Nano-gyógyszerek kórélettana, különös tekintettel a keringési vonatkozásokra

Doktori értekezés

Dr. Őrfi Erik

Semmelweis Egyetem
Elméleti és Transzlációs orvostudományok Doktori Iskola

Témavezetők: Dr. Szénási Gábor, C.Sc., *tudományos főmunkatárs*
Prof. Dr. Szebeni János M.D., Ph.D., D.Sc., Med. Habil., *egyetemi tanár*

Hivatalos bírálók: Dr. Garami András, Ph.D., *egyetemi docens*
Dr. Tóvári József, Ph.D., *OOI osztályvezető*

Szigorlati bizottság elnöke: Prof. Dr. Klebovich Imre, D.Sc. *egyetemi tanár*

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Bertalanné Balogh Emese, Ph.D. *egyetemi adjunktus*

Prof. Dr. Pethő Gábor, Ph.D., Habil., *egyetemi tanár*

Budapest
2022

1. BEVEZETÉS

Az infúziós vagy más néven hiperszenzitivitási reakció (HSR) az intravénásan adagolt nano-gyógyszerek és -diagnosztikumok néha súlyos, ritkán halálos mellékhatása lehet. Az infúziós reakció már az első kezeléskor jelentkezik, nem IgE-mediált, de számos tünete hasonló az allergia tüneteihez, ezért az infúziós reakciót pszeudoallergiának, vagy anafilaktoid reakciónak is nevezik. Szebeni és mtsai korábban felismerték a komplement rendszer szerepét, és bevezették az irodalomba a komplement aktiváción alapuló pszeudoallergia (CARPA - complement activation-related pseudoallergy) megnevezést.

Az ma még nem ismert, hogy a HSR (vagy CARPA) során létrejövő hemodinamikai változásokban van-e szerepe az anafilatoxin (AT) receptorok stimulációjának emberben. A C3aR és C5aR receptorokról tudjuk, hogy befolyásolhatják a vérnyomást. Több rágcsálófajban egyértelműen kimutatták, hogy a C5aR aktiválás csökkenti a BP-t, és a C5aR gátlása képes a CVF kezeléssel kiváltott komplement aktiváció hatására kialakuló hipotenziót kivédeni patkányban. Ez utóbbi megfigyelés alapján kijelenthető, hogy a C aktiváció során kialakuló vérnyomásváltozást a C5aR aktiváció túlsúlya jellemzi. A C3aR stimulálása éppen ellenkezőleg, hipertenziót válthat ki. Arra vonatkozóan nincsenek klinikai adatok, hogy a humán HSR alatt fokozódik-e a plazma anafilatoxin vagy a membránkárosító komplex koncentrációja. Ugyanakkor egy munkacsoport kimutatta, hogy az IgE függő anafilaxia során kismértékű C aktiváció mutatható ki.

2. CÉLKITŰZÉSEK

A vizsgálatok fő célja a HSR-t okozó liposzómás készítmények mellékhatásainak elemzése patkányban és egérben, valamint a keringési hatás mechanizmusának feltárása egérben. Ezen belül elsősorban arra kerestünk választ, hogy a komplement (C) aktiváció, hozzájárul-e, és ha igen, milyen mértékben járul hozzá az egyes mellékhatások kialakulásához.

Patkányban:

1. A komplement aktivátor zymosan és kobra méreg faktor hasonló mellékhatásokat okoznak-e patkányban, mint a humán terápiában használt liposzómás készítmények és azok módosított változatai?

2. A liposzómás készítmények okoznak-e C aktivációt, és ha igen, milyen mértékű C aktivációt okoznak?

3. A liposzómás készítmények vérnyomáscsökkentő hatása és a C aktiváció mértéke között megfigyelhető-e összefüggés, korreláció?

Egérben:

4. A komplement aktivátor zymosan és kobra méreg faktor és a humán terápiában használt liposzómás készítmények és azok módosított változatai milyen mellékhatásokat okoznak egérben?

5. A liposzómás készítmények okoznak-e C aktivációt, és ha igen, milyen mértékű C aktivációt okoznak?

6. Az Abelcet egérben okozott vérnyomás hatása milyen mértékben függ a ciklooxigenáz-1 (COX-1) termékek termelésétől, és a tromboxán prosztanoid receptor stimulálástól (amit korábban más fajokban már kimutattak)?

7. A C rendszer kimerítése és a C3a és C5a receptorok gátlása befolyásolja-e az Abelcet hatását a vérnyomásra?

8. A más fajokban kimutatott trombocitopénia és leukocitózis kimutatható-e egérben, és ha igen, a trombociták glikoprotein IIb/IIIa receptorainak gátlása és a granulociták kimerítése befolyásolja az Abelcet hatását a vérnyomásra?

Kísérleteink arra a kérdésre is választ keresnek, hogy a rágcsáló fajok alkalmasak-e a fejlesztés alatt álló nanogyógyszerekkel esetleg okozott HSR reakció előre jelzésére, ill. a HSR reakció mechanizmusának tesztelésére.

3. MÓDSZEREK

3.1 Egér vizsgálatok

3.1.1 Kísérlet során felhasznált állatok

A kísérletek nagy részében hím, 25–35 g tömegű NMRI kültenyésztett egereket használtunk (Toxicoop Kft, Budapest). Az egerek szabadon hozzáférhettek a táphoz (Altromin 1328 Hybridpellet, Lage, Németország) és csapvízhez. A ciklooxigenáz-1 (COX-1) ill. tromboxán prosztanoid receptor (TP) hiányos, C57Bl6 törzsű hím egereket saját tenyészetünkből kaptuk. A COX-1 és TP hiányos genotípust ellenőriztük, mielőtt az egereket használtuk a kísérletekben. Az állatketreceket egy 12óra/12óra fény/sötét ciklusban megvilágított szobában tartottuk, ezen a helyen a hőmérséklet 21–24°C-on és a relatív páratartalom 40–60% között tartott érték. Az állatok beérkezése után legalább egy hetes adaptációs időszakot hagytunk a kísérletek megkezdése előtt.

3.1.2 Kísérleti protokoll – hemodinamikai mérések

Az egereket pentobarbitállal (90 mg/kg, i.p.) altattuk, szükség esetén további kis adagokat adtunk be a kísérletek során. A jobb nyaki artériába és a bal oldali nyaki vénába PP10 kanült vezettünk, a vérnyomás méréséhez, ill. az anyagbeadásához. A vérnyomást BPR-02 nyomásérzékelővel (Experimetria Kft, Budapest) mértük, egy HG-01D vérnyomás erősítő (Experimetria Kft.) és egy PowerLab adatgyűjtő rendszer (ADInstruments Ltd., Oxford, UK) segítségével folyamatosan regisztráltuk.

Egy asztali számítógépen a LabChart adatokat elemző szoftver felhasználásával, (ADInstruments Ltd., Oxford, UK) a pulzáló vérnyomásgörbéből az artériás középnyomást (MABP) és a szívfrekvenciát (HR) származtattuk. A mérések egy 10 perces kontroll periódussal kezdődtek, majd a vizsgálati anyagokat 10 ml/kg térfogatban kb. 1 percen belül, lassú injekcióban adtuk be az egereknek.

Azokban a vizsgálatokban, amelyekben akut kezelést alkalmaztunk, a vizsgálati anyag beadása után 5 perces periódusban mértük az anyag hatását, majd az egereket a tesztanyagokkal 10 ml/kg térfogatban.

A következő csoportokat tanulmányoztuk NMRI egereken:

A kontroll (n=6) csoportba tartozó egereket sóoldattal vagy az alkalmazott vizsgálati anyagok oldószerével kezeltük.

Néhány kontroll állatnak (n=5) az Abelcet-et kétszer adtuk be, a második kezelés 30 perc múlva követte az elsőt.

Az eptifibatidot (n=6) 3 mg/kg-os dózisban, 10 ml/kg térfogatban injektáltuk.

A fiziológiás sóoldattal higított CVF-et (n=6) a farokvénába fecskendeztük be 30, illetve 100 U/kg dózisban, 10 ml/kg térfogatban, izoflurán altatásban 18, ill. 2 órával a kísérlet előtt. A két dózis teljesen kimerítette a komplement rendszert (hemolitikus teszt, n=3).

Az SB290157-et (n=6) DMSO-ban (10 %) és fiziológiás sóoldatban oldott 10 mg/kg-os dózisban adtuk be.

A DF2593A-t (n=6) DMSO-ban (10 %) és sóoldatban oldott 10 mg/kg-os dózisban alkalmaztuk.

A klodronátos (n=5) vagy az üres liposzómákat (n=5) két nappal a kísérlet előtt 200 µl/egér (1 mg klodronátot tartalmazó) dózisban, felületes izoflurán altatásban a farokvénába injektáltuk. Az immunhisztokémiai ellenőrzés szerint ez az adag teljesen kimerítette az F4/80 pozitív sejteket a májból két nappal a kezelés után.

3.1.3 Kísérleti protokoll – vérvizsgálatok

További egér csoportokból vért vettünk a hematológiai és néhány laboratóriumi paraméter méréséhez. Az egereket izofluránnal narkotizáltuk, és a vizsgálati anyagokat farokvénán keresztül adtuk be. Az állatokat ezután lepirudinnal (hirudin származék, Refludan, Aventis Pharma, 0,15 mg/g i.p.) kezeltük a véralvadás megakadályozása érdekében. A hirudin nem befolyásolja a komplement aktivációt. Az állatokat nyaki diszlokációval terminálták, majd a vért a mellkasi üregben gyűjtöttük a véna cava átvágása után. A mintavételi időpontok 0. (kezelés előtt), 1, 3, 5, 10, 30 perccel (kezelés után) történtek. A vérmintákat a további mérésekhez lecentrifugáltuk (1500 rpm, 10 perc, 4 °C) és a plazmát -80°C-on tároltuk.

3.1.5 Analitikai eljárások

Az egér plazma C3a koncentrációt C3a ELISA teszttel (TECO Medical, Bünde, Németország) mértük. A teljes komplement fogyást

módosított birka vörösvértest hemolitikus módszerrel (SRBC) mértük. A tromboxán B2 koncentrációt (TXB2) ELISA teszttel (Cayman Chemical, Ann Arbor, USA) mértük. A vérsejtek számát Abacus hematológiai automatával mértük (Diatron MI Zrt., Budapest).

3.2 Patkány vizsgálatok

3.2.1 Kísérlet során felhasznált állatok

A 350–450g súlyú hím Wistar patkányokat a Toxicoop Zrt-től vásároltuk. (Budapest, Magyarország). Az állatokat szabályozott hőmérsékletű és páratartalmú helyiségben tartottuk, ahol szabadon hozzáférhettek a standard rágcsáló táphoz (Altromin, Lage, Németország) és csapvízhez. Az állatketreceket egy 12óra/12óra fény/sötét ciklusban megvilágított szobában tartottuk, ezen a helyen a hőmérséklet 21–24°C-on és a relatív páratartalom 40–60% között tartott érték. Az állatok beérkezése után legalább egy hetes adaptációs időszakot hagytunk a kísérletek megkezdése előtt.

3.2.2 Kísérleti protokoll

A patkányokat tiobarbitál-nátriummal (120 mg/kg Inaktin, Sigma Aldrich, Budapest) altattuk. A légzés megkönnyítése érdekében PE csövet (OD 3,0 mm) helyeztünk a légcsőbe. A bal nyaki artériát, a bal femoralis artériát és vénát PE-90 és PE-50 katéterrel kanüláltuk. A műtétet követően 30 percet vártunk, majd a vizsgálati anyagot (liposzómák, CVF, zymosan) bolusban (<60 s) injektáltuk a comb vénába. A befecskendezett vizsgálati anyag mennyiségét mg PL/kg-ban (PL, foszfolipid) adtuk meg.

Az artériás vérnyomást a femorális artériában mértük, az egérkísérletben azonos módszerrel és műszerekkel. A tesztanyag beadása után 0,5 ml-es vérmintákat gyűjtöttünk a bal nyaki artérián keresztül a kezelés előtt (0. idő), valamint 1, 3, 5, 10 és 30 perccel a kezelés után. A vérmintákat a további mérésekhez lecentrifugáltuk (1500 rpm, 10 perc, 4 °C) és a plazmát -80°C-on tároltuk.

3.2.3 Analitikai eljárások

A plazma C3 koncentrációt MicroVue Pan-specific C3 reagens készlettel (Quidel, San Diego, USA), és a C3 fogyasztást százalékos változásként számítottuk ki a 0 perces kontroll mintához képest. A

tromboxán B2 koncentrációt (TXB2) ELISA teszttel (Cayman Chemical, Ann Arbor, USA) mértük. A vérsejtek számát Abacus hematológiai automatával mértük (Diatron MI Zrt., Budapest).

3.3 Statisztikai elemzés

Az eredményeket átlag±SEM formában adtuk meg és a 0 időpontban mért értékekhez hasonlítottuk. A statisztikai összehasonlítást egy szempontos ANOVA, ill. két szempontos ismétléses ANOVA teszttel végeztük, és a csoportokat a Dunnett-féle post hoc teszttel hasonlítottuk egymáshoz. A MABP és a C3 fogyasztás közötti kapcsolatot a Pearson-féle korrelációs analízissel számítottuk ki. A $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak. A statisztikai elemzést GraphPad Prism (GraphPad Software Inc, San Diego, USA) segítségével végeztük.

3.4 Etikai jóváhagyás

Valamennyi eljárást a Nemzeti Egészségügyi Intézet (USA) és az állatgondozásról és védelemről szóló magyar törvények által meghatározott iránymutatások szerint hajtottuk végre. A protokollt a Semmelweis Egyetem Munkahelyi Állatjóléti Bizottsága és a Pest Megyei Kormányhivatal (nyilvántartási szám: PEI-001/3948-6/2014) hagyta jóvá.

4. EREDMÉNYEK

4.1 Hematológiai és plazma koncentráció változások a komplement aktivátorok és a liposzómák hatására egerekben

A komplement aktivátorok, a zymosan és a CVF, valamint a liposzómás amfotericin B készítmények, az AmBisome és az Abelcet egységesen mintegy 15 percig tartó, és jelentős hipertenziót okoztak. Trombocitopénia csak a zymosan és az Abelcet kezelés után jelentkezett, míg eritrocitózis és hematokrit emelkedést csak a zymosan és a CVF kezelés után figyeltünk meg.

Ahogy az várható volt, a két direkt komplement aktivátor, a zymosan és a CVF nagymértékű komplement fogyást és plazma C3a

koncentráció emelkedést okozott. A kezelés után 3-5 perccel a liposzómák nem okoztak szignifikáns C aktivációt, de a kezelést követő 10. perctől a C3a koncentráció szignifikánsan emelkedett, tehát az eredmény C aktiválást mutatott AmBisome és Abelcet esetében is. A plazma TXB2 koncentrációk jelentősen emelkedtek a C aktivátorok és a liposzómák beadását követően 3-5 perccel. Így a TXA2 felszabadulás a liposzómák hipertenzív hatására adhat magyarázatot.

4.2 A komplement kimerítés, C3aR és C5aR antagonista előkezelés hatása az Abelcettel kiváltott hipertenzióra

A CVF-fel történő komplement kimerítés jelentősen meghosszabbította az Abelcettel kiváltott magas vérnyomást, mivel a MABP az Abelcet kezelés után 30 percig magas maradt. A komplement kimerítés nem befolyásolta az Abelcet-re adott HR választ. Az SB-290157, egy anafilatoxin C3aR antagonista, szignifikánsan csökkentette az Abelcet maximális vérnyomásemelő hatását, valamint csökkentette a vérnyomást az átmeneti hipertenzió lezajlása után is. Tehát a C3a anafilatoxin plazma koncentráció emelkedés és következményes C3aR aktiválás kismértékben hozzájárul a liposzómákkal okozott vérnyomás emelkedéshez. A DF2593A, egy C5aR antagonista vegyület, hasonló hatást fejtett ki, mint a komplement kimerítés, mivel az Abelcet-kezelés utáni 18 perctől kezdve a MABP szignifikánsan magasabb volt a DF2593A csoportban a kontroll csoporthoz képest. A DF2593A nem befolyásolta az Abelcet-re adott HR-választ.

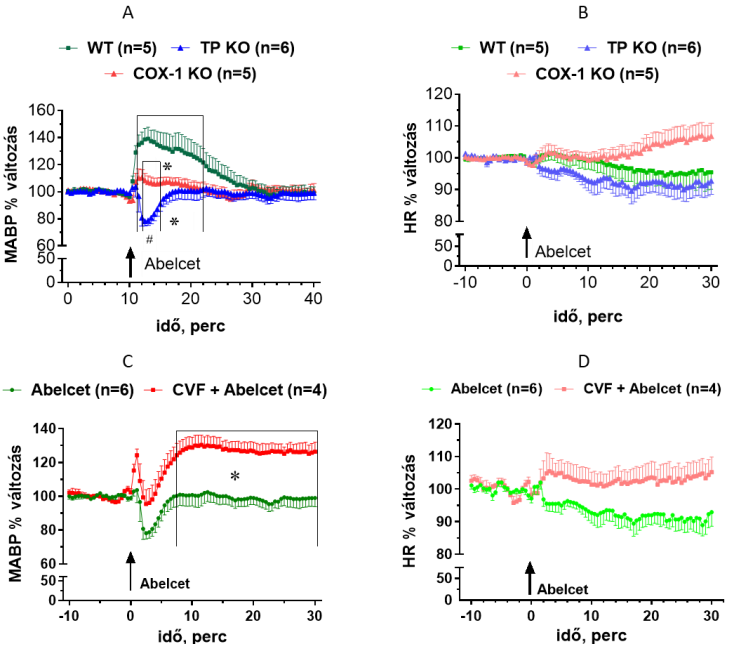
4.3 A makrofág kimerítés és a vérlemezke gátlás hatásai

A makrofág kimerítés klodronát liposzómákkal meghosszabbította az Abelcet-re adott hipertenziós választ, mivel a vérnyomás az Abelcet beadása után 30 perccel is magas maradt. A HR az Abelcet kezelés utáni 4. perctől a 14. percig csökkent a makrofág kimerített csoportban a kontroll csoporthoz képest. A trombocita aktiválás gátlása eptifibatiddal, egy vérlemezke glikoprotein IIb/IIIa receptor inhibitorral, szintén megnyújtotta az Abelcettel kiváltott magas vérnyomást, mivel a MABP az Abelcet-kezelés után 30 perccel is magas maradt. A HR hasonló volt a két csoportban.

4.4 Az Abelcet hatása COX-1 vagy TP hiányos kontroll és komplement kimerített egerekben

Az Abelcettel kiváltott hipertenzió elmaradt a COX-1 hiányos egerekben, míg az Abelcettel nagyon rövid idejű hipotenziót okozott a TP hiányos egerekben a COX-1 hiányos egerekhez képest. A HR hasonló volt mindhárom csoportban, bár a COX-1 hiányos egerekben a HR növekedési tendenciát mutatott. A komplement kimerítés után az Abelcet késői hipertenziót okozott a TP hiányos egerekben, hasonlóan, mint a WT egereknél, és tendencia szerűen emelte a HR-t. (1. ábra)

1. ábra: Az Abelcet vérnyomásra és szívfrekvenciára gyakorolt hatása altatott, kontroll és komplement depletált, ciklooxigenáz-1 (COX-1) vagy tromboxán prosztanoid receptor (TP) hiányos és vad típusú (WT) C57BL/6N egerekben.



A: Az Abelcet hatása az átlagos artériás vérnyomásra (MABP) és B: a pulzusszámra (HR) COX-1 vagy TP hiányos és vad típusú (WT)

C57BL/6N egerekben. C, D: Az Abelcet hatása a MABP-re és a HR-re komplement kimerítés után TP-hiányos C57BL/6N egerekben. A komplement kimerítését kobraméreg faktorral (CVF) végzett előkezeléssel valósítottuk meg. * $P < 0,05$ vs. vad típusú (WT) egerek; # $P< 0,05$ a TP és a COX-1 hiányos egerek között. A WT és a TP vagy a COX1 hiányos vagy kontrol és komplement kimerített csoportokat kétszempontos ismétléses ANOVA-val és Dunnett teszttel hasonlítottuk össze.

4.5 A komplement aktivátorok és a liposzómák hatása a vérnyomásra patkányokban

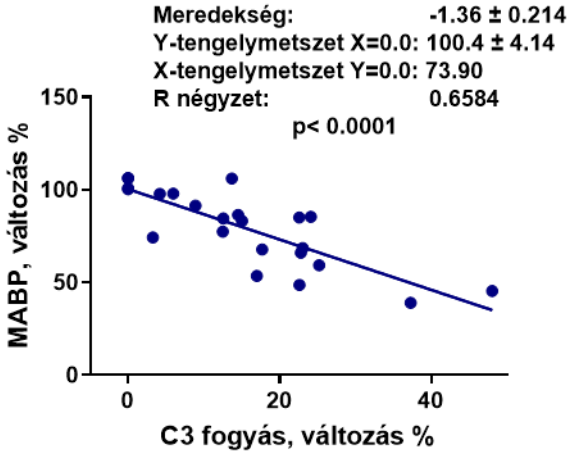
A két C aktivátor, a zymosan és a CVF néhány percen belül a MABP jelentős mértékű (~50-60%-os) esését okozták, amelyet majdnem teljes visszatérés követett a 30 perces megfigyelési időszak végéig. Az AmBisome (22 mg PL/kg) adagjának beadása után 5 perccel az artériás középnyomás 40%-kal csökkent, de ez a hatás kevésbé volt kifejezett, mint a komplement aktivátorokkal történt kezelés után. Az AmBisome 2,2 mg PL/kg dózisban alkalmazva az artériás középnyomás fokozatos, körülbelül 20%-os csökkenéséhez vezetett 10 perccel a kezelés után, ami statisztikailag szignifikáns, de viszonylag kis változást jelent a nagyobb adag hatásához képest a patkányokban.

4.6 Komplement aktiválás a különböző kezelések után

Mind a zymosan, mind a CVF nagymértékű komplement aktivációt okozott a patkányban, bár a változások mértéke és kinetikája különböző volt. A zymosan esetén a C3 fogyás korán elérte a maximumot, majd később alig változott, míg a CVF kezelés után a C3 fogyás folyamatosan emelkedett, és 30 perccel a kezelés után közel teljes komplement kimerítést okozott. Az AmBisome nagy dózisban szintén jelentős komplement aktivációt okozott, a hatása dózis arányos volt. Ezzel szemben az AmBisombo, az AmBisome-mal egyenértékű gyógyszermentes liposzóma még nagy dózisban sem okozott C3 fogyást. Ez arra utal, hogy az amfotericin B jelentősen megváltoztatja a liposzómák tulajdonságát, valószínűleg a zéta-potenciálját is, ami kulcsszerepet játszik a komplement aktivációban.

4.7 A vérnyomás és a C3 fogyás korrelációja

A zymosannal, CVF-fel és AmBisome-mal (nagy dózis) kezelt állatokban mért legalacsonyabb MABP értékek és a komplement C3 fogyás szoros korrelációt mutatott (2. ábra), ami arra utal, hogy a C aktiváció, ok-okozati szerepet játszott az átmeneti hipotenzióban.



2. ábra: Korreláció a legalacsonyabb MABP érték és a C3 fogyás között a CVF, a zymosan és az AmBisome mindkét dózisával kezelt patkányokban. (48) Az 1, 3, 5, 10, 30 perces C3 fogyás érték közül azt vettük figyelembe, ahol a legalacsonyabb volt a vérnyomás. A vérnyomásváltozást és a C3 fogyást is százalékban fejeztük ki az alapértékhez viszonyítva (t= 0 perc) A statisztikai elemzést kétszempontos ismétléses ANOVA és Dunnett-féle teszttel végeztük.

4.8 A komplement aktivátorok és a különböző liposzómák hematológiai hatásai

Mindkét komplement aktivátor, a zymosan és a CVF, valamint az AmBisome nagy dózisa jelentős trombocitopéniát okozott. A PEG-2000-chol, amelyik nem okozott komplement aktivációt, mégis súlyos trombocitopéniát okozott, ami nem volt jelentősen kisebb, mint a CVF és a nagy dózisú AmBisome hatása. Hasonló eredményeket kaptunk a fehérvérsejtszám esetében, mert a kezelések leukopéniát okoztak a legtöbb esetben, azzal a különbséggel, hogy a CVF és a nagy dózisú

AmBisome esetében kompenzációs leukocitózist is megfigyeltünk a kezelés után 30 perccel. A leukopénia általában nagyobb volt, ha a komplement aktiváció nagyobb volt, mint a zymosan, CVF és AmBisome esetében, és kisebb, de jelentős mértékű az üres liposzómák, AmBisombo és PEG-2000-chol esetében. Ezek az adatok arra utalnak, hogy a megfigyelt vérsejt változások nagy valószínűséggel komplement függőek, de komplement független mechanizmusok részvétele sem zárható ki.

4.9 A komplement aktivátorok és a különböző liposzómák hatása a plazma TXB2 koncentrációra

Ahogy a vérsejtek változásainál tapasztaltuk, az összes komplement aktivátor, beleértve az AmBisome-ot, jelentősen emelte a plazma TXB2 koncentrációt. Azonban a komplement aktivációt nem okozó liposzómák is jelentősen emelték a TXB2 koncentrációt, különösen a PEG-2000-chol, ami arra utal, hogy a TXA2 felszabadulást komplement független mechanizmusok váltották ki.

5. KÖVETKEZTETÉSEK

A patkányban elvégzett kísérletekben két komplement (C) aktivátor és néhány liposzómás készítmény hatását vizsgáltuk azzal a céllal, hogy az egyes liposzómás készítmények hatására bekövetkező mellékhatásokat megismerjük és egymáshoz, valamint a C aktivátorokéhoz hasonlítsuk. Nem terveztük a mellékhatások mechanizmusának megismerését, tehát nem próbáltuk feltárni, hogy C aktiváció melyik mellékhatás kiváltásában és milyen mértékben felelős. Így a C aktiváció szerepére vonatkozó óvatos következtetéseket csak arra alapozva tehetünk, hogy az egyes mellékhatások és a komplement aktiváció mértéke között összefüggés mutatkozott. Kimutattuk, hogy a C aktivátorok (zymosan és CVF) nagyobb mértékű C aktivációt okoztak, mint a leghatékonyabb liposzómás készítmény (AmBisome) nagy dózisa, és ezzel arányos vérnyomáscsökkenést okoztak. A C3 komplement komponens fogyása és a vérnyomáscsökkenés mértéke korrelált egymással, így feltételezzük, hogy a vérnyomás-csökkenést elsősorban a C aktivációnak tulajdonítható. A komplement aktivátorokkal és a

liposzómákkal okozott trombocitopénia és leukopénia közül az utóbbi részben a C aktiváció következménye lehet. Ezt a feltételezést az is alátámasztja, hogy irodalmi adatok szerint a C3a és a C5a anafilatoxinok befolyásolják a fehérvérsejtszámot, és nagy dózisban a C5a anafilatoxin átmeneti leukopéniát és azt követően leukocitózist okoz patkányokban. A plazma TXB2 koncentráció emelkedése a komplement aktivátorok és a liposzómás készítmények hatására bekövetkező vérnyomáscsökkenés ellen hat. Ez jelentős különbség a standard CARPA modellnek tekintett sertés és a patkány között, mivel sertésben a TXA2 felszabadulás hatására létrejövő pulmonális hipertenzió a hiperszenzitivitási reakció (HSR) legfontosabb paramétere.

Az egérben kapott eredmények azt mutatják, hogy az Abelcettel kiváltott anafilaxiás reakció legjellemzőbb tünete az artériás középnyomás átmeneti, nagymértékű emelkedése. A hipertenziós hatásnak két fázisa van, egy korai fázis, amelyet főként a TXA2 közvetít a komplementrendszer kis hozzájárulásával, és egy második fázis, amelyet a C aktiválás a C5aR izgatása révén gátol, lerövidítve ezzel a hipertenziós periódus időtartamát. A C5aR stimulálás hatására felszabaduló értágító hatású mediátorok valószínűleg részben a makrofágokból és vérlemezkékből származnak. Ezek az eredmények kiemelik korábbi megfigyeléseinket, miszerint az hiperszenzitivitási reakció egy összetett mechanizmus, amelyet C függő és C független mechanizmusok közvetítenek.

A liposzómákkal okozott mellékhatások elemzése megerősítette azt az előfeltevést, hogy a rágcsálók alkalmasak HSR reakciók mechanizmusának vizsgálatára. Az eredmények transzlációs értéket képviselnek, mivel a különböző fajok immunrendszere és keringési rendszere közötti eltérések részleteinek megértése segíthet előre jelezni a HSR előfordulását a humán terápiában. Bár a vizsgálatban a fiziológiai változások pontos mechanizmusait nem tisztáztuk, az eredmények illeszkednek a „Double hit" hipotéziséhez, amely szerint a HSR kialakulása során C függő (CARPA) és C független (CIPA) mechanizmusok aktiválódnak.

6. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

A tézisek témájához kapcsolódó közlemények:

I. Dézsi L, Fülöp T, Mészáros T, Szénási G, Urbanics R, Vázsonyi C, Őrfi E, Rosivall L, Nemes R, Kok RJ, Metselaar JM, Storm G, Szebeni J. (2014)

Features of complement activation-related pseudoallergy to liposomes with different surface charge and PEGylation: Comparison of the porcine and rat responses.

JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE, 195: 2-10. doi: 10.1016/j.jconrel.2014.08.009 IF: 7,705

II. Dézsi L, Mészáros T, **Őrfi E**, Fülöp T, Hennies M, Rosivall L, Hamar P, Szebeni J, Szénási G. (2019)

Complement Activation-Related Pathophysiological Changes in Anesthetized Rats: Activator-Dependent Variations of Symptoms and Mediators of Pseudoallergy.

MOLECULES, 24. doi: 10.3390/molecules24183283 IF: 3,267

III. Kozma GT, Mészáros T, Vashegyi I, Fülöp T, **Őrfi E**, Dézsi L, Rosivall L, Bavli Y, Urbanics R, Mollnes TE, Barenholz Y, Szebeni J. (2019)

Pseudo-anaphylaxis to Polyethylene Glycol (PEG)-Coated Liposomes: Roles of Anti-PEG IgM and Complement Activation in a Porcine Model of Human Infusion Reactions.

ACS NANO, 13: 9315-9324. doi: https://doi.org/10.1021/acsnano.9b03942 Epub 2019 Aug 6. IF: 14,588

IV. **Őrfi E**, Mészáros T, Hennies M, Fülöp T, Dézsi L, Nardocci A, Rosivall L, Hamar P, Neun BW, Dobrovolskaia MA, Szebeni J, Szénási G. (2019)

Acute physiological changes caused by complement activators and amphotericin B-containing liposomes in mice.

INTERNATIONAL JOURNAL OF NANOMEDICINE, 14: 1563-1573. doi: 10.2147/IJN.S187139 IF: 5,115

V. Milosevits G, Mészáros T, **Őrfi E**, Bakos T, Garami M, Kovács G, Dézsi L, Hamar P, Győrffy B, Szabó A, Szénási G, Szebeni J. (2021)

Complement-mediated hypersensitivity reactions to an amphotericin B-containing lipid complex (Abelcet) in pediatric patients and anesthetized rats: Benefits of slow infusion.

NANOMEDICINE-NANOTECHNOLOGY BIOLOGY AND MEDICINE, 34. doi: 10.1016/j.nano.2021.102366 IF 2021.: 6,458

VI. **Őrfi E**, Hricisák L, Dézsi L, Hamar P, Benyó Z, Szebeni J, Szénási G. (2022)
The Hypertensive Effect of Amphotericin B-Containing Liposomes (Abelcet) in Mice: Dissecting the Roles of C3a and C5a Anaphylatoxins, Macrophages and Thromboxane.

BIOMEDICINES: NANOTECHNOLOGY BIOLOGY AND MEDICINE 34, Paper: 102366, 7 p. (2021) doi: 10.3390/biomedicines10071764 IF 2021.: 4,757

Egyéb közlemények:

VII. **Őrfi E**, Szebeni J. (2016)
The immune system of the gut and potential adverse effects of oral nanocarriers on its function.

ADVANCED DRUG DELIVERY REVIEWS, 106: 402-409. doi: 10.1016/j.addr.2016.09.009 IF: 11,764

VIII. Unterweger H, Janko C, Schwarz M, Dézsi L, Urbanics R, Matuszak J, **Őrfi E**, Fülöp T, Bäuerle T, Szebeni J, Journé C, Boccaccini AR, Alexiou C, Lyer S, Cicha I. (2017)
Non-Immunogenic Dextran-Coated Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles. A Biocompatible, Size-Tunable Contrast Agent for Magnetic Resonance Imaging.

INTERNATIONAL JOURNAL OF NANOMEDICINE, 12: 5223-5238. doi: https://doi.org/10.2147/IJN.S138108 IF: 4,370