

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

BIOLOGICKÁ LÉČBA ASTMATU

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: PharmDr. Jana Pourová, Ph.D.

Hradec Králové 2012

Petra Jirásková

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Tato práce nebyla použita k získání jiného či stejného titulu“.

datum

.....

podpis

.....

Poděkování:

Na tomto místě bych chtěla poděkovat paní PharmDr. Janě Pourové, Ph.D. za její čas, trpělivost, cenné připomínky a odborné rady. Dále bych chtěla poděkovat svojí sestře Veronice Jiráskové za formální úpravu textu a také svým rodičům za podporu v průběhu celého studia.

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra farmakologie a toxikologie

Studentka: Petra Jirásková

Školitelka: PharmDr. Jana Pourová, Ph.D.

Název diplomové práce: BIOLOGICKÁ LÉČBA ASTMATU

Tato diplomová práce přináší přehled přístupů k biologické léčbě astmatu. V první části práce jsou kromě stručné charakteristiky onemocnění uvedeny základní informace ke způsobu přípravy monoklonálních protilátek, jejich struktuře a mechanismům účinku. V druhé části práce se již zaměřuji na samotnou biologickou léčbu. Biologika jsou rozdělena do jednotlivých skupin podle cílových struktur, na něž tyto látky působí. U každé z nich lze nalézt základní charakteristiku nejvýznamnějších zástupců léčiv studovaných v této indikaci a výsledky, kterých bylo v jednotlivých studiích dosaženo.

Základní metodou práce je sběr a porovnání dat získaných studiem odborné literatury. Za nejdůležitější zdroj lze považovat články publikované cizojazyčnými lékařskými a farmaceutickými periodiky a jednotlivé klinické studie.

ABSTRACT

Charles University in Prague
Faculty of Pharmacy in Hradec Králové
Department of Pharmacology & Toxicology

Student: Petra Jirásková

Supervisor: PharmDr. Jana Pourová, Ph.D.

Title of diploma thesis: BIOLOGICAL THERAPY OF ASTHMA

This thesis provides an overview of approaches to biological treatment of asthma. The first part deals with a brief description of the disease, and further gives basic information on the preparation of monoclonal antibodies, their structure and mechanisms of action. The second part of this work is focused on biological treatment. Biologics are divided into groups according to their target structures. In each of them, basic features of the most important drugs applied in this indication as well as the results obtained are summarized.

Collecting and comparing literature data has been the basic method of work. Foreign-language medical and pharmaceutical articles published by periodicals and various clinical studies have been the most important sources.

OBSAH

SEZNAM ZKRATEK	9
ÚVOD A CÍL.....	11
1 Astma bronchiální	12
1.1 Charakteristika onemocnění	12
1.2 Terapie astmatu	13
1.2.1 Konvenční léčba	13
1.2.2 Biologická léčba	18
2 Monoklonální protilátky	19
2.1 Historie monoklonálních protilátek	19
2.2 Metoda produkce hybridomu a monoklonálních protilátek	19
2.3 Typy monoklonálních protilátek	21
2.4 Struktura a funkce monoklonálních protilátek	22
2.5 Mechanismus účinku monoklonálních protilátek.....	23
3 Úloha monoklonálních protilátek v terapii těžkého astmatu	25
4 Perspektivy biologické léčby astmatu.....	26
4.1 Protilátky proti IgE	26
4.1.1 Omalizumab.....	26
4.1.2 CGP51901.....	29
4.1.3 Protilátky s vysokou afinitou k IgE	30
4.1.4 Deplece B-lymfocytů produkujících IgE	30
4.2 Protilátky proti CD23	30
4.2.1 Lumiliximab (IDEC-152)	30
4.3 Protilátky proti TNF- α	31
4.3.1 Etanercept	32
4.3.2 Golimumab	33
4.3.3 Infliximab.....	34

4.4	CpG-vakcíny.....	35
4.5	Protilátky proti IL-4.....	35
4.5.1	Altrakincept	36
4.5.2	Pascolizumab	36
4.6	Protilátky proti IL-4 a IL-13.....	37
4.6.1	Pitrakinra.....	38
4.6.2	AMG-317.....	38
4.7	Protilátky proti IL-5.....	39
4.7.1	Mepolizumab	39
4.7.2	Reslizumab.....	41
4.7.3	Medi-563.....	43
4.8	Protilátky proti IL-9.....	43
4.8.1	Medi-528.....	44
4.9	Protilátky proti IL-13.....	45
4.9.1	Lebrikizumab	45
4.9.2	Anrukizumab (IMA-638).....	47
4.9.3	Tralokinumab (CAT-354).....	47
4.9.4	IMA-026	47
4.10	Protilátky proti CD25 a IL-2	48
4.10.1	Daclizumab	48
4.11	Protilátky proti CD4	49
4.11.1	Keliximab.....	49
4.12	Ovlivnění IL-17	50
4.12.1	AMG 827	51
4.13	Inhibitory chemokinů	51
4.13.1	CCR3	51
4.13.1.1	CAT-213.....	51

4.13.1.2	GW766944	52
4.13.2	CCR4	52
4.13.2.1	Mogamulizumab (AMG 761).....	52
4.14	IL-25	52
4.15	Užití anti-alergických cytokinů v terapii astmatu	53
4.15.1	IL-12	53
4.15.2	IL-10	53
DISKUSE.....		54
ZÁVĚR		57
POUŽITÁ LITERATURA		58

SEZNAM ZKRATEK

ACDD	deník denní kontroly astmatu (Asthma Control Daily Diary)
ACQ	dotazník pro zhodnocení úrovně kontroly astmatu (Asthma Control Questionnaire)
ADCC	na antigenu závislá buněčná cytotoxicita (Antigen Dependent Cellular Cytotoxicity)
AQLQ	standardizovaný dotazník kvality života s astmatem (Asthma Quality of Life Questionnaire)
BAL	bronchoalveolární laváž
CDR oblast	místo molekuly protilátky zodpovědné za kompatibilitu s antigenem (complementarity determining region)
CpG	úsek DNA, kde je nukleotid cytosin vedle guaninu v lineární sekvenci bází (C-phosphate-G)
CPK	kreatin-fosfokináza
CRP	C-reaktivní protein
Fab fragment	část molekuly imunoglobulinu vázající antigen (fragment antigen-binding)
Fc úsek	část molekuly imunoglobulinu, kterou se protilátka váže na buňky mající příslušné (Fc) receptory (fragment crystalizable region)
FcεRI	vysokoafinitní receptor pro imunoglobulin E
FcεRII	nízkoafinitní receptor pro imunoglobulin E
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv v USA (Food and Drug Administration)
FE _{NO}	frakce oxidu dusnatého ve vydechovaném vzduchu (fraction of exhaled nitric oxide)
FEV ₁	jednovteřinová vitální kapacita (forced expiratory volume in 1 second)
FVC	usilovná vitální kapacita (forced vital capacity)
HAMA	lidské protilátky vytvořené po podání myší protilátky (human anti-mouse antibodies)
HGPRT	hypoxanthin-guanin-fosforibosyltransferáza
IFN-α	interferon alfa
Ig	imunoglobulin
IKS	inhalační kortikosteroid

IL	interleukin
IU	mezinárodní jednotka (International Unit)
LABA	inhalační β_2 -agonista s dlouhodobým účinkem (long acting beta agonist)
mAb	monoklonální protilátka (monoclonal antibody)
PEF	vrcholová výdechová rychlost (peak expiratory flow)
SABA	inhalační β_2 -agonista s krátkodobým účinkem (short acting beta agonist)
SAMA	inhalační anticholinergikum s krátkodobým účinkem (short acting muscarinic antagonist)
SCIT	podkožní alergenově specifická imunoterapie (subcutaneous allergen-specific immunotherapy)
SLIT	sublingvální imunoterapie (sublingual immunotherapy)
SR	léčivo s prodlouženým uvolňováním (sustained release)
TLR	toll-like receptor
TNF- α	tumor nekrotizující faktor alfa (tumor necrosis factor alpha)

ÚVOD A CÍL

Astma bronchiale je závažné, chronické onemocnění. Jeho léčba není dosud plně zvládnuta. Současná farmakoterapie není schopna změnit přirozený vývoj onemocnění, pouze tlumí jeho klinické příznaky. Stále nedokážeme astma vyléčit a u části pacientů ho ani udržet pod trvalou kontrolou. Je proto nezbytné prohlubovat naše znalosti o tomto onemocnění a hledat nové způsoby léčby, cíleně zasahující do jeho patogeneze. Neustále jsou vyvíjena jednak nová moderní léčiva stávajících terapeutických skupin, jednak celé skupiny léčiv působících novými, někdy zcela odlišnými mechanismy účinku.

Jednou z velmi perspektivních skupin léčiv jsou biologika, mezi nimiž mají dominantní postavení monoklonální protilátky.

Cílem práce je postihnout prostřednictvím přehledu a charakterizace dnes známé látky v biologické terapii astmatu včetně látek, které jsou zatím ve stádiu výzkumu, a není jasné, zda v budoucnosti skutečně naleznou široké uplatnění v terapii.

Diplomová práce pojednává o biologické léčbě astmatu, proto samotné onemocnění a standardní terapie budou zmíněny jen okrajově.

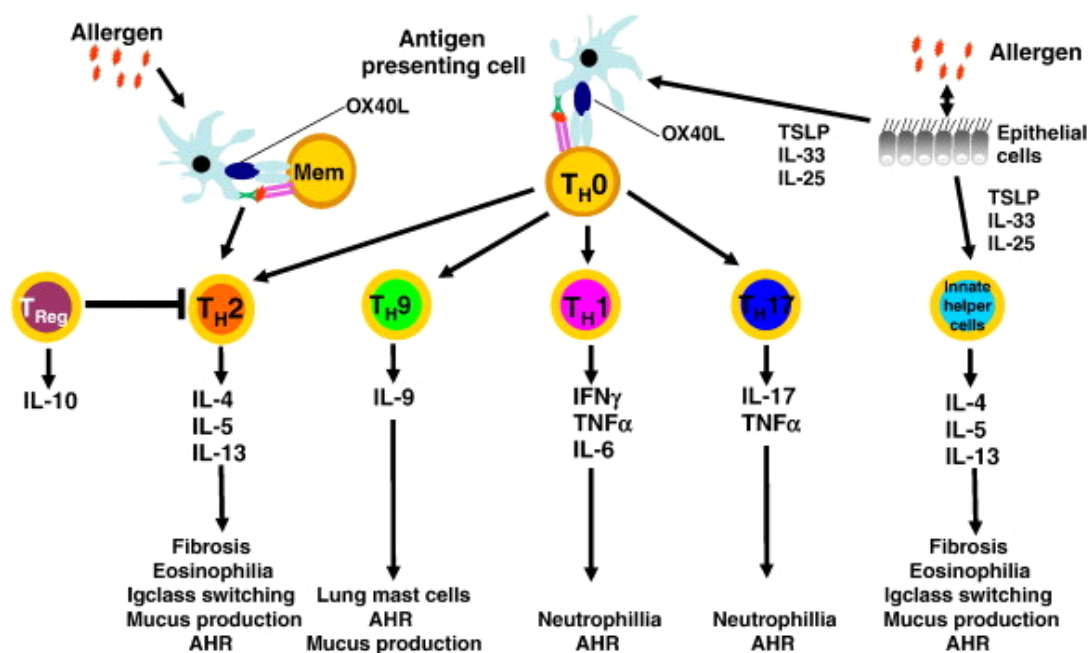
1 Astma bronchiale

1.1 Charakteristika onemocnění

Bronchiální astma je celoživotní zánětlivé onemocnění dýchacích cest, ve kterém se účastní celá řada buněk, buněčných komponent a jejich působků (viz Obr. 1). Chronicky probíhající zánět výrazně zvyšuje reaktivitu bronchů na různé stimuly. Projevy bronchiální hyperreaktivity jsou opakované epizody pískotů při dýchání, dušnost, pocity bolesti či tlaku na hrudi a často se vyskytující kašel. Tyto stavy jsou obvykle provázeny variabilní obstrukcí dýchacích cest, která je zpravidla reverzibilní (Marek et al. 2010, Lincová et al. 2007, Salajka et al. 2008).

Astma se může rozvinout v kterémkoliv věku. Při jeho vzniku se uplatňují jednak faktory vnitřní, jakými jsou geneticky determinovaná atopie, hyperreaktivita dýchacích cest a patrně i pohlaví daného jedince, jednak faktory vnějšího prostředí (Marek et al. 2010, Salajka et al. 2008). Jedná se o nemoc s variabilními projevy, tíží i průběhem. Stimuly vyvolávající astmatický záchvat jsou různorodé. U senzibilizovaných osob se často jedná o alergeny, spouštěčem však může být například i zvýšená tělesná námaha, respirační infekce nebo znečištěné ovzduší. Kontakt se spouštěčem vede poté k akutním astmatickým příznakům (Marek et al. 2010, Lincová et al. 2007).

Celosvětový počet astmatiků je odhadován na 300 milionů. Prevalence astmatu i prevalence senzibilizace na nejrůznější alergeny však neustále narůstá, a to především v dětské populaci. V současné době je astma jedním z nejčastějších chronických onemocnění a vůbec nejčastějším chronickým onemocněním dětí a mladistvých (Marek et al. 2010).



Obr. 1 Buňky imunitního systému, jejich produkty uplatňující se v patogenezi astmatu a přehled jimi vyvolaných účinků

Převzato z: Catley et al. (2011).

1.2 Terapie astmatu

1.2.1 Konvenční léčba (viz Tab. 1)

Látky snižující zánět a hyperreaktivitu bronchů

KORTIKOSTEROIDY

Kortikosteroidy jsou nejúčinnější skupinou protizánětlivě působících léčiv užívaných v terapii všech forem perzistujícího astmatu. Zabraňují vzniku ireverzibilních změn v dýchacích cestách doprovázejících nedostatečně léčené nebo neléčené astma (Lincová et al. 2007).

Inhalačně podávané kortikosteroidy

Inhalační kortikosteroidy (IKS) jsou určeny k dlouhodobé profylaktické léčbě astmatu, jsou zde léky první volby. V současné době jsou na našem trhu k dispozici beklometason dipropionát, budesonid, flutikason propionát a ciklesonid (Marek et al. 2010).

U pacientů se středně těžkou až těžkou formou onemocnění se v některých případech dává přednost užití fixních kombinací IKS a bronchodilatačně působícího agonisty β_2 -receptorů s dlouhodobým účinkem (LABA). Vzájemné synergické působení složek léčivého přípravku umožní podávání nižších dávek IKS ve srovnání s monoterapií IKS (Marek et al. 2010).

Systémově podávané kortikosteroidy

Užití systémových kortikosteroidů přichází na řadu u těžkých astmatických stavů. U akutního astmatického záchvatu nezvladatelného krátkodobě působícími agonisty β_2 -receptorů (SABA) je indikováno perorální podání prednisonu nebo methylprednisolonu. Terapie těžkého perzistujícího astmatu poté může vyžadovat jejich dlouhodobé pravidelné užívání. Parenterální podání je vázáno na hospitalizaci pacientů na jednotkách intenzivní péče (Lincová et al. 2007).

IMUNOPROFYLAKTIKA

Kromoglykát sodný a nedokromil jsou inhalačně podávaná léčiva určená pro udržovací terapii lehkého až středně těžkého perzistujícího astmatu (Lincová et al. 2007). Přesný mechanismus účinku nebyl doposud plně objasněn. Jejich význam v terapii v poslední době poklesl, některými odborníky jsou tyto látky považovány za obsolentní. Na našem trhu nadále zůstává nedokromil (Marek et al. 2010).

Bronchodilatancia

B₂-SYMPATOMIMETIKA

Krátkodobě účinná β_2 -sympatomimetika

B₂-sympatomimetika s krátkodobým účinkem (SABA) jsou léky volby akutní exacerbace astmatu. Aplikují se nepravidelně, dle potřeby jako symptomatická terapie epizod bronchokonstrikce. Četnost užití je dobrým indikátorem kontroly onemocnění. Jsou podávána jako monoterapie intermitentního astmatu nebo v kombinaci s dalšími léčivy u astmatu perzistujícího. Inhalační podání těchto léčiv má vždy přednost. V ČR jsou v současné době dostupné salbutamol, terbutalin a fenoterol, z perorálních poté pouze salbutamol (Marek et al. 2010, Lincová et al. 2007).

Dlouhodobě účinná β_2 -sympatomimetika

Jedná se o bronchodilatačně účinná léčiva užívaná v dlouhodobé terapii perzistujícího astmatu. Nemají vliv na probíhající zánět, měla by být vždy podávána spolu s IKS. Je preferováno inhalační podání. V terapii jsou u nás využívány formoterol a salmeterol a jejich kombinované přípravky s IKS. Perorální lékové formy nejsou v ČR v současné době dostupné (Marek et al. 2010).

Neselektivní sympatomimetika

Adrenalin je užíván v rámci intenzivní péče u velmi těžkých až život ohrožujících stavů, jakými jsou status asthmaticus nebo anafylaktický šok (Lincová et al. 2007).

ANTAGONISTÉ MUSKARINOVÝCH RECEPTORŮ

Inhalační anticholinergika blokují působení acetylcholinu uvolňovaného z cholinergních nervových zakončení na muskarinové receptory dýchacích cest. V porovnání s inhalačními β_2 -sympatomimetiky mají menší bronchodilatační účinek a jeho pomalejší nástup, výhodou jsou podstatně nižší nežádoucí účinky (Marek et al. 2010, Lincová et al. 2007). Podávají se k zesílení bronchodilatačního účinku β_2 -sympatomimetik nebo v případech, kdy jsou ostatní bronchodilatancia kontraindikována (Lincová et al. 2007). Na našem trhu je pro terapii astmatu dostupný ipratropium bromid, a to buď samostatně, nebo v kombinaci s fenoterolem (Marek et al. 2010).

METHYLYXANTINY

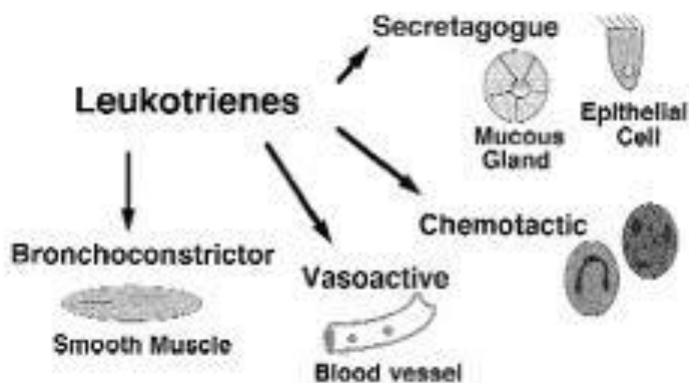
Methylxantiny jsou bronchodilatačně účinná léčiva s množstvím dalších extrapulmonárních účinků včetně protizánětlivého. Mechanismus účinku spočívá v inhibici fosfodiesterázy I-IV a blokádě adenosinových receptorů (Lincová et al. 2007). Jsou užívány jako aditivní bronchodilatancia u středně těžkého až těžkého astmatu, popřípadě v monoterapii jako kontrolující léčiva u pacientů s lehkým perzistujícím astmatem (Marek et al. 2010).

Další léčiva v terapii astmatu

ANTILEUKOTRIENY

Antileukotrieny jsou třídou perorálních antiastmatik blokujících syntézu leukotrienů nebo jejich účinky ve tkáních (viz Obr. 2). Jsou užívány v monoterapii lehkého perzistujícího astmatu nebo jako doplňková léčba k IKS u ostatních forem perzistujícího

astmatu, zejména u námahou vyvolaného astmatu a astmatiků senzitivních na kyselinu acetylsalicylovou. Antileukotrieny jsou pacienty dobře tolerovány a mají jen málo nežádoucích účinků (Lincová et al. 2007).



Obr. 2 Účinky leukotrienů

Převzato z: Vianna a Martin (1998).

ANTAGONISTÉ H₁ RECEPTORŮ

H₁-antihistaminika 2. generace mají prokazatelné imunomodulační účinky, bronchokonstrikci přítomnou u průduškového astmatu ovlivňují jen minimálně (Marek et al. 2010, Lincová et al. 2007). Jejich podání je indikováno při selhání standardní léčby u pacientů se současným výskytem alergické rýmy (Marek et al. 2010).

Tab. 1 Pětistupňová farmakoterapie astmatu u dětí starších pěti let, adolescentů a dospělých

Stupeň	Specifikace	První volba	Alternativa	
1.	intermitentní	monoterapie	inhalační β_2-agonista s rychlým nástupem účinku	SAMA <i>nebo</i> p.o. SABA <i>nebo</i> p.o. LABA <i>nebo</i> p.o. theofylin s krátkodobým působením
2.	lehké perzistující	monoterapie	nízká dávka IKS	antileukotrien
3.	středně těžké perzistující	kombinovaná terapie, volba jedné z kombinací	nízká dávka IKS + LABA	střední/vysoká dávka IKS <i>nebo</i> nízká dávka IKS + theofylin SR <i>nebo</i> nízká dávka IKS + antileukotrien
4.	těžké perzistující	kombinovaná terapie, přidání 1 nebo více léčiv	střední/vysoká dávka IKS + LABA	+ theofylin SR + antileukotrien
5.		kombinovaná terapie, přidání 1 nebo obou léčiv	farmakoterapie shodná se stupněm 4	+ nízká dávka p.o. kortikosteroidů + anti-IgE mAb

Modifikováno dle: Marek et al. (2010).

SAMA – inhalační anticholinergikum s krátkodobým účinkem

SABA – inhalační β_2 -sympatomimetikum s krátkodobým účinkem

LABA – inhalační β_2 -sympatomimetikum s dlouhodobým účinkem

SR – léková forma s prodlouženým uvolňováním

1.2.2 Biologická léčba

Specifická alergenová imunoterapie

PODKOŽNÍ ALERGENOVĚ SPECIFICKÁ IMUNOTERAPIE

Pravidelná injekční aplikace rekombinantních alergenů, alergenových extraktů či chemicky modifikovaných alergenů, tzv. alergoidů, snižuje akumulaci žírných buněk, bazofilů a eozinofilů v kůži, sliznici nosu, očí a bronchiální mukóze. Po opakované expozici alergenu dochází ke zvýšení hladin alergenově specifických protilátek IgA a IgG4 a snížení hladin IgE. Tolerance je navozena v řádu dnů až měsíců, tato pak trvá i po dobu několika let bez nutnosti další léčby (Vrlik et al. 2009, Holgate a Polosa 2008).

Recenze několika desítek randomizovaných, placebem kontrolovaných studií potvrdila účinnost podkožní alergenově specifické imunoterapie (SCIT) spočívající ve snížení astmatických projevů spolu se zmírněním hyperreakivity dýchacích cest (Vrlik et al. 2009).

Závažným nežádoucím účinkem, a tedy limitujícím faktorem terapeutického využití SCIT, je možný rozvoj anafylaktických reakcí, jejichž výskyt koresponduje s tíží astmatu (Vrlik et al. 2009).

SUBLINGVÁLNÍ IMUNOTERAPIE

Podání alergenů na sliznici dutiny ústní je z důvodu nízkého výskytu nežádoucích účinků atraktivním terapeutickým přístupem zejména u dětí. Účinnost sublingvální imunoterapie (SLIT) v terapii alergické rhinitidy, důležitého rizikového faktoru pro rozvoj astmatu, byla prokázána v několika klinických studiích (Vrlik et al. 2009).

2 Monoklonální protilátky

2.1 Historie monoklonálních protilátek

V roce 1890 Emil von Behring a Kitasato Shibasaburō zjistili, že bakteriální toxiny přítomné v krvi infikovaných zvířat jsou neutralizovány pro daný toxin specifickými látkami. Tyto látky nazvali antitoxiny. V roce 1901 obdržel Behring Nobelovu cenu za fyziologii a medicínu za objev séra proti záškrtu. Termíny protilátka a imunoterapie byly použity Paulem Ehrlichem zanedlouho poté (Wikipedia 2011a). Potenciální terapeutický význam protilátek byl rozpoznán krátce po jejich objevu. Uběhlo však téměř sto let, než byly některé imunoterapeutické postupy zavedeny do klinické praxe (Bartůňková a Sobotková 2008). V roce 1970 byla objasněna struktura mnohočetného myelomu z B-buněk. Bylo zjištěno, že všechny nádorové buňky produkují stejný druh protilátky. Tato byla poté použita k dalšímu studiu struktury protilátek. Dosud však nebylo možné vyrobit identické protilátky specifické pro daný antigen (Wikipedia 2012). Dalším mezníkem v oblasti imunoterapie byl rok 1974, kdy Caesar Milstein a George F. Köhler vynalezli postup přípravy monoklonálních protilátek (Bartůňková a Sobotková 2008). Podstatou jejich objevu byla fúze řady myelomových buněk, které ztratily schopnost vylučovat protilátky, s B-lymfocyty se zachovalou produkcí protilátek. Namnožením a selekcí takto splynutých buněk v médiích vznikla nesmrtelná hybridomová linie produkující protilátky určité specifity. V roce 1984 dostali George F. Köhler, Caesar Milstein a Niels Kaj Jerne za tento objev Nobelovu cenu (Bartůňková a Sobotková 2008, Wikipedia 2012). První monoklonální protilátka byla poté uvedena do praxe v roce 1986 (Wikipedia 2011a).

2.2 Metoda produkce hybridomu a monoklonálních protilátek

Monoklonální protilátky jsou monokulturální protilátky vyprodukované jedním klonem aktivovaného B-lymfocyty. Jsou tedy naprosto homogenní a přísně specifické proti jediné antigenní determinantě. Možnost vytvořit monoklonální protilátku se specifickou vazebností přináší pokrok v molekulární biologii, biochemii a medicíně. Monoklonální protilátky mají široké uplatnění v diagnostice a terapii řady chorob a jejich význam nadále roste (Bartůňková a Sobotková 2008).

Produkce buněk hybridomu

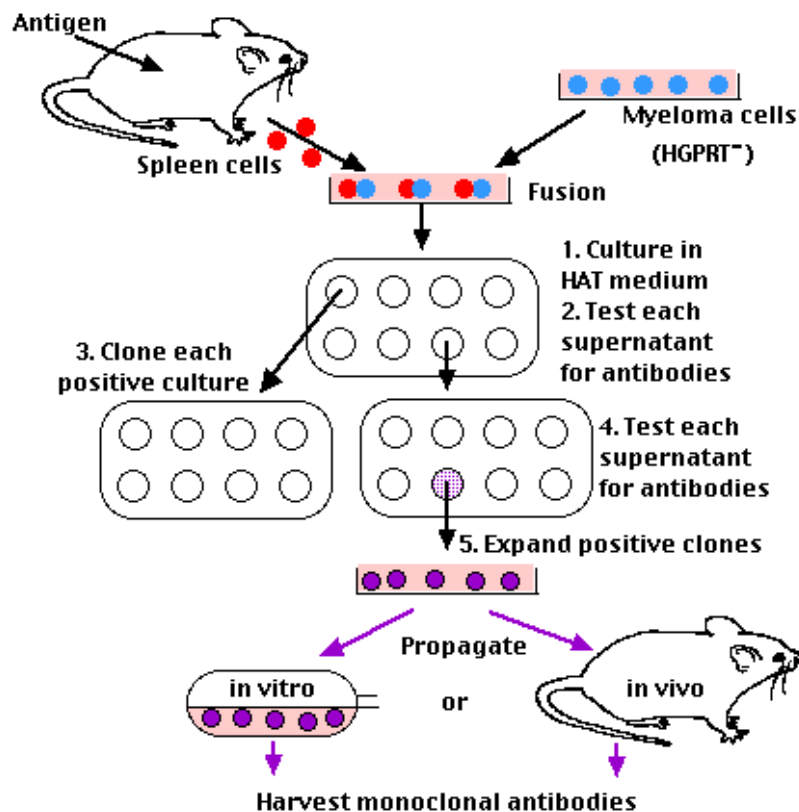
První experimentálně využívané monoklonální protilátky byly připraveny hybridomovou technologií (viz Obr. 3) (Bartůňková a Sobotková 2008, Wikipedia 2012). Její podstatou je vytvoření hybridní buněčné linie pomocí splynutí buněk myelomu s buňkami lymfatické tkáně experimentálního zvířete očkovaného požadovaným antigenem. Vůbec nejčastěji jsou pro tuto techniku využívány slezinné lymfocyty laboratorních myší, v nedávné době však byl s využitím B-lymfocytů králíka vytvořen rovněž králíčí hybridom (Wikipedia 2012).

TECHNIKA HYBRIDIZACE

Lymfocyty odebrané pokusnému zvířeti jsou v roztoku propylenglykolu smíseny s myelomovými buňkami. Po splynutí obou typů buněk je buněčná kultura přenesena do média obsahujícího hypoxanthin, aminopterin a thymidin. Svým složením je toto médium selektivní pro buňky hybridomu. Nefúzované buňky myelomu postrádají enzym hypoxanthin-guanine-fosforibosyltransferázu (HGPRT), tudíž nemůže docházet k replikaci jejich DNA a brzy hynou. Slezinné buňky jako takové mají značně omezenou životnost, postupně se samy eliminují. Hybridní buňky mohou růst v tomto médiu prakticky donekonečna. Z buněk myelomu odvozené vlastnosti činí tyto buňky nesmrtelnými, buňky sleziny jim poskytují enzym HGPRT (Bartůňková a Sobotková 2008, Wikipedia 2012).

Proliferující buňky hybridomu produkují kromě požadované protilátky i řadu dalších (Bartůňková a Sobotková 2008, Wikipedia 2012). Směs buněk je tedy ředěna a klony jednotlivých mateřských buněk pěstovány na mikrotitračních destičkách. Následně je analyzována schopnost protilátek tvořených jednotlivými buněčnými klony vázat se na příslušný antigen. Nejproduktivnější a dostatečně stabilní klon je poté vybrán pro budoucí diagnostické či terapeutické použití (Wikipedia 2012).

Další v praxi využitelnou technikou je injikování hybridních buněk do peritoneální dutiny myši za vytvoření nádorů produkujících ascitickou tekutinu bohatou na protilátky. Tato technika je pro zvířata bolestivá a mnohými odborníky je hodnocena jako neetická. Produkci protilátek v buněčných kulturách se dává obvykle přednost (Wikipedia 2012).



Obr. 3 Metoda produkce hybridomu a monoklonálních protilátek

Převzato z: Kimball (2011).

2.3 Typy monoklonálních protilátek

Rozdílnost mezi myším a lidským imunitním systémem byla příčinou klinického selhání protilátek připravených hybridomovou technologií (Wikipedia 2012). Po podání těchto myších proteinů pacientům docházelo k produkci protilátek označovaných jako HAMA (human anti-mouse antibodies) (Bartůňková a Sobotková 2008). Ty měly za následek snížení terapeutické účinnosti dané monoklonální protilátkou a její nežádoucí účinky. Z tohoto důvodu bylo věnováno značné úsilí rozvoji technologií vedoucích ke snížení obsahu cizorodého materiálu, a tím i možné imunogenicity protilátek (Bartůňková a Sobotková 2008, Tourangeau et al. 2011). Byly vytvořeny protilátky chimérické nebo humanizované, v nichž je část molekuly nekódující antigen nahrazena úsekem lidského imunoglobulinu (Bartůňková a Sobotková 2008). Chimérické monoklonální protilátky jsou tvořeny Fab fragmentem protilátky (fragment antigen-binding) jiného živočišného druhu, nejčastěji myší, spojeným s Fc fragmentem

(fragment crystalizable region) protilátky lidské. U humanizovaných monoklonálních protilátek jsou myšího původu pouze CDR oblasti (complementarity determining region) reagující s antigenními epitopy, protilátky jsou tedy lidské přibližně z 95 % (Bartůňková a Sobotková 2008, Tourangeau et al. 2011).

Při přípravě chimérických a humanizovaných protilátek je nejprve získána hybridomová linie produkující myší protilátky dané specifity. Z těchto buněk je následně připravena RNA a poté s využitím metody reverzní transkripce cDNA. Polymerázovou řetězovou reakcí je namnožen úsek kódující vazebné místo pro antigen, jímž je nahrazen odpovídající úsek v genu pro lidský imunoglobulin. Vzniklý gen je vložen do savčí buňky, která poté produkuje chimérickou nebo humanizovanou protilátku (Bartůňková a Sobotková 2008). Z důvodu možného výskytu imunitních reakcí po podání humanizovaných a chimérických protilátek je všeobecně snaha o vytvoření plně lidských protilátek. Jsou dva přístupy k jejich výrobě, a to využití geneticky modifikovaných tzv. transgenních myší a metoda klonování. V současné době je možné připravit i monoklonální protilátky mající ramena s různou antigenní specifitou nebo protilátky konjugované s další účinnou látkou (Bartůňková a Sobotková 2008, Wikipedia 2012).

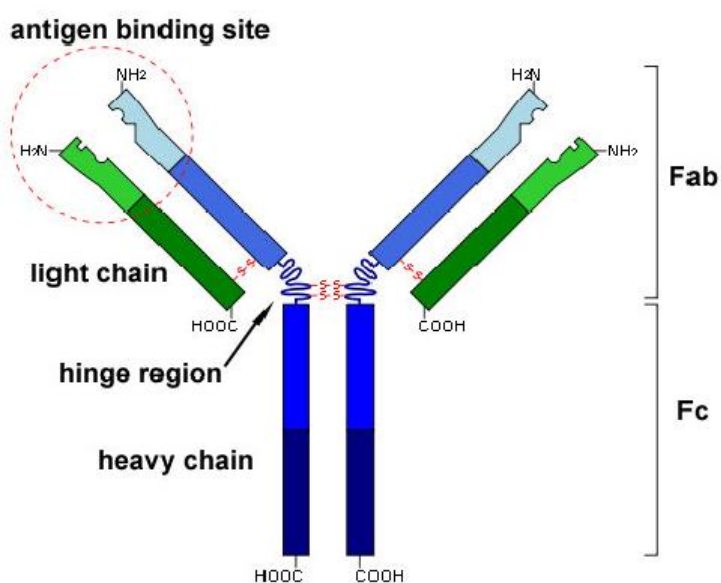
2.4 Struktura a funkce monoklonálních protilátek

Protilátky či imunoglobuliny produkované B-lymfocyty jsou rodinou strukturně blízkých glykoproteinů (Tourangeau et al. 2011). Jejich molekula tvaru písmene Y je tvořena dvěma lehkými a dvěma těžkými řetězci spojenými navzájem pomocí disulfidických můstků (Tourangeau et al. 2011, Wikipedia 2011b). Těžké a lehké řetězce se skládají z variabilních úseků zakončených aminoskupinou, označovaných jako V úseky, a konstantních, karboxy skupinou zakončených C úseků (viz Obr. 4). Většina efektorových funkcí protilátek je zprostředkována konstantními úseky těžkých řetězců (Tourangeau et al. 2011). Známe dva typy lehkého řetězce, kappa (κ) a lambda (λ), a pět typů těžkého řetězce označovaných jako řetězec α , γ , δ , ϵ a μ (Wikipedia 2011b).

Pomocí Fc fragmentu z těžkých řetězců se imunoglobulin váže na Fc receptory buněk. Raménka imunoglobulinu tvořená lehkým řetězcem a těžkým řetězcem přecházejícím

z Fc fragmentu představují fragmenty vázající antigen (tzv. Fab fragmenty) (Wikipedia 2011b).

Na základě struktury konstantních regionů těžkých řetězců byly humánní protilátky rozděleny do pěti izotypů zahrnujících protilátky třídy IgG, IgA, IgM, IgD a IgE (Tourangeau et al. 2011, Wikipedia 2011b). Protilátky produkované jednou plazmatickou buňkou se mohou lišit typem těžkého řetězce, buňka může vytvářet současně více tříd imunoglobulinů. Produkty jedné plazmatické buňky mají vždy stejnou variabilní oblast, tudíž jsou specifické pro určitý antigen (Wikipedia 2011b).



Obr. 4 Schematické znázornění struktury imunoglobulinu

Převzato z: Cell Biology wiki (2010).

2.5 Mechanismus účinku monoklonálních protilátek

Je-li cílovým antigenem solubilní molekula jako toxin nebo receptorový ligand, dochází působením protilátky k jeho neutralizaci. V případě receptoru buněčné membrány, jakožto cílové struktury, protilátka zablokuje signální cestu spojenou s touto molekulou. Nejčastějším cílem léčby je však eliminace určité skupiny buněk. Za mechanismus jejich likvidace poté zodpovídá Fc fragment monoklonální protilátky. K zničení buňky dochází prostřednictvím fagocytózy, na protilátce závislé cytotoxické reakce (ADCC)

nebo cestou aktivace komplementu. Dalším zvažovaným cytotoxickým mechanismem je navození vlastní imunitní reakce tvorbou antiidiotypových protilátek (Bartůňková a Sobotková 2008).

3 Úloha monoklonálních protilátek v terapii těžkého astmatu

Navzdory prokázané účinnosti jsou bohužel všechny v dnešní době dostupné prostředky pro léčbu astmatu pouze terapií symptomatickou (Tourangeau et al. 2011). Bronchiální astma zůstává i přes široké možnosti farmakoterapie a znatelný posun v kvalitě a efektivitě léčby trvalým celosvětovým problémem (Braunová 2010). Tato otázka vedla k rozvoji velkého množství různých biologických činidel zasahujících do specifických aspektů zánětu, ovlivňujících imunopatologický proces vzniku onemocnění (Tourangeau et al. 2011, Braunová 2010).

Využití monoklonálních protilátek je možnou terapeutickou alternativou pro pacienty trpící středně těžkým až těžkým perzistujícím astmatem. Vývoj a výzkum humanizovaných monoklonálních protilátek zaměřených na IgE, IL-4, IL-5, TNF- α a některé další buněčné struktury probíhá již delší dobu. Pro terapii alergických onemocnění a astmatu byl však do klinické praxe doposud zaveden pouze omalizumab, který je monoklonální protilátkou proti IgE (Tourangeau et al. 2011).

V prvních fázích klinického výzkumu jsou testovány látky charakteru blokátorů cytokinů a jejich receptorů, agonisté toll-like receptoru (TLR) 4 a 9, látky ovlivňující účinek transkripčních faktorů, imunostimulační oligodeoxynukleotidy, proliferačně účinné látky aktivující receptor gamma, látky působící proti NF- κ B a mnohá další potenciální léčiva s rozličnými mechanismy účinku. Jednou z posledních novinek je objev protilátky proti IL-17 a antigenu CD69 (Braunová 2010).

Tyto látky obvykle vykazují vysokou specifitu k cílovým strukturám buněk. Dochází tak k přímému působení na receptory buněk nebo mediátory, jejichž funkce nelze nízkomolekulárními léčivy ovlivnit (Braunová 2010).

4 Perspektivy biologické léčby astmatu

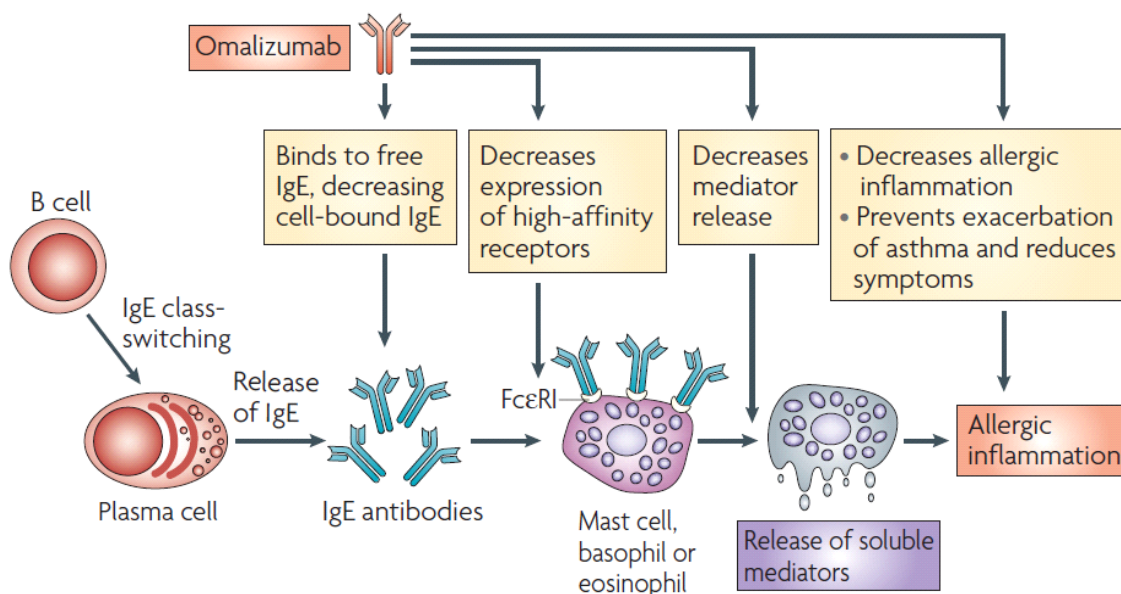
4.1 Protilátky proti IgE

Je všeobecně uznávaným faktem, že na patogenezi alergického astmatu se určitým způsobem podílí imunoglobulin E (Gruenberg a Busse 2010).

4.1.1 Omalizumab

Omalizumab je humanizovaná monoklonální protilátka proti IgE vázající se na C3ε doménu volně cirkulujícího IgE secernovaného B-buňkami na podkladě expozice alergenu (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010). Vazbou na IgE zabraňuje navázání této molekuly na FcεRI receptory umístěné na membránách mastocytů, bazofilních leukocytů a dendritických buněk, tím účinně brání uvolnění jimi produkovaných mediátorů při setkání s antigenem, a tak reguluje eozinofily a další buňky zodpovědné za rozvoj zánětu, remodelaci a funkční změny v dýchacích cestách (Tourangeau et al. 2011, Braunová 2010, Gruenberg a Busse 2010). Blokáda vazby IgE rovněž snižuje expresi vysoce afinitního receptoru pro IgE na membránách buněk (Braunová 2010, Gruenberg a Busse 2010). V několika provedených studiích bylo prokázáno až 96% snížení hladiny IgE v krevním séru po 72 hodinách terapie. Dlouhodobá terapie omalizumabem poté po čtyřech až šesti měsících vyústila v down-regulaci exprese FcεRI na několika typech buněk (viz Obr. 5) (Tourangeau et al. 2011).

Duální mechanismus účinku omalizumabu má podstatný praktický význam. Bez down-regulace receptorů na membránách efektorových buněk by bylo k dostatečné blokádě dalších dějů zprostředkovaných mastocyty a bazofilními leukocyty zapotřebí vyvázání takřka veškerého volně cirkulujícího IgE (Braunová 2010).



Obr. 5 Mechanismus účinku omalizumabu

Převzato z: Holgate a Polosa (2008).

Počáteční dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná studie III. fáze byla provedena u 525 těžkých astmatiků každodenně užívajících inhalační kortikosteroidy, u kterých došlo ke snížení četnosti exacerbací onemocnění (Gruenberg a Busse 2010).

V nedávné době provedená observační studie zahrnující 280 pacientů měla rovněž velmi příznivé výsledky (Gruenberg a Busse 2010). Pacienti užívali omalizumab v dávce 450 mg každé čtyři týdny. Po šesti měsících terapie došlo k výraznému snížení četnosti denních a nočních příznaků, exacerbací onemocnění, snížení počtu hospitalizací pro astma a zvýšení kvality života ve vztahu k onemocnění hodnoceného pomocí Asthma Quality of Life Questionnaire skóre (AQLQ) (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010). Bylo zjištěno, že užití omalizumabu, jako doplňkové léčby u stabilizovaných astmatiků užívajících inhalační nebo perorální kortikosteroidy, mělo u podskupiny těžkých astmatiků s méně závažnými exacerbacemi za následek významné snížení rizika rozvoje exacerbace a zkrácení délky jejího trvání. Mimoto vedlo podávání omalizumabu k podstatnému snížení dávek IKS, někteří pacienti se poté bez jejich podávání obešli zcela (Tourangeau et al. 2011). Studie rovněž naznačily účinek omalizumabu na zmírnění příznaků alergické rhinitidy u astmatických

pacientů, a to zejména tehdy, je-li podán společně se specifickou alergenovou imunoterapií (Gruenberg a Busse 2010).

V současné době je k dispozici mnoho publikovaných důkazů o účinnosti protilátky. U pacientů s alergickým astmatem omalizumab potlačuje časnou i pozdní fázi alergické reakce (Braunová 2010). Jeho primárním přínosem je zlepšení kontroly astmatu a snížení četnosti exacerbací u pacientů s těžší formou onemocnění (Gruenberg a Busse 2010). Schopnost protilátky snížit hladinu volného IgE na méně než desetinu původních hodnot závisí na její dávce, hmotnosti pacienta a na koncentraci IgE v krevním séru. Doporučená terapeutická dávka omalizumabu je 0.016 mg/kg/IU sérového IgE podávaná formou subkutánní injekce každé dva až čtyři týdny. Dávka pro pacienty s tělesnou hmotností vyšší než 150 kilogramů či sérovou hladinou IgE 700 IU/ml a vyšší není známa (Tourangeau et al. 2011).

Hodnocení protilátky běžně zahrnuje 16 týdenní léčbu, kdy je omalizumab přidán ke stávající terapii astmatika (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010). Celková doba terapie nebyla dosud stanovena, přičemž za minimální časový úsek pro zhodnocení stupně terapeutické odpovědi pacienta na léčbu je považováno období dvanácti let. Časté jsou recidivy onemocnění. Po ukončení podávání léčiva dochází během dvou až deseti měsíců k navrácení hladiny volně cirkulujícího IgE na úroveň před započítím terapie. Z tohoto důvodu je zvažováno v některých studiích navrhované dlouhodobé nebo dokonce celoživotní podávání terapie (Tourangeau et al. 2011).

Omalizumab je všeobecně dobře snášen. U žádného z pacientů zařazených do studie nedošlo po jeho podání k vytvoření měřitelné koncentrace protilátek (Gruenberg a Busse 2010). Nejběžnější hlášenou nežádoucí reakcí je bolest v místě vpichu injekce. V porovnání s placebem byl zaznamenán zvýšený výskyt malignit, vyšší riziko infekcí a anafylaxe. U mnohých pacientů se anafylaktická reakce rozvinula s více než dvouhodinovým zpožděním. Po prvních třech injekcích by tedy měl být pacient nejméně dvě hodiny pod lékařským dohledem, při každém následujícím podání protilátky je doba pozorování zkrácena na třicet minut (Tourangeau et al. 2011).

Omalizumab je vůbec první biologickou látkou povolenou pro léčbu alergických onemocnění (Gruenberg a Busse 2010). Jako nejlépe prostudovaná monoklonální protilátka v této indikaci byl zaveden do klinické praxe v roce 2003, kdy byl schválen FDA (Food and Drug Administration) pro užití v terapii středně těžkého až těžkého

perzistujícího alergického astmatu u pacientů starších dvanácti let (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010). V nedávné době byl odsouhlasen posun věkové hranice na 6 let. Zahájení terapie omalizumabem je preferovanou alternativou chronického podávání systémových kortikosteroidů. Na trhu je omalizumab dostupný pod firemním názvem Xolair (viz Obr. 6) (Braunová 2010).

Pro zhodnocení účinnosti omalizumabu v terapii nealergického astmatu máme stále nedostatek údajů. V současné době probíhá studie hodnotící dlouhodobou bezpečnost protilátky u pacientů se středně těžkým až těžkým astmatem (Tourangeau et al. 2011).



Obr. 6 Léčivý přípravek XOLAIR

Převzato z: Pharmaceutical-technology.com (2011).

4.1.2 CGP51901

CGP51901 je chimérická protilátka proti lidskému IgE. Váže se na volně cirkulující a membránou B-lymfocytů vázaný IgE. K vazbě protilátky na vysokoafinitní (FcεRI) receptory membrány bazofilů a žírných buněk a nízkoafinitní (FcεRII) receptory nedochází. Ve studii I. fáze bylo po jeho podání prokázáno až 96% snížení hladiny IgE v séru oproti výchozímu stavu. Účinností byla protilátka velmi podobná omalizumabu, jehož vývoj byl po navození spolupráce mezi vlastníky patentu na vývoj obou protilátek upřednostněn (Catley et al. 2011).

Navzdory variabilní účinnosti omalizumabu přetrvává značný zájem odborníků o zdokonalení terapeutických strategií zaměřených proti IgE. Neustále jsou vyvíjeny nové monoklonální protilátky proti IgE stejně jako protilátky blokující jeho nízkoafinitní a vysokoafinitní receptory (Matucci et al. 2012).

4.1.3 Protilátky s vysokou afinitou k IgE

Tyto protilátky nabízí možnost terapie pacientů s vyššími hladinami sérového IgE. V porovnání s omalizumabem umožňují nižší dávkování a prodloužení dávkovacích intervalů. Existují studie popisující schopnost těchto protilátek odstranit IgE vázaný na FcεRII (Catley et al. 2011).

Výsledky preklinických studií u jedné z těchto protilátek (HAE1) slibovaly její vysokou účinnost. Klinické studie II. fáze však byly ukončeny z důvodu výskytu hypersenzitivních reakcí (Catley et al. 2011).

4.1.4 Deplece B-lymfocytů produkujících IgE

Nový terapeutický přístup spočívá ve specifickém navázání protilátky na M1' oblast lidského IgE. M1' doména se vyskytuje pouze u membránově vázaného IgE. Tato skutečnost umožní cílenou depleci B-lymfocytů produkujících IgE, IgE plazmablastů a IgE myelomů (Catley et al. 2011).

V současné době probíhají klinické studie II. fáze hodnotící účinnost několika M1' specifických protilátek v terapii astmatu (Catley et al. 2011).

4.2 Protilátky proti CD23

Nízkoafinitní receptor pro IgE (CD23) hraje důležitou roli v regulaci syntézy IgE. Látky inhibující jeho činnost by proto mohly v budoucnosti najít uplatnění v terapii astmatu a dalších alergických onemocnění (Vrlik et al. 2009).

4.2.1 Lumiliximab (IDEC-152)

Lumiliximab je makak/lidská monoklonální protilátka vyvolávající depleci buněk exprimujících nízkoafinitní receptor pro IgE a snížení produkce IgE (Catley et al. 2011,

Tourangeau et al. 2011). V pokusech provedených in vitro bylo zaznamenáno rovněž snížení hladin IL-1 β a TNF- α (Tourangeau et al. 2011).

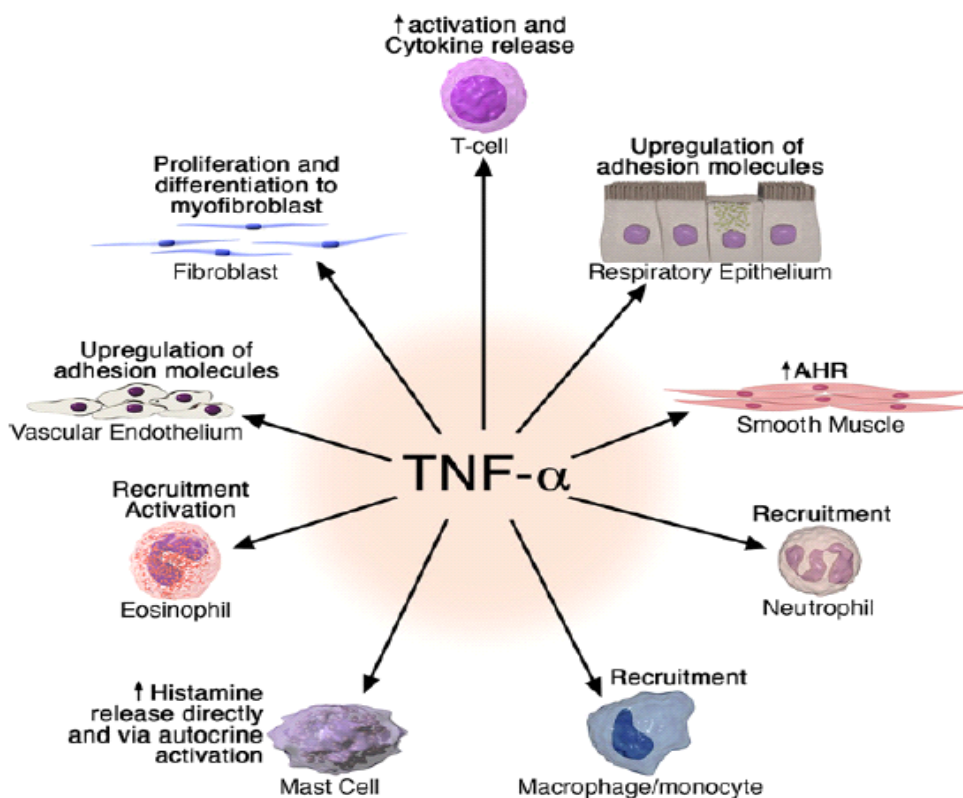
V placebem kontrolované studii I. fáze zahrnující 24 pacientů s mírným až středně těžkým perzistujícím alergickým astmatem obdrželo v každé studijní skupině několik osob jednorázovou dávku protilátky. Zbylé osoby dostaly placebo. Lumiliximab byl podán v dávkách 0,5, 1, 4, 10 nebo 15 mg/kg. Studie probíhala po dobu dvanácti týdnů (Tourangeau et al. 2011). U pacientů léčených protilátkou došlo k poklesu počtu B-lymfocytů a snížení hladiny sérového IgE (Catley et al. 2011, Tourangeau et al. 2011). Studie však neprokázala zlepšení klinických parametrů onemocnění a plicních funkcí u těchto pacientů (Catley et al. 2011). Klinická účinnost protilátky v terapii astmatu nebyla tedy dosud objasněna (Tourangeau et al. 2011).

4.3 Protilátky proti TNF- α

Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) je prozánětlivým cytokinem klíčového významu. Je hlavním Th1 cytokinem vyskytujícím se zejména u pacientů s těžšími formami astmatu s přidruženým neutrofilním zánětem. Ve vzorcích sputa odebraných těžkým astmatikům byly jeho koncentrace výrazně zvýšeny. Hladiny TNF- α u mírných astmatiků a kontrolní skupiny zdravých osob byly takřka srovnatelné (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010).

TNF- α se v patologii onemocnění uplatňuje hned na několika úrovních (viz Obr. 7). Aktivuje různé typy buněk, stimuluje syntézu prozánětlivých cytokinů mj. IL-1 a IL-6, chemokinů a dalších mediátorů. Prostřednictvím aktivace buněk cévního endotelu a up-regulace adhezních molekul podporuje akumulaci imunokompetentních buněk v místě zánětu (Lee et al. 2010). Jeho celkový význam v patogenezi astmatu však nebyl dosud plně objasněn (Tourangeau et al. 2011).

Inhibice TNF- α se ukázala jako vysoce efektivní v terapii revmatoidní artritidy a jiných autoimunitních zánětlivých onemocnění (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010). V současné době jsou látky působící proti TNF- α zkoumány jako potenciální doplňková terapie u pacientů s těžkým astmatem (Tourangeau et al. 2011).



Obr. 7 Úloha TNF- α v patogenezi astmatu

Převzato z: Brightling et al. (2008).

4.3.1 Etanercept

Etanercept je fúzní protein složený z Fc oblasti lidského IgG1 a z extracelulární domény receptoru p75 pro tumor nekrotizující faktor. Jeho molekula má dimerickou strukturu, což zvyšuje jeho afinitu k TNF- α . Váže TNF- α i TNF- β (Tourangeau et al. 2011).

Byla provedena dvanáctitýdenní nekontrolovaná studie s 15 těžkými astmatiky, kterým byl etanercept podáván jako doplňková terapie k IKS. U pacientů bylo zaznamenáno významné zlepšení kontroly příznaků onemocnění a projevů metacholinem indukované hyperreakivity dýchacích cest. Došlo ke zvýšení jednovteřinové vitální kapacity (FEV₁), usilovné vitální kapacity (FVC), ranní a večerní vrcholové výdechové rychlosti (PEF) a ke zlepšení kvality života ve vztahu k onemocnění (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010). Žádné závažné nežádoucí účinky terapie nebyly zaznamenány. Po osmi týdnech od jejího ukončení

se však plicní funkce a astmatické příznaky navrátily k počátečním hodnotám (Gruenberg a Busse 2010).

Další ze studií byla randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná zkřížená pilotní studie, které se účastnilo celkem 30 pacientů. Deset pacientů mělo na léčbu nereagující astma a zvýšenou expresi TNF- α , druhou desítku představovali mírní astmatici, zbylých 10 osob bylo kontrolních (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010). Etanercept byl účastníkům studie podáván po dobu deseti týdnů v dávce 25 mg týdně. U léčených pacientů došlo k výraznému zvýšení FEV₁ po užití bronchodilatační terapie a zlepšení AQLQ skóre (Gruenberg a Busse 2010). U pacientů s na léčbu nereagujícím astmatem byla v porovnání se zbývajícími subjekty studie zaznamenána zvýšená exprese membránově vázaného TNF- α , receptoru typu 1 pro TNF- α a TNF- α -konvertujícího enzymu monocytů periferní krve (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010).

V nedávné době byla provedena randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná studie II. fáze hodnotící účinek etanerceptu u 132 pacientů se středně těžkým až těžkým astmatem. Pacienti dostávali dvakrát týdně formou subkutánní injekce 25 mg etanerceptu nebo placebo. Studie probíhala po dobu 12 týdnů. V porovnání s placebem nedošlo u skupiny s etanerceptem k výraznějšímu zlepšení žádného ze sledovaných parametrů (Tourangeau et al. 2011).

Léčivo bylo pacienty celkově dobře tolerováno, žádné závažné nežádoucí účinky hlášeny nebyly. Nicméně v porovnání s pacienty s revmatoidní artritidou se poměr přínosu terapie a jejích rizik u astmatiků jeví jako méně příznivý. Klinická účinnost etanerceptu nebyla dosud jednoznačně prokázána, výsledky dosažené u jednotlivých studií se poněkud různí. V současné době proto není jasné, zda bude toto léčivo v terapii astmatu v budoucnu používáno, popřípadě jaké místo mu bude náležet (Tourangeau et al. 2011).

4.3.2 Golimumab

Golimumab je plně lidská IgG1 monoklonální protilátka působící proti TNF- α (Tourangeau et al. 2011).

Doposud nejrozsáhlejší randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná studie zahrnovala více než 300 pacientů s nekontrolovaným těžkým perzistujícím

astmatem (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010). Jednotlivým skupinám pacientů byla měsíčně formou subkutánní injekce podána dávka 50, 100, 250 mg golimumabu nebo placebo (Tourangeau et al. 2011). V průběhu studie pacienti pokračovali v užívání stávající antiastmatické terapie. Do 24. týdne studie nedošlo k významnějšímu poklesu výskytu těžkých astmatických záchvatů ani ke zlepšení FEV₁. Ve skupinách aktivně léčených pacientů byl naopak zaznamenán zvýšený výskyt závažných nežádoucích účinků zahrnujících život ohrožující infekce, jako jsou pneumonie, sepse a aktivní tuberkulóza. U osmi pacientů došlo k zhoubnému bujení, jeden člověk zemřel (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010, Mullane 2011). Studie měla probíhat po dobu dvanácti měsíců, závažné nežádoucí účinky terapie však měly za následek její předčasné ukončení ve 24. týdnu (Tourangeau et al. 2011, Desai a Brightling 2009).

Dodatečně provedená analýza (post hoc analýza) zaznamenala zlepšení FEV₁ a pokles počtu exacerbací onemocnění (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010). Zjištění naznačuje, že u určitých podskupin pacientů nebo fenotypů astmatu může být léčba protilátkou účinnější než u jiných (Gruenberg a Busse 2010, Mullane 2011). Další studie provedeny nebyly (Tourangeau et al. 2011).

4.3.3 Infliximab

Tato chimérická lidská/myší monoklonální IgG1 protilátka proti TNF- α byla ve větší míře studována u pacientů se sarkoidosou plic a chronickou obstrukční plicní chorobou (Tourangeau et al. 2011).

Účinnost protilátky v terapii astmatu byla hodnocena v malé, dvojitě zaslepené, placebem kontrolované studii paralelních skupin zahrnující 38 pacientů postižených středně těžkým až těžkým astmatem vyžadujících terapii IKS (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010). Ve skupině pacientů s infliximabem byl po osmi týdnech terapie pozorován celkový pokles výskytu exacerbací a výrazné snížení denní variability PEF. Ve vzorcích sputa těchto pacientů bylo zaznamenáno snížení hladin TNF- α , IL-6 a IL-8 (Antoniou 2009). Ranní PEF, jakožto primárně hodnocený parametr, nebyla ovlivněna (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010, Matera et al. 2010).

Podobná studie s 18 subjekty přinesla taktéž rozporuplné výsledky. U skupiny astmatiků užívajících infliximab byl zaznamenán pokles ve výskytu středně těžkých

exacerbací. Spotřeba úlevové terapie, skóre astmatických příznaků a hodnoty ranní PEF však byly srovnatelné s pacienty užívajícími placebo (Mullane 2011).

Protilátka byla pacienty dobře tolerována, žádné závažné nežádoucí účinky se nevyskytly (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010). Z nežádoucích účinků hlášených u revmatologických studií infliximabu je třeba zmínit zvýšený výskyt infekcí v důsledku imunosuprese, projevy anafylaxe po podání infuze s protilátkou a změny v krevním obrazu. V souvislosti s podanou terapií bylo u několika pacientů zaznamenáno zhoršení projevů srdečního selhávání a zvýšení hladin jaterních enzymů. Vyskytly se rovněž malignity a lymfoproliferativní poruchy (Tourangeau et al. 2011). Pro potvrzení dosažených výsledků je nezbytné provedení rozsáhlejších studií (Gruenberg a Busse 2010).

4.4 CpG-vakcíny

Vakcíny s obsahem demetylovaných CpG-dinukleotidů, jakožto syntetických ligandů Toll-like receptoru (TLR), mohou spouštět imunitní odpovědi potenciálně prospěšné v léčbě astmatu a některých dalších alergických onemocnění (Gruenberg a Busse 2010).

U myšího modelu alergického plicního onemocnění snižoval CpG v dýchacích cestách probíhající zánět. U pacientů s astmatem a projevy atopie však navzdory snížení exprese genu pro interferon alfa (IFN- α) k inhibici zánětlivé odpovědi dýchacích cest nedošlo. V současné době není známo, zda je CpG skutečně účinný (Gruenberg a Busse 2010).

4.5 Protilátky proti IL-4

IL-4 je cytokinem uplatňujícím se zejména v časných stádiích onemocnění. Do patogeneze astmatu zasahuje hned na několika úrovních. Ovlivňuje produkci IgE a zvyšuje aktivitu jeho receptorů na membránách žírných buněk. Kromě toho má vliv na chemotaxi eozinofilů, diferenciaci Th2 lymfocytů a činnost efektorových T-lymfocytů. Prostřednictvím jeho inhibice dochází ke snížení zánětu dýchacích cest a omezení jejich přestavby (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010).

4.5.1 Altrakincept

Altrakincept je rozpustný fragment lidského receptoru pro IL-4, který kompeticí s IL-4 brání jeho navázání na příslušný receptor (Long 2009).

Bezpečnost a účinnost léčiva byla hodnocena v randomizované, placebem kontrolované studii u středně těžkých astmatiků závislých na IKS. Při vysazení kortikosteroidní terapie byla subjektům studie formou nebulizace podána jednorázová dávka 500 nebo 1500 µg altrakinceptu. Léčivo bylo pacienty dobře tolerováno. Ve skupině pacientů s vyšší dávkou altrakinceptu bylo zaznamenáno výrazné protizánětlivé působení léčiva, zlepšení plicních funkcí, zmírnění astmatických projevů a snížení spotřeby úlevových β_2 -sympatomimetik (Antoniou 2009, Long 2009).

Následující randomizovaná, placebem kontrolovaná studie byla provedena u 62 atopiků s mírným až středně těžkým perzistujícím astmatem užívajících IKS. Léčivo bylo podáváno nebulizací jednou týdně v dávkách 750, 1500 nebo 3000 µg po dobu dvanácti týdnů. Terapie altrakinceptem umožnila vysazení IKS u těchto pacientů při zachování kontroly onemocnění. Na rozdíl od kontrolní skupiny nedošlo u osob léčených altrakinceptem po odnětí kortikosteroidní terapie k poklesu FEV₁ či zhoršení astmatických symptomů (Desai a Brightling 2009, Long 2009).

Později provedená rozsáhlejší studie III. fáze však účinnost altrakinceptu v terapii astmatu nepotvrdila. Důvodem mohla být nedostatečná biologická dostupnost léčiva v této studii (Desai a Brightling 2009, Antoniou 2009, Long 2009).

4.5.2 Pascolizumab

Pascolizumab je humanizovaná proti IL-4 působící monoklonální protilátka, imunoglobulin třídy IgG1. Blokuje vazbu IL-4 na příslušný receptor (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010).

Zpočátku slibné výsledky, kterých bylo dosaženo ve studiích in vitro a u makaků druhu cynomolgus, nebyly bohužel v pozdějších studiích provedených na lidech potvrzeny (Tourangeau et al. 2011, Long 2009).

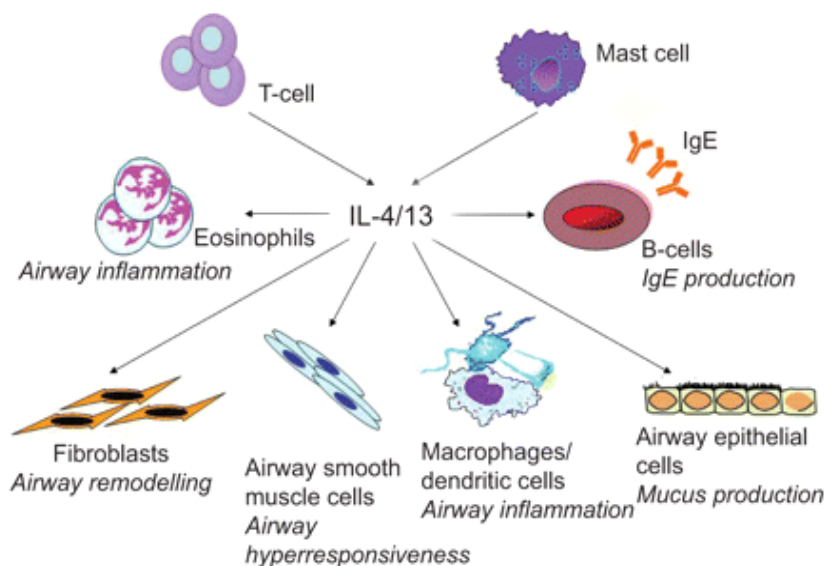
Randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná studie I. fáze s 24 pacienty s mírným až středně těžkým astmatem neprokázala klinickou účinnost studované protilátky (Tourangeau et al. 2011). Rovněž rozsáhlá studie II. fáze nepřinesla

příznivější výsledky. Terapie byla pacienty velmi dobře snášena, nebyla zaznamenána přítomnost neutralizujících protilátek ani významnějších nežádoucích účinků. Další studie nebyly provedeny (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010).

4.6 Protilátky proti IL-4 a IL-13

IL-4 a IL-13 jsou strukturně příbuzné Th2 cytokiny secernované aktivovanými T-lymfocyty, žírnými buňkami a eozinofilními leukocyty, které značně přispívají k zánětu dýchacích cest (Gruenberg a Busse 2010, Catley et al. 2011). Ovlivňují produkci IgE, akumulaci zánětlivých buněk, následnou hypersekreci hlenu a rozvoj bronchiální hyperreaktivity (viz Obr. 8) (Corren et al. 2010). U astmatických pacientů byly detekovány zvýšené hladiny těchto cytokinů (Catley et al. 2011).

Pokusy směřující k inhibici pouze IL-4 nebyly příliš úspěšné. Studie využívající současné inhibice IL-4 a IL-13 přinesly podstatně příznivější výsledky (Braunová 2010, Corren et al. 2010). Alfa řetězec receptoru pro IL-4 (IL-4R α), na který se váže rovněž IL-13, představuje jedinečný cíl pro potlačení biologických účinků obou cytokinů (Corren et al. 2010).



Obr. 8 Zapojení IL-4 a IL-13 do patogeneze astmatu

Převzato z: Oh et al. (2010).

4.6.1 Pitrakinra

Jedná se o obměněný IL-4 bránící navázání IL-4 a IL-13 na IL-4R α (Gruenberg a Busse 2010, Catley et al. 2011).

Pitrakinra byla hodnocena ve dvou studiích u pacientů s atopickým astmatem. V první studii dostávali pacienti denně subkutánně buď 25 mg pitrakinry nebo placebo. Nebyly zaznamenány měřitelné účinky podané terapie (Gruenberg a Busse 2010).

Ve druhé studii bylo pacientům dvakrát denně za současné expozice alergenů podáváno formou nebulizace 60 mg pitrakinry nebo placebo. U pacientů s terapií došlo k signifikantnímu snížení pozdní fáze alergické reakce vyvolané alergenem. Pro vyslovení závěrů ohledně efektivity tohoto způsobu terapie astmatu je však vyžadováno provedení rozsáhlejších studií (Gruenberg a Busse 2010).

4.6.2 AMG-317

AMG-317 je plně lidská monoklonální protilátka. Jako antagonist IL-4R α blokuje signální dráhy a tedy biologické účinky IL-4 a IL-13. Ve studiích provedených in vitro bylo prokázáno silné protizánětlivé působení protilátky, které bylo podnětem k realizaci studií ověřujících bezpečnost a účinnost AMG-317 u astmatických pacientů (Tourangeau et al. 2011, Corren et al. 2011).

Byla provedena randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná studie II. fáze u pacientů se středně těžkým až těžkým astmatem závislých na pravidelném užívání IKS. Po jejich náhodném rozdělení do čtyř skupin byla účastníkům studie jednou týdně podána formou subkutánní injekce dávka 75, 150 nebo 300 mg protilátky nebo placebo. Studie probíhala po dobu 12 týdnů, před jejím započítím byli pacienti čtyři týdny pozorováni (Tourangeau et al. 2011, Corren et al. 2010).

Hlavním hodnoceným parametrem byla změna Asthma Control Questionnaire (ACQ) skóre od počátku studie do jejího ukončení. Sekundárními parametry byly změna FEV₁ před užitím bronchodilatancia a po jeho podání, ranní a večerní PEF, denní a mezidenní variabilita PEF, výskyt exacerbací onemocnění, četnost užití záchranných β_2 -agonistů a hodnota AQLQ skóre u těchto pacientů. Dalšími posuzovanými parametry byla změna hladin sérového IgE a eozinofilů sputa a koncentrace oxidu dusnatého ve vydechovaném vzduchu (Corren et al. 2010).

Ve všech skupinách pacientů bylo zaznamenáno zlepšení hodnot ACQ skóre, míra zlepšení u pacientů s protilátkou a placebem však byla takřka srovnatelná. Změny dalších hodnocených parametrů se u jednotlivých pacientů taktéž výrazněji nelišily. U pacientů s vyšší dávkou protilátky byl zpozorován trend ke snížení celkového počtu exacerbací, exacerbací vyžadujících podání systémových kortikosteroidů a prodloužení doby remise onemocnění. Klinicky nejvýraznější odezva na terapii byla zaznamenána u pacientů s nejvyššími výchozími hodnotami ACQ, což naznačuje vyšší účinnost protilátky u výrazně symptomatických astmatiků.

AMG-317 byla pacienty velmi dobře tolerována. Bohužel nebyla prokázána její dostatečná klinická účinnost (Tourangeau et al. 2011, Catley et al. 2011).

4.7 Protilátky proti IL-5

IL-5 je hlavní cytokin spojovaný s diferenciací a zráním eozinofilů, jejich migrací, aktivací a přežíváním v dýchacích cestách (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010). V tekutině z BAL u astmatiků můžeme nalézt vysoké hladiny tohoto mediátoru zánětu. Z několika studií provedených u modelových zvířat vyplynulo, že blokáda IL-5 vede k potlačení eozinofilního zánětu a zmírnění hyperaktivity dýchacích cest (Tourangeau et al. 2011). Protilátky proti IL-5 rovněž omezují proces remodelace plicní tkáně (Braunová 2010).

4.7.1 Mepolizumab

Humanizovaná IgG1 monoklonální protilátka s vysokou afinitou blokuje vazbu IL-5 na alfa řetězec receptoru pro IL-5 na eozinofilech (Tourangeau et al. 2011).

První studie mepolizumabu provedená v roce 2000 nenalezla klinickou účinnost protilátky. Studie byla později kritizována za výběr subjektů, nevhodně zvolené cílové parametry a její délku (Tourangeau et al. 2011).

V roce 2003 byla realizována další studie. V průběhu osmi týdnů byly 24 pacientům s mírným astmatem podány tři infuze mepolizumabu nebo placebo. Došlo k vyloučení eozinofilů z cirkulace a snížení jejich počtu v dýchacích cestách a kostní dřeni. Počet eozinofilů v tkáních poklesl přibližně na polovinu původních hodnot. Opět nebylo dosaženo zlepšení klinických parametrů onemocnění, tj. hyperreaktivity dýchacích cest,

FEV₁ a PEF. Podáváním léčiva však došlo u pacientů s mírným alergickým astmatem k významnému snížení ukládání extracelulárních proteinů v subepiteliální bazální membráně bronchů (Tourangeau et al. 2011).

Následně byla provedena multicentrická, randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná studie zahrnující 362 pacientů s perzistujícími astmatickými příznaky navzdory terapii IKS (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010). Pacienti dostávali dávku léčiva nebo placebo intravenózní infuzí třikrát měsíčně po celkovou dobu 12 týdnů (Tourangeau et al. 2011). U obou skupin pacientů léčených mepolizumabem došlo k významnému snížení počtu eozinofilů v krvi i sputu. Nebyly však pozorovány významnější změny v žádném z hodnocených klinických parametrů, jakými byly ranní hodnoty PEF a FEV₁, četnost astmatických příznaků a exacerbací onemocnění, denní spotřeba úlevové terapie a vliv na kvalitu života nemocného (Gruenberg a Busse 2010). Pouze ve studijní skupině s vyšší dávkou mepolizumabu byl vyzorován mírný trend ke snížení počtu exacerbací onemocnění. Nežádoucí účinky terapie byly minimální a podobné u všech tří skupin pacientů (Tourangeau et al. 2011).

V následující randomizované, dvojitě zaslepené, placebem kontrolované studii dvou paralelních skupin zahrnující 61 pacientů s kortikosteroidní terapií vzdorujícím eozinofilním astmatem a opakovanými závažnými exacerbacemi onemocnění v anamnéze, dostávali pacienti mepolizumab nebo placebo vždy jednou měsíčně po dobu jednoho roku (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010). Studie operovala s domněnkou, že předchozí studie byly ukončeny předčasně, tj. neměly dostatečného trvání k správnému posouzení účinnosti léčiva (Tourangeau et al. 2011). Ve skupině léčených pacientů významně poklesla koncentrace eozinofilních leukocytů v séru a sputu. Byl zaznamenán výrazně nižší výskyt závažných exacerbací onemocnění a signifikantní zlepšení AQLQ skóre (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010, Desai a Brightling 2009). Opět nebyly prokázány výraznější změny v symptomech onemocnění, FEV₁ a hyperreaktivitě dýchacích cest (Tourangeau et al. 2011). Žádné významnější nežádoucí příhody související s podáním léčiva nebyly pozorovány (Gruenberg a Busse 2010).

Jiná dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná studie paralelních skupin zahrnovala 20 pacientů s přetrvávající eozinofilií sputa a příznaky astmatu navzdory terapii perorálními kortikosteroidy. Pacienti dostávali měsíčně intravenózní infuzí dávku

750 mg mepolizumabu nebo placebo. Studie probíhala po dobu pěti měsíců. V mepolizumabem léčené skupině pacientů došlo k významnému poklesu počtu exacerbací, snížení spotřeby perorální kortikosteroidní terapie a signifikantnímu snížení koncentrace eozinofilů v krvi a sputu, přičemž zlepšení přetrvávala ještě 8 týdnů po ukončení terapie (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010). Opět nebyly zaznamenány žádné závažné nežádoucí účinky podaného léčiva (Gruenberg a Busse 2010).

Je nezbytné provést další studie s výběrem pacientů na základě fenotypu a delší dobou trvání. Přetrvávající eozinofilie sputa navzdory pravidelné terapii IKS svědčí o pravděpodobné rezistenci těchto buněk vůči kortikosteroidní terapii. Pacienti nereagující na kortikosteroidní terapii mají tedy větší prospěch z léčiva zacíleného na snížení eozinofilie než ostatní skupiny pacientů (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010).

4.7.2 Reslizumab

Reslizumab je humanizovaná monoklonální IgG4/ κ protilátka proti IL-5. Brání vazbě v krvi cirkulujícího IL-5 na eozinofily, čímž neutralizuje jeho účinky (Castro et al. 2011).

Byla provedena randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná studie hodnotící účinky reslizumabu u pacientů s terapií nedostatečně regulovaným eozinofilním astmatem. Do studie bylo zapojeno celkem 106 astmatiků, z čehož někteří trpěli současně nosní polypózou. Do studie nebyli zařazeni pacienti užívající perorální kortikosteroidy a osoby trpící hypereosinofilním syndromem či klinicky významnou komorbiditou (Castro et al. 2011).

Pro účely randomizace byli pacienti nejprve rozděleni dle výchozích hodnot ACQ skóre, následně byli randomizováni. Jedna skupina dostala formou nitrožilní infuze studovanou protilátku v dávce 3.0 mg/kg, druhá placebo (0.9% NaCl). První dávka byla pacientům aplikována při zařazení do studie, dávky následující poté v 4., 8. a 12. týdnu studie. Pacienti byli pravidelně monitorováni. Dávky IKS se v průběhu studie neměnily. Celá studie byla ukončena po 15 týdnech, tedy 3 týdny po podání poslední infuze (Castro et al. 2011).

Hlavním hodnoceným parametrem byla změna ACQ skóre u obou studijních skupin od začátku studie do jejího ukončení. Vedlejšími výstupy studie byly výsledky spirometrie, počet eozinofilů ve sputu a krvi a procento pacientů s výskytem exacerbace onemocnění přesně definované v protokolu studie (Castro et al. 2011).

Ve skupině pacientů léčených reslizumabem bylo v porovnání se skupinou dostávající placebo zaznamenáno výrazné zlepšení hodnot ACQ skóre, FEV₁ a FVC. Pozorovaný pokles počtu eozinofilů ve sputu a krvi byl u těchto pacientů rovněž výrazně vyšší. U pacientů s protilátkou byla mimoto zaznamenána tendence ke snížení výskytu exacerbací onemocnění. Jejich celkově nízký výskyt v obou skupinách a krátké trvání studie však v tomto směru neumožnily plné zhodnocení potenciálního účinku léčiva (Castro et al. 2011, McCallister 2011).

U pacientů s nosními polypy byla zaznamenána větší odpověď na terapii. Ve skupině s reslizumabem došlo u těchto pacientů k výraznějšímu zlepšení výsledků ACQ skóre oproti pacientům bez jejich výskytu (Castro et al. 2011).

Reslizumab byl celkově dobře tolerován. Výskyt nežádoucích účinků terapie byl v obou skupinách pacientů takřka srovnatelný. V převážné většině se jednalo o mírné až středně závažné nežádoucí účinky (Castro et al. 2011).

V této multicentrické studii byl identifikován fenotyp eosinofilního astmatu nekontrolovatelného navzdory vysokým dávkám IKS. Pacienti s tímto fenotypem měli výrazný prospěch z terapie protilátkami proti IL-5 (Castro et al. 2011). Přítomnost eosinofilního zánětu je základem společného patologického mechanismu astmatu i nosní polypózy. U pacientů s eosinofilním astmatem může tudíž výskyt nosních polypů pomoci určit podskupinu pacientů s potenciálním prospěchem z terapie protilátkami proti IL-5 (McCallister 2011).

Provedená studie nebyla navržena tak, aby speciálně hodnotila vztah mezi odpovědí astmatika na terapii protilátkou a přítomností nosních polypů u tohoto pacienta. Její součástí taktéž nebyla standardizovaná metoda pro potvrzení diagnózy nosních polypů a jejich charakterizaci. Z tohoto důvodu je nezbytná replikace výsledků této studie ve studii větší, kladoucí důraz na korelaci klinických účinků protilátky s lepším pochopením základních buněčných mechanismů (Castro et al. 2011, McCallister 2011).

4.7.3 Medi-563

Medi-563 je humanizovaná rekombinantní monoklonální protilátka třídy IgG1 vázající se na α řetězec receptoru pro IL-5. Důsledkem této vazby je útlum proliferace na IL-5 závislých buněčných linií (Tourangeau et al. 2011). Protilátka má vystupňované cytotoxické působení. Po jejím podání dochází k depleci eozinofilů krve, kostní dřeně, tkání a tekutiny z BAL, částečně také bazofilů a žírných buněk (Catley et al. 2011).

V nedávné době byla provedena multicentrická, otevřená studie hodnotící účinnost Medi-563 u dospělých pacientů s mírným atopickým astmatem. Protilátka byla jednotlivým skupinám pacientů podána formou intravenózní injekce v dávkách 0.0003-3 mg/kg. Došlo k snížení hladiny eozinofilů v krvi, které bylo dávkově závislé (Tourangeau et al. 2011). Po dávce 0.03 mg/kg poklesla jejich hladina pod detekční limit (Catley et al. 2011). U pacientů s vyššími dávkami protilátky snížení poté přetrvávalo po dobu 8-12 týdnů (Tourangeau et al. 2011, Catley et al. 2011).

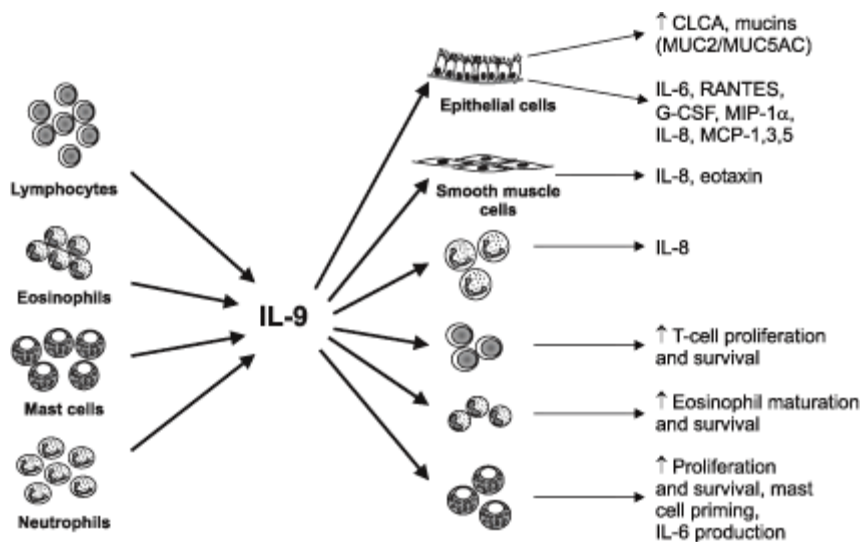
Z celkového počtu hlášených nežádoucích účinků byla většina hodnocena jako mírné, zbytek představovaly středně závažné nežádoucí účinky. Byl zaznamenán pokles počtu leukocytů a u přibližně čtvrtiny pacientů zvýšená hladina kreatin-fosfokinázy (CPK) v krvi. Hladina C-reaktivního proteinu (CRP) vzrostla během 24 hodin po podání protilátky na více než pětinasobek, na konci studie však byla jeho koncentrace opět v normě (Tourangeau et al. 2011).

Bezpečnost Medi-563 je odborníky hodnocena jako přijatelná. Je plánováno provedení dalších studií k objasnění závislosti mezi snížením hladiny eozinofilů v krvi a zlepšením zdravotního stavu pacienta. Předmětem dalších studií bude rovněž vliv protilátky na koncentraci eozinofilů ve tkáních (Tourangeau et al. 2011). Výsledky těchto studií by měly definitivně objasnit úlohu eozinofilů v patogenezi astmatu a umožnit zhodnocení příspěvku eozinofilů plicní tkáni k astmatickým příznakům (Catley et al. 2011).

4.8 Protilátky proti IL-9

IL-9 je cytokinem produkovaným podmožinou pomocných T-lymfocytů označovaných jako buňky Th9. Údaje z provedených preklinických hodnocení svědčí o jeho zapojení do patogeneze astmatu (Catley et al. 2011). V několika studiích provedených na myších modelech zánětu dýchacích cest byl prokázán stimulační vliv

IL-9 na tvorbu bronchiálního hlenu, diferenciaci žírných buněk a jejich hromadění v dýchacích cestách (viz Obr. 9) (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010). Přesný mechanismus děje nebyl dosud plně objasněn. Zřejmě je spojen s aktivací žírných a epiteliálních buněk zprostředkovanou IL-13 (Catley et al. 2011, Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010)



Obr. 9 Biologické účinky interleukinu 9

Převzato z: McNamara a Smyth (2005).

Desetidenní intratracheální podávání IL-9 způsobilo u myši nárůst počtu eozinofilů v tekutině z BAL a zvýšení hladiny sérového IgE. Mimoto došlo k up-regulaci α řetězce receptoru pro IL-5 naznačující úlohu IL-9 v dějích zprostředkovaných IL-5 (Pullerits 2002).

Průkaz zvýšené exprese tohoto zánětlivého cytokinu a jeho receptoru v dýchacích cestách astmatiků byl impulsem k vývoji monoklonálních protilátek proti IL-9 (Pullerits 2002).

4.8.1 Medi-528

Proti IL-9 působící humanizovaná IgG1 monoklonální protilátka byla hodnocena v několika studiích využívajících myši modely astmatu. Po její aplikaci došlo

u laboratorních myší ke snížení hyperreaktivity průdušek a zmírnění v dýchacích cestách probíhajícího zánětu (Gruenberg a Busse 2010, Holgate a Polosa 2008).

Dosud byly provedeny pouze dvě studie první fáze u zdravých dobrovolníků. Žádné závažné nežádoucí účinky terapie nebyly pozorovány. Výsledky randomizovaných studií druhé fáze u pacientů s nekontrolovaným středně těžkým až těžkým astmatem nejsou v současné době k dispozici (Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010, Holgate a Polosa 2008, Long 2009).

4.9 Protilátky proti IL-13

IL-13 je pleiotropní cytokin produkovaný Th2 buňkami přispívající k mnoha klíčovým rysům astmatu. Jeho produkce je inhibována inhalačními, popřípadě perorálně podávanými glukokortikoidy, nicméně u některých pacientů zůstává jeho hladina ve sputu navzdory kortikosteroidní terapii zvýšena. Byla proto vyslovena hypotéza, že IL-13 může přispívat ke vzniku rezistence na kortikosteroidy (Corren et al. 2011).

IL-13 stimuluje bronchiální epiteliální buňky k sekreci periostinu, který působí apokrinně na funkci epiteliálních buněk a parakrinně na buňky fibroblastů. Tímto způsobem může přispívat k procesu remodelace dýchacích cest (Corren et al. 2011).

V poslední době bylo zahájeno velké množství klinických studií s humanizovanými monoklonálními protilátkami proti IL-13. Většina těchto studií stále probíhá nebo jejich výsledky nebyly dosud publikovány (Catley et al. 2011).

4.9.1 Lebrikizumab

Lebrikizumab je humanizovaná IgG4 monoklonální protilátka, která se specificky váže na IL-13 a inhibuje jeho funkce (Corren et al. 2011).

Byla provedena randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná, multicentrická studie s paralelními skupinami. Do studie bylo zařazeno celkem 219 dospělých pacientů s IKS nedostatečně kontrolovaným astmatem. Přibližně 80 % pacientů užívalo navíc LABA. Hlavním cílem studie bylo stanovení relativní změny FEV₁ od počátku studie do 12. týdne. Dalšími hodnocenými parametry byla mj. míra exacerbací a těžkých exacerbací onemocnění, ranní PEF před užitím bronchodilatancia, míra astmatických projevů vyjádřená pomocí deníku denní kontroly astmatu (ACDD)

a potřeba užití záchranné terapie. Post hoc byly hodnoceny některé další parametry (Corren et al. 2011).

Cílovou skupinou pacientů pro tuto studii byli astmatici, u kterých docházelo po inhalaci SABA k alespoň 12% zvýšení FEV₁. Dalším kritériem pro zařazení do studie bylo nejméně šestiměsíční užívání IKS (Corren et al. 2011).

V závislosti na výchozích hodnotách IgE, počtu eozinofilů v krvi a hladině sérového periostinu byly předem specifikovány jednotlivé podskupiny astmatiků. Následně byli pacienti náhodně rozděleni na dvě stejně početné skupiny. Jednou měsíčně jim byla subkutánní injekcí podána dávka 250 mg protilátky nebo placebo. Studie probíhala po dobu šesti měsíců. Dávky IKS a dalších léčiv užívaných pacienty ke kontrole onemocnění se v průběhu studie neměnily. Po dobu studie byli pacienti pravidelně monitorováni. Účinnost terapie byla hodnocena spirometrií, měřením PEF a frakce vydechaného oxidu dusnatého (FE_{NO}) a na základě výsledků dosažených v ACDD, který pacienti vyplňovali dvakrát denně (Corren et al. 2011).

Ve 12. týdnu studie bylo zaznamenáno výraznější zvýšení FEV₁ ve skupině astmatiků léčených lebrikizumabem, přičemž byla pozorována významná interakce mezi terapií lebrikizumabem a základní hladinou periostinu v séru pacientů. Relativní změna FEV₁ byla patrná již po týdnu terapie, inhibice aktivity IL-13 má tedy poměrně rychlý účinek. Tato změna poté přetrvávala po celou dobu studie. Terapie neměla významný vliv na frekvenci výskytu exacerbací, četnost astmatických projevů a spotřebu záchranných β₂-sympatomimetik. Většího poklesu těžkých exacerbací dosáhli pacienti ve skupině s lebrikizumabem, mající vysoké hladiny sérového IgE, počty eozinofilů v krvi a vysoké hodnoty FE_{NO} (Corren et al.2011).

Celkový výskyt nežádoucích účinků terapie byl podobný v obou skupinách pacientů. Léčba byla účinnější u pacientů s vysokými hladinami sérového periostinu. Tento marker by tedy mohl potenciálně sloužit k identifikaci pacientů majících zvýšenou odpověď na terapii lebrikizumabem. Výsledky této studie dále poukazují na jistou heterogenitu v patogenezi astmatu u pacientů se středně těžkým až těžkým onemocněním, stejně jako potenciální význam biomarkerů při identifikaci pacientů zvýšeně reagujících na konkrétní terapii. K potvrzení těchto zjištění je však nezbytné provedení rozsáhlejších studií (Corren et al. 2011).

4.9.2 Anrukizumab (IMA-638)

Anrukizumab je humanizovaná IgG1 monoklonální protilátka neutralizující účinky IL-13 (Mullane 2011).

V dvojitě zaslepené, placebem kontrolované studii provedené u pacientů s mírným astmatem došlo po subkutánním podání anrukizumabu k podstatnému zmírnění průběhu časně i pozdní alergické reakce vyvolané expozicí alergenu. Významnější ovlivnění metacholinem indukované hyperreaktivity dýchacích cest oproti tomu zaregistrováno nebylo (Catley et al. 2011, Desai a Brightling 2009). Protilátka byla pacienty dobře tolerována, nebyly zaznamenány závažné nežádoucí účinky podané terapie (Catley et al. 2011).

Větší studie II. fáze u pacientů s perzistujícím onemocněním bohužel neprokázala dostatečnou klinickou účinnost studované protilátky. Z tohoto důvodu byl další vývoj anrukizumabu zastaven (Catley et al. 2011).

4.9.3 Tralokinumab (CAT-354)

Tralokinumab je lidská monoklonální protilátka proti IL-13. V preklinických studiích bylo po jejím podání laboratorním myším pozorováno snížení bronchiální hyperreaktivity, došlo k poklesu produkce hlenu a eozinofilie dýchacích cest (Antoniu 2009).

V nedávné době ukončená randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná studie I. fáze provedená u pacientů se středně těžkým astmatem prokázala přijatelný bezpečnostní profil protilátky (Catley et al. 2011). V současné době probíhají další klinická hodnocení I. a II. fáze (Catley et al. 2011, Desai a Brightling 2009).

4.9.4 IMA-026

IMA-026 je další z humanizovaných monoklonálních protilátek působících proti IL-13. V nedávné době dokončená klinická studie II. fáze provedená u pacientů s astmatem však neprokázala její významnější účinek na alergickou reakci akutní a pozdní fáze vyvolanou expozicí alergenu, eozinofilii sputa a celkovou hladinou IgE (Catley et al. 2011).

4.10 Protilátky proti CD25 a IL-2

Probíhající zánět dýchacích cest koreluje s expresí aktivovaných CD25+ T-lymfocytů, koncentrací bronchiálního IL-2 a rozpustného receptoru pro IL-2 (Gruenberg a Busse 2010, Braunová 2010).

IL-2 je polypeptid produkovaný CD4+ T-lymfocyty. Podílí se na aktivaci těchto buněk mající po stimulaci alergenem za následek zvýšení sekrece IgE, zesílení produkce bronchiálního hlenu a prostupu eozinofilů do dýchacích cest. Z tohoto důvodu může být IL-2 vhodným terapeutickým cílem u pacientů s astmatem (Antoniou 2010).

4.10.1 Daclizumab

Daclizumab je humanizovaná IgG1 rekombinantní monoklonální protilátka vázající se specificky na α podjednotku (CD25) vysoce afinitního receptoru pro IL-2 (Tourangeau et al. 2011, Busse et al. 2008). Studie provedené in vitro ukazují, že daclizumab brání vazbě IL-2 na svůj receptor čímž inhibuje na IL-2 závislou proliferaci T-lymfocytů, snižuje sekreci Th1 a Th2 cytokinů aktivovanými lymfocyty a produkci protilátek v B-buňkách (Tourangeau et al. 2011).

Byla provedena randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná studie paralelních skupin zahrnující 115 pacientů se středně těžkým astmatem nedostatečně kontrolovaným IKS. Před vlastním započítím studie byli všichni její účastníci za účelem eliminace zkreslení způsobeného různými IKS převedeni na ekvivalentní dávky triamcinolon acetátu, následně byla provedena randomizace. V průběhu prvních 12 týdnů studie dostávali pacienti ke stabilní dávce IKS každé dva týdny intravenózní infuzí daclizumab v dávce 2 mg/kg a následně 1 mg/kg nebo placebo. Ve 12. až 20. týdnu studie byla každé dva týdny o 25 % snížena dávka IKS, dávka protilátky se nezměnila.

Primárním hodnoceným parametrem byla změna FEV₁ od počátku studie do 12. týdne. Vedlejšími výstupy byly četnost exacerbací onemocnění, doba do nástupu exacerbace, ranní a večerní PEF, výskyt příznaků onemocnění a nutnost užití SABA hodnocené na základě deníkových záznamů jednotlivých pacientů (Busse et al. 2008).

V prvních 12 týdnech studie bylo u pacientů léčených daclizumabem zaznamenáno zlepšení hodnot FEV₁ a večerní PEF, zmírnění denních projevů onemocnění, snížení

spotřeby SABA a prodloužení doby do nástupu těžké exacerbace onemocnění. Změna hodnot ranní PEF byla v obou skupinách pacientů srovnatelná. S postupným snižováním dávek IKS bylo pozorováno zhoršování plicních parametrů a příznaků onemocnění, nebyly však zaznamenány významnější rozdíly mezi pacienty s protilátkou a placebem (Antoniou 2010, Busse et al. 2008, Catley et al. 2011).

U několika účastníků studie léčených daclizumabem se vyskytly závažné nežádoucí účinky zahrnující anafylaktickou reakci, meningitidu vyvolanou virem varicella zoster a nádorové onemocnění prsu. Celková četnost a závažnost nežádoucích účinků však byla srovnatelná se skupinou pacientů dostávajících placebo (Gruengberg a Busse 2010, Caltey et al. 2011).

Navzdory slibným výsledkům studií mohou obavy ze závažných nežádoucích účinků zabránit dalšímu vývoji daclizumabu pro terapii astmatu.

4.11 Protilátky proti CD4

CD4 je bílkovinná molekula exprimovaná buněčnou membránou zralých T-lymfocytů, vyskytuje se však i u jiných typů buněk. Chová se jako adhezní molekula, stabilizuje interakci antigenu s receptorem na povrchu T-buňky, čímž usnadňuje její aktivaci (Kon et al. 2001). CD4+ T-lymfocyty jsou důležitým zdrojem prozánětlivých cytokinů (Braunová 2010, Gruenberg a Busse 2010).

4.11.1 Keliximab

Keliximab je chimérická makak/lidská monoklonální IgG1 protilátka namířená proti lidským buňkám CD4 (Catley et al. 2011, Tourangeau et al. 2011). Po jeho aplikaci dochází k přechodnému snížení jejich počtu a modulaci exprese CD4+ receptorů (Catley et al. 2011, Braunová 2010). Blokuje aktivaci makrofágů a B-lymfocytů (Tourangeau et al. 2011).

Důkazy o zapojení aktivovaných CD4+ T-lymfocytů do patogeneze astmatu naznačují, že snížení aktivity těchto buněk keliximabem může mít příznivé účinky v terapii astmatu (Catley et al. 2011).

V randomizované, dvojitě zaslepené, placebem kontrolované studii byl 22 těžkým astmatikům závislým na IKS jednorázovou infuzí podán keliximab v dávce 0,5, 1,5

nebo 3.0 mg/kg nebo placebo (Catley et al. 2011, Tourangeau et al. 2011, Gruenberg a Busse 2010, Kon et al. 2001). U pacientů s nejvyšší dávkou protilátky bylo pozorováno zvýšení ranní a večerní PEF, ke zlepšení FEV₁ u těchto pacientů nedošlo (Tourangeau et al. 2011, Kon et al. 2001).

Z důvodu vedlejších účinků terapie plynoucích ze snížení počtu buněk CD4+ byly probíhající studie ukončeny (Tourangeau et al. 2011). Další dosud provedeny nebyly (Gruenberg a Busse 2010).

4.12 Ovlivnění IL-17

IL-17 a jeho úloha v patogenezi astmatu se v současné době těší značnému zájmu odborníků. Jedná se o cytokin produkovaný buňkami Th17, jehož cílení může mít význam zejména u pacientů s těžkým, kortikosteroidy nedostatečně kontrolovaným astmatem. U těchto pacientů byla kromě eozinofilního mechanismu řízeného Th2 lymfocyty prokázána také neutrofilní složka zánětu dýchacích cest (Catley et al. 2011, Park a Lee 2010). Ve vzorcích krve, sputa, tekutiny z BAL a plicní tkáň odebraných pacientům s astmatem byly detekovány zvýšené hladiny IL-17 mRNA a proteinů. Provedené studie dále prokázaly vzájemný vztah mezi vystupňovanou expresí IL-17 u astmatiků, přítomností neutrofilního zánětu a hyperreaktivity dýchacích cest a stupněm závažnosti onemocnění (Catley et al. 2011).

V preklinických hodnoceních na myších modelech alergického onemocnění bylo zjištěno, že nejen inhibitory IL-17, nýbrž i různé regulátory jeho exprese, snižují expozicí antigenu vyvolaný zánět v dýchacích cestách, bronchiální hyperreaktivitu a hladinu Th2 cytokinů (Catley et al. 2011, Park a Lee 2010). U myši vystavených působení monoklonální protilátky proti IL-17 (stejně jak u IL-17 a IL-17R deficitních myši) bylo zaznamenáno potlačení rysů ovalbuminem indukované odpovědi dýchacích cest (Catley et al. 2011).

V současné době se rozbíhají klinické studie II. fáze hodnotící účinky blokady IL-17 u pacientů s nedostatečně kontrolovaným astmatem. Jejich výsledky poslouží jako podklady pro další výzkum (Catley et al. 2011).

4.12.1 AMG 827

AMG 827 je monoklonální protilátkou vázající se na receptor pro IL-17. Před nedávnem bylo dokončeno klinické hodnocení II. fáze u 300 pacientů s IKS nedostatečně kontrolovaným astmatem. Jeho výsledky nebyly dosud publikovány (Mullane 2011).

4.13 Inhibitory chemokinů

Úloha chemokinů v patogenezi astmatu

Chemokiny jsou skupinou přibližně 50 proteinů o nízké molekulové hmotnosti zprostředkovávajících dopravu buněk do jednotlivých tělních kompartmentů, oblastí tkáňových poranění či míst probíhajícího zánětu. Mnohé z těchto chemotaktických cytokinů hrají úlohu v patogenezi astmatu. Blokáda směrovaného pohybu zánětlivých buněk do dýchacích cest by mohla mít značný přínos v terapii astmatu (Catley et al. 2011, Mullane 2011).

Chemokinové receptory často vážou velké množství různých chemokinů, na druhou stranu některé chemokiny reagují s více typy buněčných receptorů. Tato skutečnost činí vývoj inhibitorů tohoto systému velmi náročným (Catley et al. 2011).

4.13.1 CCR3

CCR3 je exprimován převážně na eozinofilech, v menší míře poté na Th2 lymfocytech a žírných buňkách plicní tkáně (Mullane 2011). V dýchacích cestách astmatiků byl zaznamenán zvýšený výskyt tohoto chemokinového receptoru a jeho ligandů, eotaxinu, eotaxinu-2 a dalších chemotaktických proteinů. Provedené studie naznačují korelaci mezi úrovní jeho exprese a stupněm bronchiální hyperreakivity. CCR3 a jeho ligandy pravděpodobně řídí vstup eozinofilů do dýchacích cest, čímž významně zasahují do patogeneze astmatu (Catley et al. 2011).

4.13.1.1 CAT-213

CAT-213 je monoklonální IgG4 protilátka neutralizující lidský eotaxin, ligand receptoru CCR3.

Data z preklinických studií naznačují její účinek na pokles chemotaxe eozinofilů a degranulace žírných buněk. Klinická studie I. fáze potvrdila bezpečnost CAT-213

a dobrou toleranci u většiny pacientů. V následující studii II. fáze byl pozorován významný pokles počtu žírných buněk a snížení překrvení nosní sliznice. Vliv protilátky na hladinu slizničních eozinofilů nebyl tak výrazný (Catley et al. 2011).

Zdá se, že vývoj této protilátky pro terapii astmatu byl v současné době zastaven. Uvažuje se o jejím využití v jiných indikacích (Catley et al. 2011).

4.13.1.2 GW766944

GW766944 je kompetitivním antagonistou receptoru CCR3 účinným po perorálním podání. V současné době probíhá klinické hodnocení II. fáze u pacientů s lehkým až středně těžkým astmatem a výraznou eozinofilií sputa. Jeho výsledky dosud nebyly publikovány (Mullane 2011).

4.13.2 CCR4

Chemokinový receptor exprimovaný na membráně Th2 lymfocytů má klíčovou úlohu v alergenem navozené migraci Th2 buněk do dýchacích cest (Catley et al. 2011).

4.13.2.1 Mogamulizumab (AMG 761)

Mogamulizumab je humanizovaná monoklonální IgG1 protilátka proti receptoru CCR4. Zaměřuje se na T-lymfocyty exprimující daný receptor a způsobuje jejich depleci (Mullane 2011, Catley et al. 2011).

4.14 IL-25

IL-25 označovaný také jako IL-17E podněcuje Th2 lymfocyty zprostředkovanou zánětlivou reakci, čímž se liší od ostatních členů rodiny IL-17. Studie využívající zvířecích modelů astmatu prokázaly účinek protilátek neutralizujících IL-25 na snížení produkce IL-5 a IL-13, pokles hladiny sérového IgE a zmírnění projevů hyperreakivity dýchacích cest.

Hlavními zdroji tohoto cytokinu jsou eozinofily a bazofily. IL-25 je potenciálním terapeutickým cílem v léčbě astmatu, výsledky klinických studií u lidí však nejsou v současné době k dispozici (Long 2009).

4.15 Užití anti-alergických cytokinů v terapii astmatu

4.15.1 IL-12

IL-12 podporuje diferenciaci prekurzorových T-lymfocytů v buňky Th1. Z důvodu prokazatelného zapojení Th2 cytokinů do patogeneze astmatu lze při potlačení produkce Th2 lymfocytů ve prospěch buněk Th1 očekávat zlepšení klinických parametrů onemocnění (Pullerits 2002, Holgate a Polosa 2008).

Podání injekce rekombinantního lidského IL-12 vedlo u pacientů s mírným astmatem ke snížení počtu eozinofilů v krvi. K poklesu eozinofilie sputa či snížení projevů alergické reakce pozdní fáze a hyperreaktivity dýchacích cest u těchto pacientů nedošlo. Z nežádoucích účinků je třeba zmínit změny jaterních funkcí a poruchy srdečního rytmu (Desai a Brightling 2009, Long 2009, Holgate a Polosa 2008).

4.15.2 IL-10

IL-10 je hlavním inhibičním cytokinem produkovaným regulačními T-lymfocyty (T_{Reg}). Potlačuje expresi řady prozánětlivých cytokinů, chemokinů a enzymů (Holgate a Polosa, 2008). Glukokortikoidní terapie a rovněž specifická imunoterapie jsou spojeny s up-regulací jeho exprese, což potvrzuje protizánětlivé působení IL-10 u astmatu (Pullerits 2002).

V randomizované, kontrolované studii se zdravými dobrovolníky byly hodnoceny účinky nitrožilně podaného IL-10. Po jeho aplikaci došlo ke snížení počtu v krvi cirkulujících CD4⁺ a CD8⁺ T-lymfocytů, které bylo provázeno poklesem produkce prozánětlivých cytokinů TNF- α a IL-1 β (Holgate a Polosa 2008, Pullerits 2002, Desai a Brightling 2009).

Účinnost lidského rekombinantního IL-10 je v současné době testována u několika chronických zánětlivých onemocnění. Jeho působení u astmatických stavů však dosud studováno nebylo (Holgate a Polosa 2008, Desai a Brightling 2009, Pullerits 2002).

DISKUSE

Biologická léčba

Nástup biologické léčby je mnohými odborníky považován za revoluci ve farmakoterapii. Biologika se s úspěchem používají v řadě indikací, největší uplatnění zatím našla v onkologii. V blízké době se předpokládá jejich rozšíření v terapii dalších onemocnění. V klinické praxi jsou testovány účinky několika desítek různých látek, řada dalších látek a jejich potenciálních cílů je zkoumána v preklinických experimentech.

Protože se jedná o relativně novou skupinu léčiv, dostupné informace o nich jsou omezené. Nemocné je proto třeba pečlivě monitorovat, pravidelně vyhodnocovat bezpečnost každého léčiva a v terapii postupovat obezřetně. Kromě toho většina zdravotníků dosud nemá s těmito látkami potřebné zkušenosti. Z tohoto důvodu je dnes léčba biologiky soustředěna do speciálních center sdružujících odborníky na tuto oblast, kteří sledují nejnovější informace o terapii, nežádoucích účincích a vlivu na prognózu nemoci a celkový zdravotní stav pacienta. Mimo to jsou schopni určit, zda je podle současných kritérií léčba pro daného pacienta vůbec vhodná. Tato centra se významně podílí na vývoji nových léčiv a poskytují cenné informace ohledně účinku i bezpečnosti terapie.

Nezanedbatelným aspektem léčby pomocí biologik je jejich vysoká cena vyplývající z astronomických nákladů na výzkum a náročného způsobu výroby. Také z finančních důvodů jsou dnes tato léčiva vyhrazena jen vybraným pacientům, především těm s těžšími formami onemocnění nereagujícími na běžnou léčbu. Většina nemocných, jejichž zdravotní stav je pod kontrolou pomocí standardní terapie, tak tuto novou léčbu nedostane, přestože je pravděpodobné, že u mnohých by mohla vést k zlepšení zdravotního stavu.

Monoklonální protilátky

Monoklonální protilátky představují velmi perspektivní skupinu biologických léčiv a zatím mají mezi nimi dominantní postavení. Jejich hlavní výhoda spočívá ve vysoké specifitě a možnosti cíleně zasáhnout zvolenou strukturou. Druhou výhodou je paradoxně relativní mnohostrannost. U klasických léčiv platí, že jedno léčivo má obvykle jednu anebo několik málo obdobných indikací. Monoklonální protilátky

zasahují specificky jednu cílovou strukturu, která se však může podílet na patogenezi řady různých onemocnění. Jinými slovy, často je jedna monoklonální protilátka zkoušena i ve velmi odlišných indikacích a většinou zatím není jasně stanoveno, které použití je nejvýhodnější.

Navzdory velkým nadějím, které monoklonální protilátky vzbudily v době svého objevu, při použití v terapii stále narážíme na četná úskalí a u řady již v praxi používaných látek nebyl dosud jednoznačně stanoven poměr přínosu a rizika v dané indikaci. Ačkoliv mají monoklonální protilátky vysokou specifitu k cílovým strukturám, jejich podání často vyvolává vedlejší nebo nežádoucí účinky, které obvykle souvisejí se zásahem do imunitního systému. V mnoha případech zjištěné změny dosud nedokážeme zcela interpretovat a odvodit důsledky pro pacienta a další průběh onemocnění.

Biologika v léčbě astmatu

Biologická léčba zatím neumožňuje efektivní kontrolu astmatu. V současné době je v této indikaci celosvětově registrován pouze omalizumab, monoklonální protilátka proti IgE. Dalšími potenciálními cíli terapeutického zásahu mohou být do budoucna například cytokiny, imunoglobuliny a signální molekuly, které se podílejí na patogenezi onemocnění. Nelze ani vyloučit, že optimální cíl zásahu do patofyziologie onemocnění dosud nebyl nalezen.

Dnes je již jasné, že bronchiální astma nadále není možné považovat za jednu chorobnou jednotku, která má vždy shodný průběh a kde stejná léčba vyléčí všechny pacienty. Naopak se ukazuje, že přestože nemocní astmatem vykazují podobné typické příznaky (záchvatovitá dušnost, hyperreaktivita dýchacích cest), biochemicky a imunologicky se mohou mezi sebou značně lišit. S touto odlišností velmi pravděpodobně souvisí i rozdílná odpověď na terapii a může být jedním z hlavních důvodů často značně rozporuplných výsledků klinických studií účinnosti biologických léčiv.

V ideálním případě by léčba astmatu měla být určena individuálně pro každého pacienta, což vyžaduje důkladné poznání onemocnění, zejména imunopatologických změn a určení vlivu genetických predispozic. Fenotypizace astmatiků bude do budoucna pravděpodobně hrát obrovskou roli. Bude nezbytné vymezit jednotlivé fenotypy a určit jejich vliv na průběh nemoci a odpověď nemocného na konkrétní terapii. S tím souvisí

nutnost nalezení klinických a molekulárních markerů, které umožní snadné rozpoznání různých typů astmatu a zhodnocení průběhu léčby. Budeme-li schopni onemocnění takto vyhodnotit, umožní nám to sestavit léčebný program na míru konkrétnímu pacientovi včetně biologické léčby.

ZÁVĚR

- Biologická léčiva včetně monoklonálních protilátek jsou novou skupinou léčiv stále více se uplatňujících v mnoha různých indikacích
- Informace o jejich účincích a možnostech použití jsou zatím neúplné, u řady látek stále ještě probíhají klinické studie
- V terapii astmatu se dosud prosadila pouze protilátka proti IgE omalizumab, další látky procházejí testováním
- Pro vývoj nových antiastmatik je nezbytné lépe porozumět podstatě onemocnění a určit efektivní cílové struktury pro nová léčiva
- Astma neprobíhá u všech pacientů stejně. Ideální by byla terapie na míru konkrétnímu pacientovi. Je třeba nalézt vhodné markery, které umožní snadno a rychle charakterizovat probíhající onemocnění, vybrat nejvhodnější léčbu a následně vyhodnotit její průběh.

POUŽITÁ LITERATURA

Monografické publikace

1. Lincová D, Farghali H et al. Základní a aplikovaná farmakologie. 2. vyd. Praha: Galén, 2007:672.
2. Marek J et al. Farmakoterapie vnitřních nemocí. 4. vyd. Praha: Grada Publishing, 2010:777.

Odborná periodika

3. Antoniu SA. Cytokine antagonists for the treatment of asthma. *Biodrugs* [Internet]. 2009 [cited 2012 Mar 6];23(4):241-51. Available from: <http://web.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=8&hid=14&sid=ce38e7fd-ea97-4c48-a3c0-2d0c2b805957%40sessionmgr14>.
4. Antoniu SA. Daclizumab: a potential asthma therapy? *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov* [Internet]. 2010 Nov [cited 2012 Mar 6];4(3):214-21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov.ezproxy.is.cuni.cz/pubmed?term=Daclizumab%3A%20a%20potential%20asthma%20therapy%3F>.
5. Bartůňková J, Sobotková M. Monoklonální protilátky a další biologická léčiva užívaná v imunosupresivní léčbě. *Remedia* [Internet]. 2008 Sep [cited 2012 Mar 18];5(18):356-64. Available from: <http://www.remédia.cz/Archiv-rocniku/Rocnik-2008/5-2008/Monoklonalni-protilatky-a-dalsi-biologicka-leciva-uzivana-v-imunosupresivni-lecbe/e-9q-a5-jQ.magarticle.aspx>.
6. Braunová J. Biologická léčba astmatu - historie a budoucnost nových léčebných možností. *Remedia* [Internet]. 2010 Mar [cited 2012 Mar 6];1(20):69-73. Available from: <http://www.remédia.cz/Clanky/Prehledy-nazory-diskuse/Biologicka-lecba-astmatu-historie-a-budoucnost-novych-lecebnych-moznosti/6-F-Qq.magarticle.aspx>.
7. Brightling Ch, Berry M, Amrani Y. Targeting TNF- α : a novel therapeutic approach for asthma. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2008 Jan [cited 2012 Mar 6];121(1):5-10. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091674907019999>.

8. Busse WW et al. Daclizumab improves asthma control in patients with moderate to severe persistent asthma: a randomized, controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2008 Nov 15 [cited 2012 Mar 6];178(10):1002-8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov.ezproxy.is.cuni.cz/pubmed?term=Daclizumab%20improves%20asthma%20control%20in%20patients%20with%20moderate%20to%20severe%20persistent%20asthma>.
9. Castro M et al. Reslizumab for poorly controlled, eosinophilic asthma: a randomized, placebo-controlled study. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2011 [cited 2012 Mar 6];184(10):1125-32. Available from: <http://search.proquest.com/docview/906522468/fulltextPDF?accountid=17239>.
10. Catley MC, Coote J, Bari M, Tomlinson KL. Monoclonal antibodies for the treatment of asthma. *Pharmacol Ther* [Internet]. 2011 Dec [cited 2012 Mar 12];132(3):333-51. Available from: http://pdn.sciencedirect.com/science?_ob=MiamiImageURL&_cid=271223&_user=640852&_pii=S0163725811001835&_check=y&_origin=article&_zone=toolbar&_coverDate=31-Dec-2011&view=c&originContentFamily=serial&wchp=dGLbVIB-zSkWb&md5=5c9efcb3abd1a2f059db8ce9a280d75d/1-s2.0-S0163725811001835-main.pdf.
11. Corren J et al. A randomized, controlled, phase 2 study of AMG 317, an IL-4R α antagonist, in patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2010 [cited 2012 Mar 6];181(8):788-96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov.ezproxy.is.cuni.cz/pubmed?term=A%20randomized%20controlled%20phase%20study%20of%20AMG%20317%20a%20n%20IL-4R%EF%81%A1%20antagonist%20in%20patients%20with%20asthma>.
12. Corren J et al. Lebrikizumab treatment in adults with asthma. *N Engl J Med* [Internet]. 2011 [cited 2011 Mar 17];365(12):1088-98. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov.ezproxy.is.cuni.cz/pubmed/21812663>.
13. Desai D, Brightling C. Cytokine and anti-cytokine therapy in asthma: ready for the clinic? *Clin Exp Immunol* [Internet]. c2009 [cited 2012 Mar 6];158(1):10-19. Available from:

- <http://web.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=9&hid=14&sid=ce38e7fd-ea97-4c48-a3c0-2d0c2b805957%40sessionmgr14>.
14. Gruenberg D, Busse W. Biologic therapies for asthma. *Curr Opin Pulm Med* [Internet]. 2010 Jan [cited 2012 Mar 22];16(1):19-24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov.ezproxy.is.cuni.cz/pubmed?term=19797955>.
 15. Holgate ST, Polosa R. Treatment strategies for allergy and asthma. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2008 Mar [cited 2012 Mar 6];8(3):218-30. Available from: <http://web.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?sid=ce38e7fd-ea97-4c48-a3c0-2d0c2b805957%40sessionmgr14&vid=13&hid=14>.
 16. Kon OM et al. The effects of an anti-CD4 monoclonal antibody, keliximab, on peripheral blood CD4+ T-cells in asthma. *Eur Respir J* [Internet]. 2001 Jul [cited 2012 Mar 6];18(1):45-52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov.ezproxy.is.cuni.cz/pubmed?term=The%20effects%20of%20an%20anti-CD4%20monoclonal%20antibody%2C%20keliximab%2C%20on%20peripheral%20blood%20CD4%2B%20T-cells%20in%20asthma>.
 17. Lee SJ, Chinen J, Kavanaugh A. Immunomodulator therapy: monoclonal antibodies, fusion proteins, cytokines, and immunoglobulins. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2010 Feb [cited 2012 Mar 6];125(2):314-23. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091674909012548>.
 18. Long AA. Immunomodulators in the treatment of asthma. *Allergy Asthma Proc* [Internet]. 2009 Mar [cited 2012 Mar 12];30(2):109-119. Available from: <http://search.proquest.com/docview/231743745/1356CCB576E63A3E641/1?accountid=17239>.
 19. Matucci A, Vultaggio A, Ridolo E, Maggi E, Canonica GW, Rossi O. Asthma: developments in targeted therapy. *Expert Rev Clin Immunol* [Internet]. 2012 Jan [cited 2012 Mar 6];8(1):13-5. Available from: <http://search.proquest.com/docview/909770170/fulltextPDF?accountid=17239>.
 20. Matera MG, Calzetta L, Cazzola M. TNF- α inhibitors in asthma and COPD: we must not throw the baby out with the bath water. *Pulm Pharmacol Ther* [Internet].

- 2010 Apr [cited 2012 Mar 6];23(2):121-8. Available from: http://pdn.sciencedirect.com/science?_ob=MiamiImageURL&_cid=272345&_user=640852&_pii=S1094553909001138&_check=y&_origin=article&_zone=toolbar&_coverDate=30-Apr-2010&view=c&originContentFamily=serial&wchp=dGLzVIV-zSkWA&md5=24b9c85bcceca446cab5be574ef474e0/1-s2.0-S1094553909001138-main.pdf.
21. McCallister JW. Reslizumab and eosinophilic asthma: one step closer to phenotype-directed therapy? *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. c2011 [cited 2012 Mar 6];184(10):1096-7. Available from: <http://search.proquest.com/docview/906522433/fulltextPDF?accountid=17239>.
22. McNamara PS, Smyth RL. Interleukin-9 as a possible therapeutic target in both asthma and chronic obstructive airways disease. *Drug News Perspect* [Internet]. 2005 Dec [cited 2012 Apr 6];18(10):615-21. Available from: [http://www.scopus.com/record/display.url?eid=2-s2.0-33645060999&origin=resultslist&sort=plf-f&src=s&st1=Interleukin-9+as+a+Possible+Therapeutic+Target+in+Both+Asthma&sid=96CUi7js1F6cn9B1qFXIN86%3a230&sot=q&sdt=b&sl=81&s=TITLE-ABS-KEY-AUTH%28Interleukin-9+as+a+Possible+Therapeutic+Target+in+Both+Asthma%29&relpos=0&relpos=0&searchTerm=TITLE-ABS-KEY-AUTH\(Interleukin-9 as a Possible Therapeutic Target in Both Asthma\)](http://www.scopus.com/record/display.url?eid=2-s2.0-33645060999&origin=resultslist&sort=plf-f&src=s&st1=Interleukin-9+as+a+Possible+Therapeutic+Target+in+Both+Asthma&sid=96CUi7js1F6cn9B1qFXIN86%3a230&sot=q&sdt=b&sl=81&s=TITLE-ABS-KEY-AUTH%28Interleukin-9+as+a+Possible+Therapeutic+Target+in+Both+Asthma%29&relpos=0&relpos=0&searchTerm=TITLE-ABS-KEY-AUTH(Interleukin-9 as a Possible Therapeutic Target in Both Asthma)).
23. Mullane K. Asthma translational medicine: report card. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 2011 Sep [cited 2012 Mar 12];82(6):567-85. Available from: http://pdn.sciencedirect.com/science?_ob=MiamiImageURL&_cid=271311&_user=640852&_pii=S0006295211004229&_check=y&_origin=article&_zone=toolbar&_coverDate=15-Sep-2011&view=c&originContentFamily=serial&wchp=dGLbVlt-zSkWz&md5=eeee048e2caf154f42aa25c08c342f17/1-s2.0-S0006295211004229-main.pdf.
24. Oh CK, Geba GP, Molino N. Investigational therapeutics targeting the IL-4/IL-13/STAT-6 pathway for the treatment of asthma. *Eur Respir Rev* [Internet]. 2010 Mar 1 [cited 2012 Apr 6];19(115):46-54. Available from: <http://err.ersjournals.com/content/19/115/46.full.pdf+html>.

25. Park SJ, Lee YCh. Interleukin-17 regulation: an attractive therapeutic approach for asthma. *Respir Res* [Internet]. c2010 [cited 2012 Mar 6];11(78):78-88. Available from: <http://web.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?sid=ce38e7fd-ea97-4c48-a3c0-2d0c2b805957%40sessionmgr14&vid=17&hid=14>.
26. Pullerits T. Cytokine modulation for anti-allergic treatment. *Curr Pharm Des* [Internet]. 2002 Sep [cited 2012 Mar 12];8(20):1845-53. Available from: <http://search.proquest.com/docview/215121596/135EE9B1A8D761AE4D6/1?accountid=17239>.
27. Salajka F, Kašák V, Krčmová I, Konšťacký S. Asthma bronchiale - novelizace 2008: doporučený diagnostický a léčebný postup pro všeobecné praktické lékaře. [Internet]. Prague (CZ): Centrum doporučených postupů pro praktické lékaře, Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP; c2008 [cited 2012 Apr 6]. 12. Available from: http://www.svl.cz/Files/nastenka/page_4771/Version1/astma-2008.pdf.
28. Tourangeau LM, Kavanaugh A, Wasserman SI. The role of monoclonal antibodies in the treatment of severe asthma. *Ther Adv Respir Dis* [Internet]. 2011 Jun [cited 2012 Mar 6];5(3):183-94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov.ezproxy.is.cuni.cz/pubmed?term=The%20role%20of%20monoclonal%20antibodies%20in%20the%20treatment%20of%20severe%20asthma%20Tourangeau>.
29. Vianna EO, Martin RJ. Recent innovations in asthma therapy. *Drugs Today* [Internet]. 1998 Apr [cited 2012 Apr 6];34(4):341-51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov.ezproxy.is.cuni.cz/pubmed?term=Recent%20innovations%20in%20asthma%20therapy%20vianna>.
30. Vrlik M, Dzurilla M, Bucova M, Kantarova D, Buc M. Asthma bronchiale phenotypes and their treatment - a current view. *Acta Med Martiniana* [Internet]. 2009 Nov [cited 2012 Mar 6];9(3):3-11. Available from: <http://web.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?sid=ce38e7fd-ea97-4c48-a3c0-2d0c2b805957%40sessionmgr14&vid=21&hid=14>.

Elektronické informační zdroje

31. 2010 Lab 4 [Internet]. [place unknown] : Cell Biology wiki; 2010 Mar 31 [cited 2012 Apr 6]. Available from: http://php.med.unsw.edu.au/cellbiology/index.php?title=2010_Lab_4.
32. Genentech Cell Culture Plant No 2 Expansion, United States of America [Internet]. Vacaville (CA): Pharmaceutical-technology.com; c2011 [cited 2012 Apr 6]. Available from: <http://www.pharmaceutical-technology.com/projects/genentechvacaville/>.
33. Kimball JW. Monoclonal Antibodies [Internet]. [place unknown] : Kimball's Biology Pages; 2011 Sep 3 [cited 2012 Apr 6]. Available from: <http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/M/Monoclonals.html>.
34. Monoclonal antibodies [Internet]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation; 2001-2012 [2012 Mar 27; cited 2012 Mar 16]. Available from: http://en.wikipedia.org/wiki/Monoclonal_antibodies.
35. Nomenclature of monoclonal antibodies [Internet]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation; 2001-2012 [2011a Oct 26; cited 2012 Apr 6]. Available from: http://en.wikipedia.org/wiki/Nomenclature_of_monoclonal_antibodies.
36. Protilátka [Internet]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation; 2001-2012 [2011a Oct 5; cited 2012 Apr 6]. Available from: http://cs.wikipedia.org/wiki/Protil%C3%A1tka#Lehk.C3.BD_.C5.99et.C4.9Bzec.