدم ایجاد کمپلکس آنتی ژن ـ آنتی بادی می‌شود.

از آنجا که تجویز دزدرمانی دارو به عوامل مختلفی نظیر نوع پیوند عضو، شرایط فیزیولوژی بیماران، قابلیت حصول حیاتی (Bioavailability) و نوع تابلو درمانی وابسته است و به علاوه داروی CyA و متابولیت‌های آن اثرات جانبی تخریبی بر روی ارگانهای دیگر دارند، تعیین حد دز موثر درمانی دارو، اندازه‌گیری مستمر میزان غلظت دارویی و متابولیت‌های آن در خون کاملاً ضروری و حیاتی می‌باشد.

مقدمه

پیدایش روش‌های جراحی پیوند اعضا در پزشکی دریچهٔ وسیعی برای نجات بیماران نیازمند گشوده است که بدون شک افزایش طول عمر و بقای سلامت آنان متضمن استفاده از داروهای ایمنوساپرسیو (Immunosuppresive)

می‌باشد.

از میان این دسته داروها که در حال حاضر در دنیا مورد استفاده قرار می‌گیرند، می‌توان سیکلوسپورین ـ آ (CyA) را بعنوان یکی از موثرترین و پرمصرف‌ترین داروهای ضد ایمنی در جراحی پیوند اعضا نظیر، کلیه، کبد، قلب، مغز استخوان و همچنین در تعدادی از بیماریهای خود ـ ایمنی به شمار آورد (۱).

مشکل اساسی و محوری امروزه جراحی پیوند اعضا در پیچیدگی محافظت سیستم ایمنی گیرنده عضو در مقابل واکنش‌های ایمونو ـ تخریبی عضو بیگانه در بدن می‌باشد.

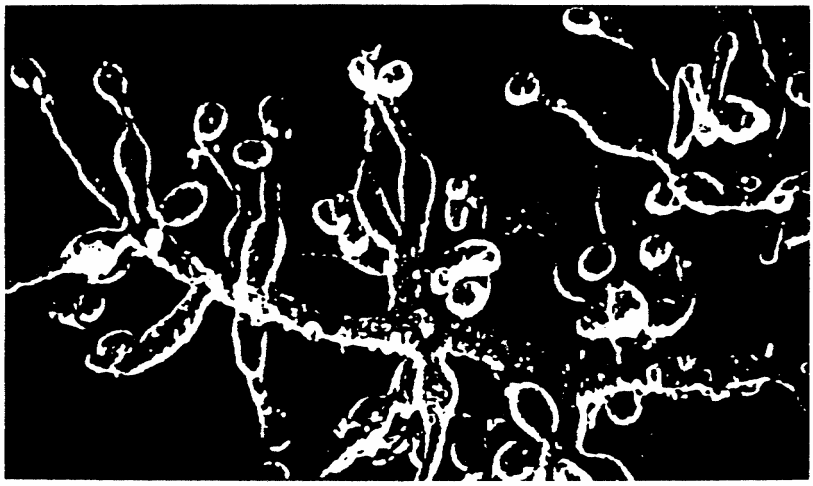
از آنجا که استفاده از داروی سرکوبگر سیستم ایمنی در این گونه بیماران بطور مادام‌العمر اجتناب‌ناپذیر است، بنابراین تعیین میزان دز موثر سیکلوسپورین ـ آ در خون بیماران برای شناسایی دو نقش با اهمیت و در عین حال متضاد آن در روند درمانی کاملاً لازم و ضروری است. این دو اثر مهم عبارتند از:

الف ـ افزایش خطر واکنش‌های سیستم ایمنی در دفع عضو پیوند یافته به علت کمبود دز موثر دارو

ب ـ افزایش خطر بیماریهای عفونی و اثرات تخریبی دارو و متابولیت‌های ناشی از آن در ارگانهای مختلف بدن از جمله کلیه‌ها، کبد، مغز و سیستم عصبی به علت ازدیاد مصرف دارو (۲).

ساختمان شیمیایی سیکلوسپورین ـ آ

در سال ۱۹۷۲ برای اولین بار Borel ثابت نمود که حاصل متابولیسمی نوعی قارچ به نام Tolypocladium inflatum gams دارای اثرات سرکوبگر سیستم ایمنی می‌باشد (۳، ۴، ۵). ضمن آن که داروی فوق در درمان بیماریهای پوستی و متابولیسمی حایز اهمیت است.



تصویر ۱ ـ ساختمان طبیعی مولکول سیکلوسپورین که برای اولین بار از قارچ Tolypocladium inflatum gams جدا گردیده است.

چند سال بعد با استفاده از روش‌های شیمیایی و کریستالوگرافی با اشعه ایکس ساختمان ملکولی و فضایی آن تعیین و با توجه به حلقوی بودن ساختمان ملکول به نام سیکلوسپورین نامیده شد (۳).

سنتز آزمایشگاهی انواع سیکلوسپورین از قبیل E, D, C, A و G تا سال ۱۹۸۰ کامل شد و از میان آنان نوع A به عنوان داروی اختصاصی و موثر ایمنوساپرسیو در جراحی پیوند اعضا مورد استفاده قرار گرفت (۶).

متابولیسم سیکلوسپورین ـ آ

جذب CyA پس از مصرف خوراکی در روده کوچک انجام می‌گیرد که در آنجا قسمتی از آن توسط سیستم آنزیمی P - 450 - S منواکسیژناز روده‌ای متابولیزه می‌شود (۷) میزان جذب روده‌ای بستگی به مقدار ترشح اسیدهای صفراوی و امولسیونه نمودن دارو دارد.

بخش اعظم داروی جذب شده و مقداری از متابولیت‌های آن وارد گردش عمومی خون می‌گردد که پس از اتصال به سلولهای خونی از جمله گلبولهای قرمز، لیپوپروتئین‌ها و پروتئین‌ها به سایر اندامها از جمله کبد که عضو اصلی راه متابولیسمی است وارد می‌شود. در استفاده تزریقی دارو عین مسیر مذکور در بدن تا کبد انجام می‌گیرد. متابولیسم CyA در میکروزمهای کبدی و توسط آنزیم سیتوکرم P - 450 منواکسیژناز، تیپ IIIA و با کمک کوآنزیم NAD انجام می‌گیرد (۸ و ۹). متابولیت‌های حاصل شده در کبد به کیسه صفرا منتقل می‌شود و توسط مجاری صفراوی وارد روده شده و از طریق مدفوع دفع می‌گردد (حدود ۸۰٪).

راه دیگر دفع دارو توسط کلیه‌ها و از طریق ادرار می‌باشد. حدود یک درصد از دارو بدون تغییر دفع می‌شود.

قابل ذکر است که نیمه عمر دارو بدون تأثیر نحوه مصرف (خوراکی یا وریدی) حدود ۱۹ ساعت می‌باشد (۱۰).

تاکنون بیش از ۳۰ ترکیب مختلف واسطه‌ای از راههای متابولیسمی این دارو پیدا شده که فقط ساختمان شیمیایی و یا اثرات سرکوبگری ایمنی تعداد معدودی از آنان در بدن بررسی گردیده است.

نتایج حاصل از تحقیقات Freed (۱۱) و همکاران نشان می‌دهد که متابولیسم‌های M1 و M17 در in vitro مانند CyA دارای قدرت مهارکنندگی انترلوکین می‌باشند. تاثیر سرکوبگر ایمنی متابولیت M17 نسبت به داروی اصلی (CyA) حدود ۱۰ تا ۲۰ درصد گزارش شده است (۱۲).

قابلیت تجمع و ذخیره شدن CyA و متابولیت‌های آن در بافت‌های مختلف بدن طی بررسی Lensmeyer (۱۳) به بیش از ۵۰ برابر میزان آن در خون می‌رسد. همین محقق روند کاهشی غلظت تام این دارو و متابولیت‌های آن را در اعضای مختلف بر حسب کیلوگرم بافت به ترتیب از پانکراس > طحال > بافت چربی > کلیه‌ها > ریه > مغز استخوان > ماهیچه (قلب) > خون دانسته و مورد بررسی قرار داده است.

مشاهدات روزمره نتایج آزمایشگاهی بیماران پیوند اعضا که با CyA تحت درمان بوده‌اند نشان می‌دهد که مقدار متابولیت M17 در خون به نسبت سیکلوسپورین ـ آ به دلایل

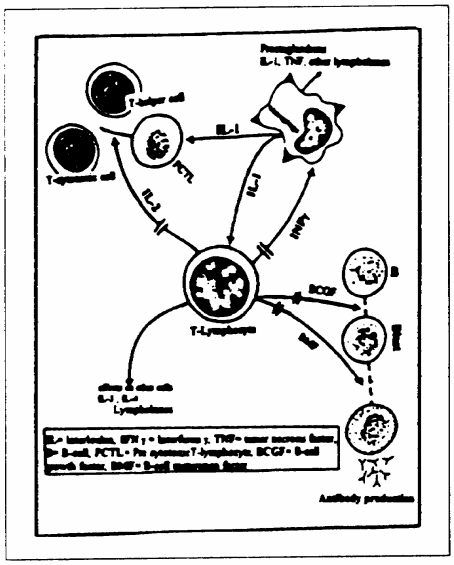
مختلفی که تاکنون مکانیسم آن روشن نگردیده است به بیش از ده برابر غلظت داروی اصلی (CyA) در خون می‌رسد. در عین حال این تجربه نشان می‌دهد که افزایش فوق به نوع پیوند عضو، شرایط فیزیولوژیک افراد، عملکرد کبدی، اختلاط جذب و همچنین تداخل داروی بستگی دارد (۱۴).

اثر فارماکودینامیک CyA

تأثیر اصلی و اختصاصی CyA به عنوان یکی از مهمترین داروی ایمنوساپرسیو، ممانعت و کاهش فعل و انفعالات T ـ لنفوسیت‌ها برای پاسخ ایمنی جدید در بدن می‌باشد.

مطالعات فارماکودینامیک CyA نشان می‌دهد که اثر سرکوبگری ایمنی دارو در سطح مولکولی بر روی T ـ لنفوسیت‌ها متمرکز بوده و باعث مهار ژن رونویس T ـ لنفوسیت (Transcripition - 4) که در نهایت منجر به عدم ایجاد کمپلکس آنتی ژن ـ آنتی بادی می‌شود. ژن رونویس مسؤولیت ایجاد و آزادسازی سیتوکین‌ها برای تحریک دفاعی سایر سلولهای ایمنی بدن در مقابل جسم بیگانه را به عهده دارد.

نتیجه مهار شدن ژن مذکور همان گونه که در تصویر ۲ به خوبی دیده می‌شود از طرفی مانع سنتز اینترلوکین‌ها بخصوص اینترلوکین ۲ (il - 2) به عنوان محرک فعالیت لنفوسیت کمکی (T - Helper cells) و لنفوسیت سمی (T - Cytotoxic cells) بوده و از طرف دیگر مانع سنتز گاماانترفرون (inf - δ) که موجب قطع ارتباط بین T ـ لنفوسیت‌ها و ماکروفاژها می‌گردد (۱۵). نتیجتاً بدین طریق مانع فعال شدن



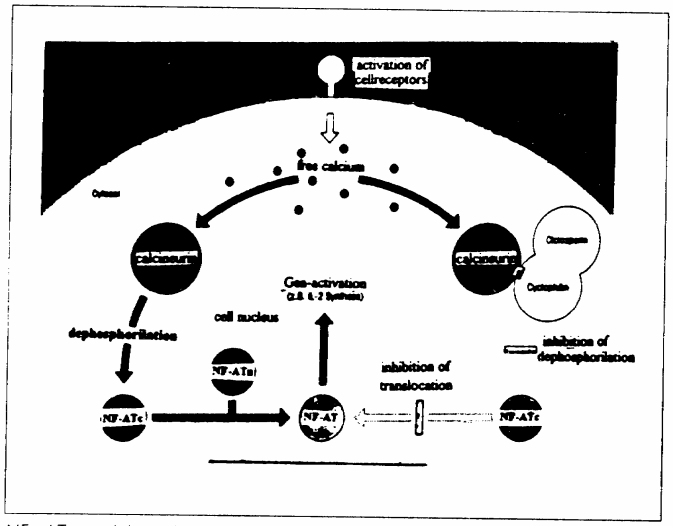
تصویر ۲ ـ چگونگی اثر سیکلوسپورین ـ آ بر روی سیستم ایمنی بدن

واکنشهای دفاعی در هر گروه سلولهای ایمنی می‌شود.

به علاوه کاهش فعالیت T ـ لنفوسیت ناشی از تأثیر دارو باعث عدم ایجاد مراحل افتراقی (Differentiate) و فعال شدن سلولهای B (Burse) برای ایجاد و آزاد نمودن آنتی بادی می‌باشد. بدیهی است CyA بر روی لنفوسیت ـ T فعال شده موجود بدن و هم چنین ازدیاد آن (Proferilation) بدون تأثیر می‌باشد (۱۶).

مکانیسم اثر بیوشیمیایی

برای روشن شدن چگونگی مکانیسم جذب سلولی سیکلوسپورین آ بررسیهای مختلفی انجام گردیده است. مهمترین آنان نظریه



■ فاکتور هسته‌ای سیتوپلاسمی = NF - ATc ■ فاکتور هسته‌ای داخل سلولی = NF - ATn

تصویر ۳ ـ چگونگی مکانیسم اثر بیوشیمیایی سیکلوسپورین در سطح ملکولی

چگونگی جذب دارو توسط گیرندهٔ اختصاصی (سلولهای ـ T) واقع در سطح خارجی سلول می‌باشد که بدین وسیله از غشا عبور می‌کند و وارد سیتوپلاسم می‌گردد. در داخل سیتوپلاسم CyA به گیرنده پروتئینی بنام سیکلوفیلین (Cyclophilin) که جزء ترکیبات همه سلولها بوده و از گروه ایمونوفیلین‌هاست متصل می‌گردد (۱۷ و ۱۸). سیکلوفیلین دارای فعالیت آنزیمی از نوع سیس ـ ترانس ـ پپتیدیل ـ پرولیل ایزومراز (روتاماز) می‌باشد. نتیجه فعالیت آنزیمی فوق تغییر ساختمان فضایی (ساختمان سوم پروتئینی) ریشه‌های اسیدهای آمینه پرولین موجود در پروتئین است که برای فونکسیون بیوسنتز پروتئینی‌ها از اهمیت خاصی برخوردار است (۱۹) (تصویر ۳).

آنزیم کلسینورین موجود در سیتوپلاسم از آنزیم‌های پروتئینی فسفاتاز بوده که فعالیت آن به یون کلسیم آزاد وکالمودولین وابسته است. عمل کلسینورین آزاد سیتوپلاسمی بدون حضور CyA عبارتست از انجام واکنش دفسفریلاسیون برای فعال نمودن و ورود فاکتور هسته‌ای سیتوپلاسمی بنام اختصاری (NF - ATC) به داخل هسته سلول است. NF - ATC در هسته سلولی با مولکول مشابه موجود در هسته (NF - ATN) با هم ایجاد فاکتور اصلی فعال هسته‌ای (NF - AT) را نموده که عمل فعال سازی ژن‌های حاوی سنتزسیتوکین‌ها در داخل هستهٔ سلول را به عهده دارند.

هر دو آنزیم سیتوپلاسمی یعنی سیکلوفیلین و کلسینورین در شرایط عادی (بدون حضور

دارو) دارای فعالیت آنزیمی مستقل هستند. پس از ورود دارو کمپلکس دوتایی سیکلوسپورین - سیکلوفیلین تشکیل می‌گردد. کمپلکس فوق به آنزیم دیگری به نام کلسینورین متصل می‌شود و با همدیگر یک واحد سه مولکولی تشکیل می‌دهند. این کمپلکس سه تایی موجب مهار واکنش دفسفریلاسیون فاکتور هسته سیتوپلاسمی و مانع نقل و انتقال آن به داخل هسته سلول برای غیر فعال شدن ژن و نهایتاً قطع سنتزسیتوکین‌ها می‌گردد (۲۰).

اثرات جانبی CyA

سیکلوسپورین - آ دارای اثرات جانبی متفاوتی در شرایط مختلف بر روی اعضای بدن است که در زیر به شرح مختصری از آنها پرداخته می‌شود:

۱ - اثر جانبی بر روی دستگاه گوارشی

دستگاه گوارش دارای قدرت تحمل CyA را به خوبی دارد به استثنای تعدادی از بیماران مبتلا به آرتریت روماتویید (۲۱). مصرف سیکلوسپورین - آ با دوز بالا می‌تواند به بسته شدن قابل برگشت ترشح کیسه صفرا منجر گردد (۲۲).

۲ - اثر جانبی بر روی پوست و مخاط پوستی

حدود ۲۰ تا ۵۰ درصد از بیماران به پرمویی عمومی بدن که به خصوص برای زنان مشکل آفرین است دچار می‌شوند. در ضمن عوارض مخاطی نظیر التهاب لثه‌ای از عواقب مصرف این دارو می‌باشد (۲۳ و ۲۴).

۳ - اثر جانبی بر روی سیستم عصبی

حدود ده درصد از مصرف کنندگان CyA دچار حملات لرزش‌های ریتمیک عصبی قابل برگشت می‌گردند. حالت مذکور رابطه مستقیم با افزایش دز دارو داشته و در صورت کاهش و یا قطع آن علایم فوق مرتفع می‌گردند.

۴ - اثر جانبی بر روی کلیه‌ها

در میان اعضای مختلف بدن کلیه‌ها بیشتر از سایر اعضا در معرض خطر مصرف CyA می‌باشند این خطرات شامل:

الف - کاهش عملکرد کلیوی که حتی در حد دز درمانی اثر کاهنده بر روی قدرت تصفیه گلومرولی دارد. این اثر به خوبی چند ساعت پس از مصرف دارو نمایان می‌گردد (۲۵). که با قطع دارو و بین یک تا چند هفته عملکرد گلومرولها به حالت طبیعی بر می‌گردد. بررسی در سال ۱۹۹۲ (۲۶) نشان می‌دهد که با مصرف ترکیبات آنتی اکسیدان نظیر ویتامین E همراه با CyA افزایش عملکرد کلیوی را به همراه داشته است.

ب - تغییرات ساختمان بافت کلیوی به صورت عمده شامل تغییرات ساختمان مویرگی، تحلیل توبولها و فیبره (شاخی) شدن بافت درونی می‌گردد (۲۷). این تغییرات غیر قابل برگشت بوده تشخیص افتراقی موارد مذکور از طریق بیوپسی کلیه‌ها امکان‌پذیر است.

یکی از پی‌آمدهای تخریب توبولهای کلیوی افزایش دفع منیزیم و در نتیجه کاهش غلظت آن در خون می‌شود (۲۸). اگر چه تغییرات غلظت منیزیم از اهمیت خاصی برخوردار است، در عمل ۴ تا ۱۰ درصد از بیماران به کاهش دفع کلیوی اسیداوریک مبتلا که منجر به اسید اوریکمی گردیده و علایم بیماری نقرس در آنان مشاهده می‌شود. این حالت بالاخص در بیماران تعویض کلیه مشاهده شده است (۲۹).

۵ـ اثر جانبی بر روی فشارخون

در اکثر بیماران مصرف کننده CyA هیپرتونی دیده شده است. این حالت به صورت عمده در بیش از ۹۰ درصد بیماران جراحی پیوند قلب آشکار می‌شود. افزایش فشارخون ناشی از مصرف سیکلوسپورین آ بر خلاف سایر موارد به مقدار دز درمانی وابسته نیست.

دز درمانی با CyA

از آنجایی که تجویز دز درمانی دارو به عوامل مختلفی نظیر نوع پیوند اعضا، شرایط فیزیولوژیک بیمار، قابلیت حصول حیاتی (Bioavailability)، سن، جنس و هم چنین نوع تابلودرمانی (مصرف یک یا چند نوع دارو) وابسته است، بنابراین تعیین میزان دز مؤثر درمانی یکسان برای مصرف کنندگان CyA امکان‌پذیر نیست. هر مرکز پیوند اعضا موظف است با توجه به شرایط مذکور، با اندازه‌گیری مستمر غلظت دارو در خون و کنترل وضع عمومی بیمار، حد مناسب و مؤثر میزان استفاده دارو را تعیین نمایند. اغلب مراکز کنترل دارویی مقدار نرمال غلظت CyA را در خون با روش HPLC برای بیماران تعویض کبد و شش ۲۵۰ـ ۸۰ نانوگرم و بیماران اتوایمنی حدود ۵۰ نانوگرم توصیه می‌نمایند و به کار می‌برند.

روش اندازه‌گیری CyA در خون

از آنجا که فاصله دریچه درمانی یعنی مرز ناکافی بودن اثر سرکوبگر سیستم ایمنی دارو (دفع عضو) و مصرف بیش از حد آن یعنی اثر (سمی ـ تخریبی) نسبتاً کوچک می‌باشد، بنابراین نظارت مستمر و تعیین میزان مؤثر دز دارو متابولیت‌های آن با توجه به عوامل دخالت کننده که قبلاً ذکر آنان رفت کاملاً ضروری و لازم می‌باشد.

روش‌های متفاوتی برای اندازه‌گیری سیکلوسپورین ـ آ و متابولیت‌های آن در خون مورد استفاده قرار می‌گیرد که در ذیل اسامی آنها ذکر گردیده و در میان روش‌های مذکور در حال حاضر HPLC روشی دقیق، اختصاصی و با صرفه می‌باشد (۳۰).

Sandimmun Kit:	Radioimmunoassay RIA ^{3}H
Cyclo - Trac SP:	Radioimmunoassay ^{125}I
FPIA:	Fluorscence polarization Immunoassay (mono - Polyclonal)
EMIT:	Enzyme Multiplied Immunoassay Technique
ELISA:	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
HPLC:	High Performance Liquid Chromatography

منابع:

1. Baenker HW. Optimierte Immunosuppression o: Cyclosporin. (1995)
2. Kahan BD. Cyclosporin. N Engl J Med.1989; 321: 1725 - 1738
3. Borel J. Feuer C. Magnee C. Effects of the new anti-Lymphocytic cyclosporin A in animals.

Immunol. 1987; 32: 1017.
4. Bore IF. Pharmacology of cyclosporine Pharmacol Rev. 1989; 41
5. Davenport A. Will EJ. Davison Am. Toxicity of cyclodporine metabolite. Lancet.1988; I 333
6. Calne RY. Cyclosporin A in patients receiving renal allografts from cadaveric donors. Lancet. 1978; 1327
7. Kolars JC. Stetson PL. Rush BD. Cyclosporin A metabolism by P450 IIIA in rat enterocytes-another determinant of oral bioavailability. Transplantation. 53: 296 - 602.
8. kronbach T. Fischer V. Meyer UA. Clin Pharmacol Ther. 1988; 43: 630
9. Combalbert J. fabre I. Fabre G. Drug Metab Dispos. 1989; 17: 197.
10. Kovarik JM. Mueller EA. Johnson. pharmacotherapy. 1993; 13: 613 - 617.
11. Freed BM. Rosano TG. Lempert N. In vitro immunsuppressive properties of cyclosporine metabolites. Transplantantion. 1986; 43: 123 - 127.
12. Fahr A. Hiestand P. Pyffel B. Studie on the biologic activities of sandimmun metabolites in human and in animal models: Transplant Proc. 1990; 22: 1116 - 1124.
13. Lensmeyer GL. Wiede DA. Carlson IH. Concentrations of cyclosporin A and its metabolites in human tissues potmortem. J Anal Toxic. 1991; 15: 110 - 115.
14. Khoschsorur Gholamali, Auer T. Petritsch P. Holzer H. The Determination of Metabolite M17 and its Meaning for Immunosuppressive Cyclosporine Therapy: Angiology; J Vascular Diseases (in perint 1998).
15. Granelli - Piperno A. Lymphokine gene expression in vivo is inhibited by cyclosporin. Am J Exp Med. 1989; 171: 533.
16. Wich, et al. Immunologic Effects of cyclosporin. Transplant. Proc. 18: 15 - 18; (1896)
17. Fischer G, Witmann - Liebold B, Lang K, et al. Cyclophilin and peptidy-proly cis-trans isomerase are probably identical proteins. Nature (London); 1989; 337 - 476.
18. Emmel WA. Verweij CL. Durand DB. Cyclosporin A specifically inhibits functior of nuclear proteins involved in T cell activation. Science. 1989; 24: 232.
19. Liu J. Farmer JD Jr. Lane WS. Calcineurin is a common target of cyclophilin - cyclosporin A FKBP - FK506. Cell. 1991; 66: 807.
20. Baenkler HW. Optimierte Immunsuppression durch Cyclosporin, Sandorama, Sandoz; (1995)
21. Dougados M. Amor B. Cylclosporine A in rheumatoid arthritis: Preliminary results of a open trial. Arthr Rheum. 1987; 30: 83 - 87.
22. loertscher R. Wenk M. Harder F. Hyperbilirubinaemia and cyclosporine A levels in renal transplant patients. Lancet. 1981; 11: 635 - 636.
23. Kappos L. Patzold U. Dommasch D. Cyclosporine in the longterm treadment of multiple sclerosis - results of the German multicenter study. Ann Neurol. 1988; 23: 56 - 63.
24. Feutren G. Papoz L. Assan R. Cyclosporin increases the rate and length of remission in insulin - depended diabetes of recent. Lancet. 1986; 11: 119 - 124.
25. Conte G., Sabatini M, Napodano P, et al. Dopamine counteracts the acute renal effects cyclosporine in normal subjects. Transpl Proc. 1988; XX: 563 - 567.
26. Rab1 H. Khoschsorur G. Colomvo T. A multivitamin infusion prevents lipid peroxidation and imprformance of transplantated kidneys in human. Kidney international. 1993; 43: 912 - 917.
27. Diepernik H. Leyssac P. Kemp E. Nephrotoxicityy of cyclosporine A in humans:effects on glomerular filtration and tublar reabsorption rats. Eur J Clin Invest. 1987; 17: 493 - 496.
28. Palestine AG. Austin HA. Nussenblatt RB. Renal tubular function in cyclosporine - treated patients. Am J Med. 1986; 81: 419 - 424.
29. Hsiao - YiLin. Rocher LL. McQuillan. Cyclosporine - induced hyperuricemia and gout. N Engl J Med. 1989; 321: 287 - 292.
30. Khoschsorur G. Semmelrock HJ. Rodl S. Rapid, sensitive high - performance liquit chromatographic method for the determination of CyA and its metabolites M1, M17 and M21. J Chromatography. 1997; 690: 367 - 372.