

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

1. lékařská fakulta



Přínos nových imunosupresiv po transplantaci srdce

Zhodnocení dvou klinických indikací takrolimu

Autoreferát disertační práce

MUDr. Blanka Skalická

Praha 2008

Disertační práce byla vypracována v rámci doktorského studijního programu v oboru Fyziologie a patologická fyziologie člověka na 1. lékařské fakultě Univerzity Karlovy v Praze.

Uchazeč: MUDr. Blanka Skalická

Školitel: Doc. MUDr. Ivan Málek, CSc.
Klinika kardiologie, IKEM, Praha

Adresa: Klinika kardiologie, IKEM
Václavská 1958/9, Praha 4, 140 21

Předseda OR: prof. MUDr. Stanislav Trojan, DrSc.
Fyziologický ústav 1. LF UK

Oponenti:

Autoreferát byl rozeslán dne:

Obhajoba se koná dne vhodin před komisí pro obhajoby kandidátských disertačních prací.

S disertací je možno se seznámit na děkanátu 1. lékařské fakulty UK, Kateřinská 32, Praha 2.

OBSAH

| | | |
|-----|---|----|
| | SOUHRN | 4 |
| | SUMMARY | 5 |
| 1 | ÚVOD | 6 |
| 2 | AKUTNÍ REJEKCE | 6 |
| 3 | TAKROLIMUS | 7 |
| 3.1 | Účinek a profil toxicity | 7 |
| 3.2 | Vliv na akutní rejekce | 7 |
| 3.3 | Přínos v léčbě dyslipidemií | 7 |
| 4 | VÝCHODISKA PRÁCE | 8 |
| 5 | STUDIE 1. Konverze na takrolimus u pacientů po transplantaci srdce s rekurentní rejekcí | 8 |
| 5.1 | Charakteristika studie | 8 |
| 5.2 | Soubor nemocných | 8 |
| 5.3 | Imunosuprese a medikace před konverzí | 9 |
| 5.4 | Metodika | 9 |
| 5.5 | Výsledky | 9 |
| 6 | STUDIE 2. Bezpečnost a účinnost kombinované terapie atorvastatinem a takrolimem u pacientů po OTS | 10 |
| 6.1 | Charakteristika studie | 10 |
| 6.2 | Soubor nemocných | 10 |
| 6.3 | Metodika | 11 |
| 6.4 | Výsledky | 11 |
| 7 | DISKUZE | 13 |
| 7.1 | Ovlivnění akutních rejekcí po konverzi na takrolimus: | 14 |
| 7.2 | Ovlivnění hladin lipidů po konverzi na takrolimus: | 14 |
| 7.3 | Ovlivnění renálních funkcí | 16 |
| 7.4 | Takrolimus a porucha metabolismu glukózy | 16 |
| 7.5 | Limitace studie | 16 |
| 8 | ZÁVĚR | 17 |
| 9 | LITERATURA | 18 |
| 10 | SEZNAM ZKRATEK | 21 |

SOUHRN:

Úvod: Akutní buněčné rejekce a koronární nemoc štěpu jsou hlavními faktory ovlivňujícími přežívání po ortotopické transplantaci srdce (OTS). Takrolimus by mohl být více účinný než cyklosporin A v léčbě opakovaných epizod akutní rejekce u pacientů po OTS. Jedním z rizikových faktorů rozvoje koronární nemoci štěpu je dyslipidémie. Statiny jsou obvyklou součástí léčby po OTS. Avšak jejich podávání je potenciálně nebezpečné pro jejich možnou interakci s cyklosporinem A. Na základě výsledků studie se zdravými dobrovolníky se zdá, že takrolimus se statiny neinteraguje.

Cíl: V první studii jsme retrospektivně posuzovali účinek konverze z cyklosporinu A na takrolimus u pacientů po OTS s opakovanými rejekcemi. Ve druhé (prospektivní) studii jsme hodnotili účinnost a bezpečnost kombinované léčby takrolimem a atorvastatinem u pacientů po OTS s dyslipidemií.

Metody: V první studii jsme sledovali skupinu 17 pacientů po OTS (5 žen, 12 mužů, průměrný věk 53 ± 11 let) konvertovaných na takrolimus pro opakované nálezy vyšších stupňů akutní rejekce v endomyokardiálních biopsiích (EMB). Porovnávali jsme výskyt akutních rejekcí celkem v šesti EMB u každého pacienta, z nichž tři byly provedeny před konverzí a zbylé tři po konverzi na takrolimus. Každý stupeň Banffské klasifikace byl bodově ohodnocen (škála 1–6 bodů); následně byl proveden součet bodů a průměr pro celý soubor.

Ve druhé studii jsme sledovali skupinu 30 pacientů po OTS s opakovaně zjištěnou hladinou celkového cholesterolu nad 5,5 mmol/l při terapii fluvastatinem. Cyklosporin A byl hlavním imunosupresivem. Následně byli pacienti konvertováni na kombinaci takrolimu a atorvastatinu v počáteční dávce 20 mg. Klinické kontroly s krevními testy byly provedeny v 1., 4., 7., 10. a 13. měsíci po konverzi.

Výsledky: V první studii byl takrolimus v dlouhodobém sledování dobře tolerován u všech pacientů. Účinek takrolimu na ovlivnění probíhající rejekce a na snížení výskytu těžších stupňů rejekce byl po konverzi signifikantní (8.75 ± 1.61 před konverzí; 2.56 ± 1.59 po konverzi; $p < 0.001$).

Ve druhé studii nebyl pozorován výskyt ani myalgie, ani elevace hladin kreatinkinázy. Šest pacientů bylo ze sledování vyřazeno pro jiné nežádoucí účinky (průjemy, progresivní elevace hladiny kreatininu, atd.). Hladiny celkového cholesterolu signifikantně poklesly po prvním měsíci léčby (6.02 ± 0.85 mmol/l vs. 4.70 ± 0.58 mmol/l; $p < 0.0001$). Podobný pokles byl pozorován u hladin LDL cholesterolu, triacylglycerolů a apolipoproteinu-B. Účinek léčby zůstal stejný po celou dobu sledování.

Závěr: Takrolimus příznivě ovlivňuje nejen probíhající rekurentní akutní rejekce, ale snižuje i další výskyt rejekčních epizod. U pacientů po OTS s dyslipidemií může být konverze na takrolimus a atorvastatin vhodnou léčebnou možností, protože tato kombinace je bezpečná a účinná ve snižování hladin celkového cholesterolu, LDL cholesterolu a apolipoproteinu-B.

SUMMARY:

Background: Acute cellular rejection and graft vascular disease are major factors limiting the survival after orthotopic heart transplantation (OHTx). Tacrolimus could be more potent than cyclosporin A in therapy of recurrent acute rejection episodes in OHTx patients. Dyslipidemia is one of the risk factors involved in the development of graft vascular disease. Statins are common part of standard drug regimen after OHTx. On the other hand, they are potentially dangerous as they could interact with cyclosporin A. Study in healthy volunteers showed that tacrolimus should have no interactions with statins.

Aim: In the first study we retrospectively assessed the effect of switching patients after OHTx with recurrent cellular rejection episodes from cyclosporin A to tacrolimus. In the second (prospective) study we evaluated the efficacy and safety of combined therapy with tacrolimus and atorvastatin in patients after OHTx with dyslipidemia.

Method: In the first study we followed a group of 17 OHTx patients (5 women, 12 men, age range 53 ± 11 years), switched to tacrolimus for repeated findings of higher grades of acute rejection episodes in endomyocardial biopsy (EMB) samples. We compared the incidence of acute rejection episodes in a total of six EMB samples from each patient, with each three obtained prior to and after switching the patient to tacrolimus. Each grade of the Banff classification was assessed using points (a scale of 1–6 points). The points were subsequently added and a mean for the whole group was calculated.

In the second study we followed a group of 30 OHTx patients with repeatedly documented plasma levels of total cholesterol above 5.5 mmol/l while on fluvastatin therapy. Cyclosporin A was the main immunosuppressive drug. Subsequently, the patients were switched to a combination of tacrolimus and atorvastatin at a starting dosage of 20 mg. Clinical controls with blood tests were performed in 1., 4., 7., 10. and 13. month after switching of drug regimen.

Results: In the first study was tacrolimus in long-term monitoring tolerated by all patients. The effect on an ongoing acute rejection episode and the decrease in the incidence of higher acute rejection grades after switching the patient to tacrolimus were significant (8.75 ± 1.61 before conversion; 2.56 ± 1.59 after conversion; $p < 0.001$).

In the second study neither myalgia nor increase in plasma creatinase levels were observed. Six patients were excluded from the monitoring for the other adverse events (diarrhea, progressive elevation of serum creatinine level, etc.). Total cholesterol levels decreased significantly after the first month of treatment (6.02 ± 0.85 mmol/l vs. 4.70 ± 0.58 mmol/l; $p < 0.0001$). Similar trend was observed for LDL cholesterol, triglycerols and apolipoprotein-B. Treatment effect was stable during the entire period of follow up.

Conclusions: Tacrolimus has a beneficial effect not only on recurrent acute rejection episodes in heart transplant recipients but it also decreases the incidence of future rejection episodes. In patients after OHTx with dyslipidemia switching to tacrolimus and atorvastatin could be a suitable therapeutic option, because this combination is safe and effective in decreasing of total cholesterol, LDL-cholesterol and apolipoprotein-B levels.

1 ÚVOD

Transplantace srdce se v posledních 30 letech stala nejúčinnější terapií pro pacienty v terminálním stádiu srdečního selhání a po zavedení účinné imunosupresivní profylaxe, zejména kalcineurinových inhibitorů, se rapidně zlepšila délka přežívání štěpů. Klasická imunosupresivní profylaxe je u pacientů po ortotopické transplantaci srdce (OTS) založena na trojkombinaci kalcineurinového inhibitoru cyklosporinu A, inhibitoru DNA syntézy azathioprinu nebo mykofenolátu mofetilu a prednisonu. Avšak i přes správně vedenou profylaktickou léčbu je přežívání štěpu limitováno epizodami akutní rejekce a v pozdějších stádiích vývojem koronární nemoci štěpu. Pokračuje hledání dalších imunosupresiv s příznivějším poměrem účinnost/toxicita.

V současnosti se stále více do popředí dostává další za skupiny kalcineurinových inhibitorů – takrolimus – a to nejen pro svůj silnější vliv na vznik a průběh akutních rejekcí, ale rovněž pro svůj příznivý vliv na dyslipidémii po OTS, která je důležitým rizikovým faktorem vzniku koronární nemoci.

2 AKUTNÍ REJEKCE

Akutní rejekce vzniká na podkladě aktivace imunitního systému příjemce prezentací „cizích“ antigenů srdečního štěpu antigen prezentujícími buňkami [1]. Tento proces následně vede k vytvoření klonů cytotoxických lymfocytů zaměřených proti konkrétnímu antigenu a tvorbě specifických protilátek. Podle histopatologického nálezu lze akutní rejekce rozdělit na *buněčné* (infiltrace aktivovanými lymfocyty) a *humorální* (tvorba protilátek), popřípadě kombinaci obou. Rejekce dělíme i podle časového hlediska a mechanismů vzniku a to na tzv. *perakutní* (imunitní reakce humorálního typu s postižením mikrocirkulace a eventuální ztrátou štěpu), *akutní* (primární imunitní reakce štěpu buněčného nebo humorálního typu) a *chronickou rejekci* (imunitní odpověď humorálního typu s poškozením věnčitých tepen) [2].

Při „klasické“ trojkombinaci postihovaly akutní buněčné rejekce 60 % pacientů v prvním roce po OTS [3]. Ačkoli se v posledních letech výskyt akutní rejekce snižuje, zůstává stále vysoký (okolo 40 %) [4]. Časná stádia jsou diagnostikována endomyokardiálními biopsiemi (EMB), ve kterých je histologicky hodnocena lymfocytární infiltrace myokardu a stupeň poškození myocytů (**Tab.1**) [5].

Standardní léčbou vyššího stupně akutní buněčné rejekce (tj. Banff 2-4) je pulsní kortikoterapie, při jejím neúspěchu pak podání antilymfocytárních globulínů (ATG) [1]. Zvláštní problém představují pacienti s opakovanými buněčnými rejekcemi, které mohou následně vést k poškození štěpu, k rozvoji vaskulopatie a zvýšení rizika infekcí v důsledku antirejekční terapie [6, 7]. Opakující se akutní buněčné rejekce mají své rizikové faktory, mezi které patří například mladý věk příjemců, ženské pohlaví (u dárce i příjemce), HLA (human leukocyte antigen) neshody, indukční terapie, cytomegalovirová infekce a další [3].

| Klasifikace akutní buněčné rejekce podle histologických kritérií (ISHLT) | | |
|--|----------------|--|
| Banffská klas. | | Histologicky |
| Bez akutní buněčné rejekce | 0 | Bez lymfocytární infiltrace |
| Nízký stupeň akutní buněčné rejekce – “mild” | 1A, 1B, nebo 2 | Fokální nebo difúzní perivaskulární a/nebo intersticiální lymfocytární infiltrace s max. jedním přesně ohraničeným ložiskem s poškozením myocytů |
| Středně těžký stupeň akutní buněčné rejekce – “moderate” | 3A | Dvě nebo více ložisek s peri-vaskulární a/ nebo intersticiální lymfocytární infiltrací s nekrózou myocytů; s/bez eosinofilů a neutrofilů |
| Těžký stupeň akutní buněčné rejekce – “severe” | 3B nebo 4 | Difúzní zánětlivý proces s infiltrací lymfocytů, eosinofilů, a neutrofilů s nekrózou myocytů; otok, hemoragie v intersticiu a/nebo vasculitida |

Tab.1. Klasifikace akutních buněčných rejekcí

3 TAKROLIMUS

3.1 *Účinek a profil toxicity*

Takrolimus byl izolován v roce 1984 v Japonsku z houby *Streptomyces tsukubaensis*. Takrolimus patří do skupiny kalcineurinových inhibitorů, v cytoplasmě T-lymfocytů se váže na imunofilin FKBP-12 a dále pak inhibuje produkci IL-2 podobnou cestou, jako cyklosporin A (viz výše) [8]. Ve studiích in vitro byl takrolimus oproti cyklosporinu A 100x účinnějším v supresi proliferativní odpovědi při reakci mezi myšími a lidskými lymfocyty.

V experimentálním in vivo modelu buněčné a humorální imunitní odpovědi byl takrolimus 10x účinnější než cyklosporin A [9]. Takrolimus inhibuje produkci cytokinů (IL-2, IL-3, IL-4 a TNF) aktivovanými T-lymfocyty, rovněž inhibuje cytokiny zprostředkovanou proliferaci B-buněk. Takrolimus má stejně jako cyklosporin A nefrotoxické účinky. Na dávce závislá neurotoxicita je u takrolimu častější, zejména třes, bolesti hlavy, nespavost, vzácněji i rozvoj psychózy a encefalopatie [10]. Výskyt hyperplazie gingiv a hirsutismu se u takrolimu nevyskytuje a z toho vyplývá i jedna z indikací pro konverzi z cyklosporinu A na takrolimus. Vliv na arteriální hypertenzi je obdobný s cyklosporinem A, avšak výskyt potransplantačního diabetu mellitu je u takrolimu vyšší [11].

3.2 *Vliv na akutní rejekce*

Takrolimus je účinnější v prevenci rejekčních epizod ve srovnání s cyklosporinem A. V Evropské multicentrické studii byl prokázán menší výskyt akutních rejekcí při terapii takrolimem [12]. Takrolimus narozdíl od cyklosporinu A je schopen ovlivnit probíhající (tzv. ongoing) akutní rejekci štěpu díky snížení syntézy IL-10. Při rejekci je totiž působením IL-10 tkáň štěpu infiltrována aktivovanými T-lymfocyty CD 8+ a NK (natural killers) buňkami, které produkují cytotoxické cytokiny granzym B a perforin 1. Podle některých autorů je takrolimus rovněž účinný v léčbě rekurentních rejekcí, z čehož by vyplývala další indikace ke konverzi z cyklosporinu A na takrolimus [13-15].

3.3 *Přínos v léčbě dyslipidemií*

Dyslipidemie je po OTS velice častou metabolickou poruchou vyskytující se u 60-80% a je důležitým rizikovým faktorem koronární nemoci štěpu. Hladina celkového

cholesterolu vzrůstá již během prvních šesti měsíců po transplantaci [16]. Rizikovými faktory pro hyperlipidémii po prvním roce od OTS je zejména kumulativní dávka prednisonu, denní podávání prednisonu, body mass index (BMI) > 25 kg/m² a ischemická choroba srdeční v předtransplantačním období [17]. Kalcineurinové inhibitory obecně zvyšují hladiny lipidů v plazmě, ale tento nežádoucí účinek je u takrolimu menší [12, 18].

V současnosti jsou součástí standardní medikace po OTS statiny, avšak při výběru vhodného statinu jsme limitováni jejich možnou interakcí s cyklosporinem A [19, 20]. Cyklosporin A je stejně jako většina statinů metabolizován v játrech přes cytochrom P-450 izoenzym 3A4. Při konkomitantním podání se statiny působí cyklosporin A na tento enzym jako kompetitivní inhibitor, což má za následek několikanásobný nárůst hladiny statinů v plazmě s vysokým rizikem rhabdomyolýzy. Mezi nejbezpečnější statiny patří fluvastatin [21], který je metabolizován přes izoenzym 2C9 [21, 22]. Dalším bezpečným statinem je pravastatin, který využívá zcela jinou metabolickou cestu [23]. Fluvastatin je u proto u nás nejvíce užívaným statinem po OTS, avšak u některých pacientů není jeho hypolipidemický účinek dostatečný.

Některé studie prokázaly, že atorvastatin je v porovnání s ostatními statiny efektivnější ve snižování sérové hladiny jak celkového cholesterolu, tak hladiny triglyceridů [24-26]. V kombinaci s cyklosporinem A může být nebezpečí myotoxicity mnohem vyšší než s takrolimem [27]. Lemahieu a spol. [27] sledoval 13 zdravých dobrovolníků, u kterých byla hladina atorvastatinu měřena po 4-denním podávání nejprve bez kalcineurinových inhibitorů a následně po podání cyklosporinu A a takrolimu. Hladina atorvastatinu byla 15-krát zvýšená při konkomitantní terapii s cyklosporinem A, zatímco terapie takrolimem farmakokinetiku atorvastatinu neovlivnila. Příčina elevované hladiny atorvastatinu při terapii cyklosporinem A se přisuzuje inhibici střevního a hepatálního p-glykoproteinu. Lze tedy očekávat, že atorvastatin bude v kombinaci s takrolimem účinný při nízkém riziku rhabdomyolýzy, důkazy však zatím chybí.

4 VÝCHODISKA PRÁCE

Ve vlastní práci jsme vycházeli z předpokladu, že (1) takrolimus je účinnějším imunosupresivem než cyklosporin A a jeho použití umožní úspěšnou léčbu rekurentních buněčných rejekcí; (2) takrolimus umožní využít léčebného potenciálu atorvastatinu bez rizika rozvoje rhabdomyolýzy.

5 STUDIE 1. Konverze na takrolimus u pacientů po transplantaci srdce s rekurentní rejekcí

5.1 Charakteristika studie

V této studii jsme retrospektivně zhodnotili 443 pacientů, kteří v období od 12/1993 do 12/2004 na našem pracovišti podstoupili OTS. Zaměřili jsme se na nemocné, u nichž byla provedena v průběhu sledování konverze na takrolimus pro opakované nálezy akutních buněčných rejekcí vyšších stupňů v EMB.

5.2 Soubor nemocných

Jednalo se celkem o 17 pacientů (5 žen, 12 mužů, věkový průměr 53 ± 11 let). U 5 pacientů se jednalo o rejekce rezistentní na antirejekční léčbu pulzním podáním kortikoidů a 12 pacientů mělo rekurentní nebo persistující rejekci vyššího stupně (Banff 2 a více). V naší studii byly EMB hodnoceny podle Banffské klasifikace [5] (**Tab.1.**). U všech pacientů byla vstupně normální systolická funkce levé komory srdeční. Doba od OTS do konverze byla 27 ± 32 měsíců (od 2 do 90 měsíců). Věk dárců srdce se pohyboval od 19 do 51 let (30 ± 10 let). HLA typizace byla k dispozici u 13 pacientů, 3 a více shod nebylo

přítomno u žádného pacienta, 2 shody byly u 3 nemocných, 1 HLA shoda byla přítomna u 7 pacientů a žádná shoda v HLA byla u 3 pacientů.

5.3 Imunosuprese a medikace před konverzí

Před konverzí na takrolimus u 14 pacientů byla imunosupresivní profylaxe složena z trojkombinace – cyklosporin A, mykofenolát mofetil/azathioprin, kortikoidy. Tři pacienti byli na dvojkombinaci imunosupresiv – u 2 nemocných bylo nutné vysazení kortikoidů pro osteoporózu a u 1 pacienta byl vysazen mykofenolát mofetil pro leukopénii. Součástí léčebného schématu byla dále antihypertenziva (94 %) a statiny (88 %).

5.4 Metodika

U každého pacienta jsme hodnotili 3 EMB před konverzí, ve kterých byla přítomna akutní buněčná rejekce vyššího stupně a 3 EMB následující po konverzi na takrolimus. Každý stupeň Banffské klasifikace byl bodově ohodnocen (škála 1-6 bodů), následně byl proveden součet bodů a průměr pro celý soubor před a po konverzi (**Tab.2**).

Při konverzi byla první dávka takrolimu podána 12 hodin po poslední dávce cyklosporinu A. Počáteční dávka takrolimu byla individuálně vypočítána podle váhy pacienta, kdy na 1 kilogram připadlo 0,1 až 0,15 mg takrolimu. Dávka byla rozdělena do 2 dílčích dávek. Po 5 dávkách byla stanovena hladina takrolimu. U všech pacientů bylo dosaženo cílových hladin 10 – 20 ng/ml.

| | | Bodové ohodnocení |
|-----------------|--|--------------------------|
| Banff 0 | žádná rejekce | 0 |
| Banff 1A | ložisková infiltrace, lymfocyty bez nekrózy | 1 |
| Banff 1B | difúzní infiltrace, lymfocyty bez nekrózy | 2 |
| Banff 2 | ložisková infiltrace, lymfocyty s nekrózou | 3 |
| Banff 3A | multifokální infiltráty, lymfocyty s nekrózou | 4 |
| Banff 3B | difúzní infiltrace, lymfocyty s nekrózou | 5 |
| Banff 4 | difúzní smíšená infiltrace s nekrózou, vaskulitida, hemoragie, edém | 6 |

Tab. 2: Banffská klasifikace a bodové hodnocení pro studii I

Dále jsme sledovali vliv takrolimu na krevní tlak, hladinu sérového kreatininu a cholesterol, kdy hodnoty byly získány při 3 návštěvách před a 3 návštěvách po konverzi na takrolimus. Byly nejprve stanoveny průměrné hodnoty pro pacienta a následně průměrné hodnoty pro celý soubor před a po konverzi.

Ke statistické analýze bylo použito párového t-testu. Hodnoty $p < 0,05$ byly považovány za statisticky významné. Numerické hodnoty jsou udány jako průměr \pm směrodatná odchylka.

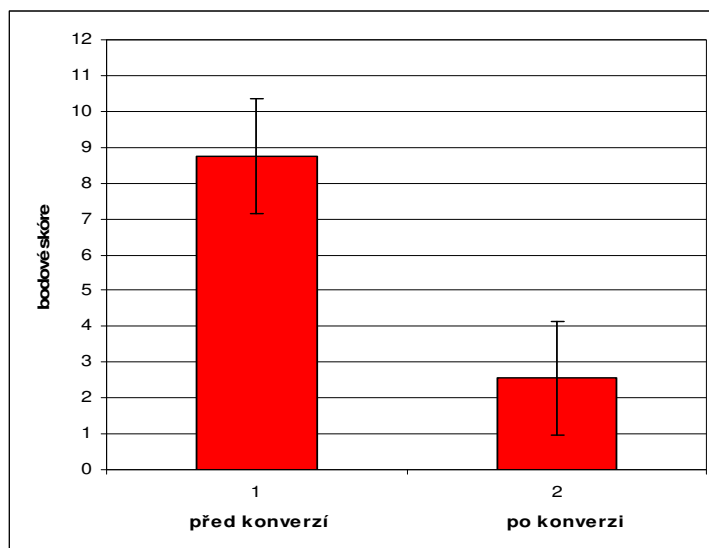
5.5 Výsledky

U všech pacientů byl takrolimus dlouhodobě dobře tolerován, u nikoho nemusel být vysazen z důvodu nežádoucích účinků. Během sledování nebyly známky systolické dysfunkce štěpů a nedošlo k žádnému úmrtí pacientů.

Po konverzi došlo ke statisticky významnému poklesu výskytu vyšších stupňů akutní rejekce a k ovlivnění probíhající rejekce (**Obr.1**), kdy před konverzí bylo bodové skóre $8,75 \pm 1,61$, po konverzi $2,56 \pm 1,59$ ($p < 0,001$). Po konverzi na takrolimus byla epizoda akutní rejekce zaznamenána u 4 pacientů (u 3 pacientů Banff 2, u 1 pacienta Banff 3A), které byly řešeny zvýšením dávek imunosupresiv, nebyla nutná antirejekční terapie pulzními kortikoidy.

Pokles hodnot systolického krevního tlaku nebyl po konverzi statisticky významný (před $133 \pm 12,5$ mm Hg, po 128 ± 9 mm Hg, $p=0,0775$), u diastolického tlaku nebyl pokles rovněž statisticky významný (před $84,4 \pm 9,5$ mm Hg, po $83,0 \pm 7,4$ mm Hg, $p=0,516$).

Změny hladin sérového kreatininu před a po konverzi nebyly statisticky významné (před $105 \pm 26,1$ $\mu\text{mol/l}$, po $109 \pm 26,07$ $\mu\text{mol/l}$, $p=0,158$). Naopak hladiny cholesterolu se po konverzi statisticky významně snížily (před $5,2 \pm 1,06$ mmol/l, po $4,7 \pm 0,84$ mmol/l, $p=0,0026$).



Obr.1. – Výskyt akutních buněčných rejekcí před a po konverzi na takrolimus ($p < 0,001$)

6 STUDIE 2. Bezpečnost a účinnost kombinované terapie atorvastatinem a takrolimem u pacientů po OTS

6.1 Charakteristika studie

Druhá studie byla zaměřena na léčbu dyslipidémie u pacientů po OTS. Nejprve jsme retrospektivně zhodnotili 309 žijících pacientů, kteří podstoupili na našem pracovišti OTS v období od 10/1984 do 09/2005. Z těchto pacientů jsme vybrali nemocné, u nichž byla v posledních 6 měsících alespoň 2krát detekována hladina celkového cholesterolu nad 5,5 mmol/l, a to i přes terapii statiny (zejména fluvastatinem), fibráty, ezetimibem či jejich kombinacemi – jednalo se celkem o 89 nemocných. Vyřazovacím kritériem pro studii byla signifikantní renální insuficience s kreatininem nad 250 $\mu\text{mol/l}$, těžká hepatální insuficience či akutní hepatální léze, přecitlivělost ke statinům, předchozí podávání atorvastatinu či takrolimu (po OTS), akutní infekce, akutní rejekce, nesouhlas se studií či noncompliance pacienta. Pro mnoho nemocných bylo obtížné se dostavit na častější kontroly pro velkou vzdálenost od našeho centra.

6.2 Soubor nemocných

Konečný soubor se skládal z 30 pacientů po OTS (21 mužů, 9 žen, průměrný věk při konverzi 54 ± 10 let). (**Tab.3.**) Imunosupresivní profylaxe se skládala z cyklosporinu A v kombinaci s azathioprinem ($n = 6$) nebo mykofenolátem mofetilem ($n = 22$) a prednisonem ($n= 28$). Všichni pacienti byli na terapii fluvastatinem v dávce 70 ± 18 mg.

Pacienti byli se studií podrobně seznámeni, podepsali informovaný souhlas a zároveň byli upozorněni na nutnost hlásit možné nežádoucí účinky, zejména pak neobvyklou svalovou bolest, nauseu, zvracení nebo prolongované průjmy. Všichni nemocní byli sledováni minimálně 13 měsíců

| | |
|-------------------------------|-----------------------------------|
| Počet pacientů | 30 |
| Věk při konverzi | 54 ± 10 let |
| Pohlaví | 9 žen |
| | 21 mužů |
| Základní onemocnění | Ischemická choroba srdeční (n=13) |
| | Dilatační kardiomyopatie (n=17) |
| Věk dárců | 36 ± 13 let |
| Čas od OTS do konverze | 71 ± 42 měsíců |
| Diabetes mellitus | 6 pacientů |
| Imunosuprese | Cyklosporin A (n=30) |
| | Azathioprin (n=6) |
| | Mykofenolát mofetil (n=22) |
| | Kortikoidy (n=28) |

Tab.3. Charakteristika souboru.

6.3 Metodika

Při první návštěvě byli pacienti podrobně fyzikálně vyšetřeni, byly odebrány krevní vzorky a byla provedena ambulantní konverze z cyklosporinu A na takrolimus podle běžného protokolu (podrobný postup popsán v 1. studii, viz výše). Po 7-10 dnech byla zkontrolována hladina takrolimu (cílová hladina byla požadována 5-15 nmol/l) s úpravou dávky a fluvastatin byl vyměněn za atorvastatin v počáteční dávce 20 mg. Další ambulantní kontroly s komplexním vyšetřením následovaly za 1, 4, 7, 10 a 13 měsíců od konverze. U několika pacientů se podle hladin lipidů upravovala během sledování dávka atorvastatinu - na 10 mg (n=3), na 30 mg (n=1), na 40 mg (n=2). Na konci studie byla tedy celková dávka atorvastatinu pro soubor $20,8 \pm 7,1$ mg.

Laboratorně byly stanovovány hladiny glykémie, sérového kreatininu, urey, kreatinkinázy (CK) i s její muscle-brain frakcí (CK-MB), bilirubinu, jaterních enzymů (AST, ALT, GMT a ALP), laktátdehydrogenázy (LDH), celkového cholesterolu, dále HDL-cholesterolu, LDL-cholesterolu, triacylglycerolů, apolipoproteinu-A (apo-A), apolipoproteinu-B (apo-B), hodnoty erytrocytů, hemoglobinu, neutrofilů, lymfocytů, trombocytů a hladiny takrolimu.

Pro statistické vyhodnocení byl použit párový t-test (kontrolováno ANOVA testem). Hodnoty $p < 0.05$ byly považovány za statisticky významné.

6.4 Výsledky

Celou studii (tj. 13 měsíců) dokončilo 24 pacientů, 6 nemocných bylo v průběhu studie vyřazeno. U jednoho pacienta došlo krátce po zahájení léčby takrolimem k psychickým změnám. Dva pacienti byli vyřazeni po první měsíční kontrole (u prvního byl vysazen takrolimus pro elevaci kreatininu, ačkoli hladina takrolimu byla v terapeutickém rozmezí; druhému nemocnému byl vysazen atorvastatin pro nepříjemně vnímané pocity v krku). U jednoho nemocného se v průběhu léčby atorvastatinem objevil exantém, při kontrole ve čtvrtém měsíci byl atorvastatin změněn zpět na fluvastatin. Jeden nemocný udával intermitentní gastrointestinální obtíže od zahájení léčby takrolimem, při kontrole v desátém měsíci byla provedena konverze zpět na cyklosporin A. Jeden nemocný v průběhu studie zemřel (karcinom plic).

U ostatních pacientů se po konverzi na takrolimus často vyskytovaly průjmy, které však ve většině případů souvisely s vysokou hladinou takrolimu a ustoupily po upravení

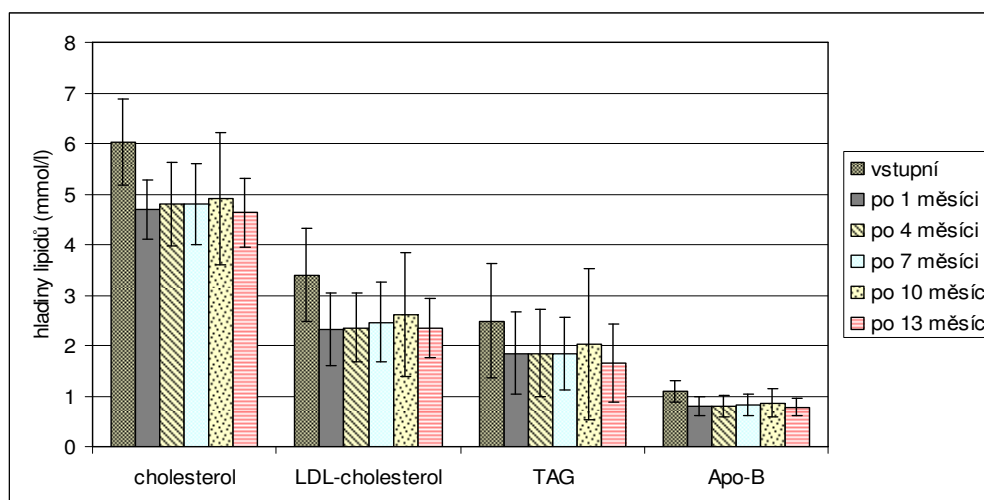
dávky. Během celého sledování jsme nezaznamenali žádný případ myositidy, rhabdomyolýzy, ani asymptomatické elevace kreatinínázy.

Již po prvním měsíci léčby takrolimem a atorvastatinem došlo k signifikantnímu snížení hladin celkového cholesterolu ($6,02 \pm 0,85$ mmol/l před konverzí vs. $4,70 \pm 0,58$ mmol/l po konverzi; $p < 0,0001$), LDL-cholesterolu ($3,39 \pm 0,92$ mmol/l vs. $2,31 \pm 0,72$ mmol/l; $p < 0,0001$), triacylglycerolů ($2,49 \pm 1,14$ mmol/l vs. $1,85 \pm 0,81$ mmol/l; $p < 0,0002$) a apo-B ($1,10 \pm 0,22$ mmol/l vs. $0,79 \pm 0,19$ mmol/l; $p < 0,0003$). Naproti tomu hladiny HDL-cholesterolu a apo-A se nezměnily (**Tab. 4.**).

| | Vstupní (n=30) | po 1 měsíci (n=29) | po 4 měsících (n=27) | po 7 měsících (n=26) | po 10 měsících (n=26) | po 13 měsících (n=24) |
|-----------------------------|----------------|--------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| celkový cholesterol | 6,02±0,85 | 4,70±0,58 **** | 4,81±0,83 **** | 4,80±0,79 **** | 4,90±1,31 **** | 4,63±0,67 **** |
| LDL-cholest. | 3,39±0,92 | 2,31±0,72 **** | 2,36±0,68 **** | 2,46±0,78 **** | 2,62±1,23 *** | 2,34±0,59 **** |
| HDL-cholest. | 1,75±0,53 | 1,63±0,50 | 1,62±0,63 | 1,51±0,40 | 1,52±0,43 | 1,53±0,43 |
| Triacylglyceroly | 2,49±1,14 | 1,85±0,81 **** | 1,85±0,86 *** | 1,84±0,71 *** | 2,03±1,49 | 1,66±0,77 *** |
| Apo-A | 1,81±0,33 | 1,73±0,47 | 1,86±0,48 | 1,82±0,35 | 1,83±0,36 | 1,72±0,36 |
| Apo-B | 1,10±0,22 | 0,79±0,19 **** | 0,80±0,22 **** | 0,82±0,21 **** | 0,86±0,28 *** | 0,78±0,18 **** |
| dávka atorvastatinu | - | 20,3±1,9 | 20,4±5,2 | 20,0±5,7 | 20,4±6,6 | 20,8±7,2 |
| hladina TAC v plazmě | - | 10,2±3,8 | 10,5±3,8 | 9,3±2,2 | 9,1±2,8 | 8,3±3,7 |

Tab. 4. – Lipidové spektrum při terapii takrolimem + atorvastatinem ($p < 0,0001$ - ****, $p < 0,001$ - ***, $p < 0,01$ - **, $p < 0,05$ - *)

Hladiny celkového cholesterolu, LDL-cholesterolu a apo-B zůstaly sniženy i v dalších měsících sledování, avšak oproti hodnotám dosaženým po prvním měsíci se změnily již pouze nevýznamně (**Obr.3.**).



Obr. 3. – Ovlivnění lipidového spektra při léčbě takrolimem a atorvastatinem - grafické zobrazení (statistické významnosti viz. Tab. 5., TAG - triacylglyceroly)

Hladina celkového cholesterolu poklesla pod 5,5 mmol/l u 89,7 % pacientů (z celkem 29 nemocných) po prvním měsíci kombinované terapie takrolimem a atorvastatinem a po 13 měsících zůstala hladina celkového cholesterolu snižena u 87,5 % pacientů (z 24 nemocných, kteří dokončili sledování). Hladina LDL-cholesterolu po prvním měsíci kombinované léčby poklesla pod 3 mmol/l u 82,7 % pacientů a po 13 měsících zůstala snižena pod tuto hodnotu u 75 % pacientů.

Během sledování byl pozorován statisticky významný pokles hladin urey, hemoglobinu a počtu trombocytů, avšak z klinického hlediska byly tyto změny zanedbatelné.

Hladiny kreatininu, glykémie a jaterních transamináz se během studie změnilly pouze nevýznamně (Tab.5.).

| | vstupní (n=30) | po 1 měsíci (n=29) | po 4 měsících (n=27) | po 7 měsících (n=26) | po 10 měsících (n=26) | po 13 měsících (n=24) |
|--------------------------|-------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Glukóza | 5,64±1,67 | 5,88±2,12 | 5,64±1,80 | 5,68±1,42 | 5,64±0,96 | 5,81±1,03 |
| CK | 1,49±1,00 | 1,34±1,03 | 1,58±1,25 | 1,39±1,16 | 1,35±1,10 | 1,58±0,96 |
| CK-MB | 0,27±0,10 | 0,26±0,07 | 0,26±0,08 | 0,28±0,11 | 0,28±0,07 | 0,33±0,09 * |
| LDH | 3,44±1,14 | 3,02±0,63 | 3,32±0,79 | 3,45±0,98 | 3,30±0,82 | 3,42±0,82 |
| Bilirubin celkový | 15,21±8,19 | 12,73±7,24 *** | 14,41±8,10 | 12,66±7,71 | 12,10±6,72 * | 12,31±7,42 * |
| AST | 0,41±0,18 | 0,38±0,18 | 0,39±0,20 | 0,39±0,14 | 0,43±0,20 | 0,53±0,42 |
| ALT | 0,43±0,24 | 0,42±0,16 | 0,49±0,24 | 0,44±0,21 | 0,54±0,28 | 0,52±0,40 |
| ALP | 1,42±0,65 | 1,38±0,57 | 1,30±0,51 | 1,29±0,48 | 1,32±0,51 | 1,30±0,46 |
| GMT | 1,27±4,54 | 1,22±1,29 | 1,51±1,76 | 1,09±1,09 | 1,69±2,92 | 1,61±2,92 |
| Kreatinin | 134,28±39,57 | 136,38±39,67 | 131,36±31,88 | 130,32±36,70 | 128,74±37,52 * | 117,32±39,25 ** |
| Urea | 10,31±3,46 | 9,49±3,68 ** | 8,87±3,17 ** | 8,79±3,36 *** | 9,82±5,15 | 8,72±3,50 ** |
| Hemoglobin | 137,57±13,69 | 133,59±13,22 * | 137,89±14,36 | 139,46±15,65 | 139,38±14,66 | 141,58±14,89 |
| Leukocyty | 6,73±1,63 | 6,81±1,48 | 7,11±1,59 | 6,72±1,46 | 7,26±1,56 | 7,16±1,82 |
| Trombocyty | 245,50±56,51 | 241,66±36,21 * | 226,04±57,55 | 236,27±52,57 | 241,62±69,47 | 233,75±52,33 |

Tab.5. – Laboratorní hodnoty během studie s takrolimem + atorvastatinem (p<0,0001 - ****, p<0,001 - ***, p<0,01 - **, p<0,05 - *)

7 DISKUZE

Výsledky našich studií mohou být shrnuty následovně: 1.) retrospektivní analýza dat pacientů konvertovaných na takrolimus pro opakované akutní buněčné rejekce prokázala signifikantní pokles výskytu rejekčních epizod a významný pokles hladiny cholesterolu po konverzi na takrolimus, 2.) prospektivní sledování pacientů s dyslipidemií prokázalo klinickou účinnost konverze z fluvastatinu na atorvastatin se snížením hladin celkového cholesterolu, LDL cholesterolu a Apo-B, a bezpečnost kombinované léčby atorvastatinem a takrolimem.

7.1 Ovlivnění akutních rejekcí po konverzi na takrolimus:

Jedním z nejvýznamějších imunologických rizikových faktorů rozvoje koronární nemoci štěpu je počet, trvání a stupeň akutních buněčných rejekcí. Dokonce i opakované buněčné rejekce mírného stupně v prvních třech měsících po OTS mohou zvýšit riziko progresu intimálního zluštění (podle intravaskulárního ultrazvuku) [28].

Existuje několik studií zabývajících se konverzí na takrolimus v případě rekurentních akutních rejekcí po OTS, ovšem většina prací byla provedena na malých souborech pacientů [13, 14, 29, 30]. V retrospektivní studii Yamani et al. [13] analyzovali skupinu 21 pacientů, kteří byli konvertováni z cyklosporinu A na takrolimus pro rekurentní akutní buněčné rejekce rezistentní na steroidní léčbu. Srovnávací skupinou bylo 6 pacientů, kteří byli pro opakované rejekce léčeni monoklonální protilátkou OKT3. Akutní buněčné rejekce se v 85% objevily v prvních 3 měsících po transplantaci. Po konverzi na takrolimus byl zaznamenán signifikantní pokles počtu dalších akutních rejekcí a takrolimus se ukázal být více efektivním, nežli OKT3. V další retrospektivní studii De Bonis a spol. [14] hodnotili konverzi na takrolimus celkem u 15 pacientů, z nichž u 6 byla konverze provedena pro perzistentní akutní buněčné rejekce, u 4 pro rekurentní akutní rejekce a u 5 pro nesnášenlivost cyklosporinu A. Průměrný počet epizod akutních rejekcí na pacienta po konverzi poklesl z $2,1 \pm 1,6$ na $0,2 \pm 0,4$ a u pacientů konvertovaných pro intoleranci cyklosporinu A nebyla dále zaznamenána žádná akutní rejekce.

Výsledky naší první studie byly v souladu s uvedenými studiemi. Po konverzi na takrolimus došlo u našeho souboru pacientů nejen k ovlivnění právě probíhající rejekce, ale následně i ke snížení výskytu akutních buněčných rejekcí vyššího stupně (pokles bodového skóre akutních rejekcí z $8,75 \pm 1,61$ před konverzí na $2,56 \pm 1,59$ po konverzi). Po konverzi jsme zaznamenali akutní rejekci vyššího stupně pouze u 4 pacientů (3 x Banff 2, 1 x Banff 3A), žádná z těchto epizod si nevyžádala léčbu pulzními kortikoidy, bylo pouze upraveno dávkování bazální imunosupresivní terapie.

7.2 Ovlivnění hladin lipidů po konverzi na takrolimus:

Prevalence dyslipidémie po transplantaci srdce je vysoká - vyskytuje se u 60-80% pacientů. Hladina cholesterolu se zvyšuje relativně brzy po transplantaci – nejčastěji mezi prvním a šestým měsícem po OTS [16]. Mezi rizikové faktory rozvoje dyslipidémie patří denní a kumulativní dávka prednisonu, BMI $> 25 \text{ kg/m}^2$ a předtransplantační diagnóza ischemické choroby srdeční [17, 31].

Z výsledků několika studií vyplývá, že rizikovým faktorem dyslipidémie je i léčba cyklosporinem A. Cyklosporin A inhibuje cholesterol-21-hydroxylázu, má negativní vliv na tvorbu žlučových kyselin a snižuje expresi receptorů pro LDL. Cyklosporin A se rovněž váže na LDL receptory, a tím snižuje možnost absorbovat cholesterol z krve [32]. Tento hyperlipidemický účinek je u takrolimu menší, a proto v některých studiích se po konverzi z cyklosporinu A na takrolimus snížila hladina lipidů [12, 18]. V randomizované, prospektivní, multicentrické studii Taylor a spol. [18] hodnotili vedle výskytu akutních rejekcí po konverzi na takrolimus i vliv na krevní tlak a změny hladin sérových lipidů. Pacienti byli po transplantaci rozděleni do dvou skupin, kdy v první skupině byl bazálním imunosupresivem takrolimus a ve druhé cyklosporin A. Po ročním sledování byly hladiny celkového cholesterolu, triacylglycerolů, LDL i HDL významně nižší ve skupině s takrolimem a ve skupině s cyklosporinem A byl zaznamenán větší výskyt nově vzniklé hypertenze vyžadující antihypertenzní terapii. Naopak ve studii De Bonise a spol. [14] zůstala hladina cholesterolu po konverzi nezměněna. V naší první retrospektivní studii došlo po konverzi ke statisticky významnému poklesu hladin cholesterolu, ale změny systolického a diastolického krevního tlaku nebyly významné.

Je shoda, že konverze na takrolimus nemá u většiny nemocných dostatečný hypolipidemický účinek. Ovlivnění lipidového metabolismu je přitom v této skupině nemocných zvláště důležité, neboť je zde riziko akcelerované aterosklerózy. Je známo,

že například po transplantaci ledviny nejvíce nemocných umírá na komplikace aterosklerózy [33, 34]. U nemocných po transplantaci srdce je situace ještě komplikovanější, neboť venčité tepny jsou ohroženy a postihovány nejen „klasickou“ aterosklerózou, ale i chronickou rejekcí.

Logickým krokem bylo využití statinů jako jednoho z nejučinnějších postupů k ovlivnění hladiny cholesterolu. Byly provedeny dvě prospektivní randomizované studie, které prokázaly vysokou účinnost statinů ve snižování LDL-cholesterolu a jejich pozitivní efekt na rozvoj koronární nemoci štěpu [35, 36]. I když se předpokládá, že na tomto příznivém účinku statinů se podílejí i jiné mechanismy, efekt na snížení hladiny cholesterolu se považuje za nejvýznamější.

Kobashigawa a spol. [35] randomizoval 97 pacientů časně po transplantaci srdce do skupiny s pravastatinem (n=47) a skupiny s placebem na 12 měsíců. Skupina s pravastatinem měla signifikantně nižší hladiny celkového cholesterolu (193 ± 36 vs. 248 ± 49 mg/dl, $p < 0.001$), lepší míru přežití (94% vs. 78%, $p = 0.025$), nižší incidenci koronární nemoci štěpu (dle angiografií a autopsií) a menší progresi intimálního ztlustění a intimálního indexu (podle intravaskulárního ultrazvuku). Pravastatin měl navíc vliv na snížení prevalence akutních rejekcí a aktivity NK-buněk. Osmdesát jedna procent pacientů z kontrolní skupiny bylo následně převedeno na statiny. Po deseti letech sledování byla stále signifikantně lepší míra přežití ve skupině pacientů, u které bylo podávání pravastatinu zahájeno časně po OTS (68% vs. 48%, $p = 0.026$) [37]. V této skupině bylo rovněž méně angiograficky prokázané koronární nemoci štěpu.

Ve druhé studii Wenke a spol. [36] porovnávali léčbu simvastatinem (n=35) a diety (n=37). Skupina se simvastatinem měla po čtyřletém sledování signifikantně lepší míru přežívání (88.6% vs. 70.3%), nižší incidenci angiograficky verifikované koronární nemoci štěpu, menší intimální ztlustění a nižší intimální index (dle intravaskulárního ultrazvuku). Taktéž tato studie pokračovala a ačkoli u téměř všech pacientů ze druhé skupiny bylo zahájeno podávání statinů, po jedenácti letech bylo přežívání i výskyt koronární nemoci stále lepší v původně první skupině [38]. Obě výše zmíněné studie ukazují na důležitost statinů v léčbě po OTS a potřebu jejich podávání již časně po transplantaci.

Z recentních menších studií je možno citovat například prospektivní studii s rosuvastatinem [39]. Bylo zde sledováno 21 pacientů po OTS s dyslipidemií, kterým byl podáván rosuvastatin (10 mg denně) spolu se standardní imunosupresí. Po šesti týdnech u 76 % nemocných poklesl poměr celkového cholesterolu:HDL-cholesterolu pod 4, u 70 % nemocných poklesla hladina LDL-cholesterolu pod 2,5 mmol/l a hladina celkového cholesterolu poklesla pod 5,2 mmol/l u 80 % pacientů.

Problém současného užívání statinů a imunosupresiv spočívá ve zvýšeném výskytu rhabdomyolýzy. Tato komplikace se popisuje i v souborech netransplantovaných pacientů, zde však jde o málo častou komplikaci (0,44-0,54 případů na 100 000 pacientů/rok) [40]. Interakce s imunosupresivou spočívá v kompetitivním inhibičním efektu imunosupresiv na cytochrom P 450 izoenzym 3A4, který je součástí metabolismu mnoha léků a v inhibici P-glykoproteinu – efluxní transmembránové pumpy, která má významnou roli v absorpci, distribuci a eliminaci řady léčiv [41]. Výsledkem je několikanásobné zvýšení koncentrace statinů v krvi, což s sebou nese zvýšení rizika poškození kosterních svalů. V tomto ohledu se za nejbezpečnější považuje fluvastatin, který je metabolizován přes jiný izoenzym cytochromu P 450 – izoenzym 2C9 [21], a rovněž hydrofilní preparáty – pravastatin a rosuvastatin.

Pro svou bezpečnost je tedy fluvastatin v současnosti jedním z nejvíce užívaných statinů po OTS, avšak u některých nemocných je jeho hypolipidemický účinek relativně mírný. Naopak u atorvastatinu je účinek na snižování celkového cholesterolu a triacylglycerolů silnější než u ostatních statinů [24-26]. V naší druhé studii jsme se zaměřili právě na skupinu nemocných, u kterých byla hypercholesterolemie obtížně korigovatelná fluvastatinem.

Riziko interakce závisí nejen na volbě statinu, ale i na volbě kalcineurinového inhibitoru. To dokládá studie provedená na zdravých dobrovolnících: zatímco současné podávání cyklosporinu A a atorvastatinu vedlo 15-ti násobnému zvýšení sérové hladiny statinu, podání takrolimu hladinu atorvastatinu neovlivnilo [27]. U nemocných po transplantacích nebyla obdobná farmakokinetická studie provedena, ale lze předpokládat, že ani v těchto případech by ke zvýšení hladiny statinu nemělo dojít. Ačkoli v naší práci jsme hladiny atorvastatinu nestanovili, nepřímým důkazem je chybění jakýchkoli klinických i laboratorních příznaků poškození kosterního svalstva.

7.3 Ovlivnění renálních funkcí

Nevýhodou takrolimu zůstává jeho nefrotoxický efekt. Jak vyplývá z výsledků většiny studií, nefrotoxicita takrolimu a cyklosporinu A je srovnatelná. Například v Evropské multicentrické pilotní studii s takrolimem [42] nebyly po jednoletém sledování žádné signifikantní rozdíly renálních funkcí mezi skupinou pacientů s takrolimem a skupinou s cyklosporinem A. K podobným výsledkům dospěli i Meiser a spol. [43]. Rovněž v obou našich studiích jsme nezaznamenali statisticky významný rozdíl hladin sérového kreatininu před a po konverzi na takrolimus, ani v průběhu další léčby. U některých pacientů došlo krátce po konverzi k elevaci kreatininu, avšak u většiny nemocných byla prokázána souvislost s nadměrným vzestupem hladiny takrolimu. Po úpravě dávky došlo opět k poklesu kreatininu. Výjimkou byla pacientka, u které elevace kreatininu i nadále progredovala a po prvním měsíci byla nutná konverze zpět na cyklosporin A. Z tohoto důvodu by u některých nemocných bylo vhodné provádět konverzi během hospitalizace s možností častých kontrol renálních parametrů.

7.4 Takrolimus a porucha metabolismu glukózy

Diabetes mellitus je vážnou komplikací po transplantaci solidních orgánů a jeho incidence po transplantaci srdce se pohybuje okolo 13 % [44]. Z výsledků několika studií vyplývá, že při terapii takrolimem je výskyt nově vzniklého diabetu vyšší než při léčbě cyklosporinem A [12, 45, 46]. Ve velké Evropské studii byl porovnáván vliv takrolimu a cyklosporinu na glukózový metabolismus u 314 nemocných (157 pacientů v každé skupině). Ve skupině nemocných léčených takrolimem byl nově vzniklý diabetes mellitus zaznamenán u 20,3% pacientů, zatímco ve skupině s cyklosporinem A pouze u 10,5 % pacientů.

Experimentální studie ukázaly, že takrolimus snižuje sekreci inzulínu přes deficientní transkripci mRNA pro inzulín. Tento účinek je pravděpodobně zprostředkován proteinovým ligandem FKBP-12 a kalcineurinovou inhibicí β buněk pankreatu [45].

V našich studiích jsme po konverzi na takrolimus nezaznamenali statisticky významné zvýšení glykemií, což však může souviset s relativně malými soubory nemocných. Ve druhé studii byl u 6 pacientů diabetes mellitus přítomný již před konverzí na takrolimus (u 4 nemocných kompenzace dietou, u 2 nemocných intenzifikovaný inzulínový režim) a ani u této podskupiny nedošlo k významné dekompenzaci již stávajícího onemocnění.

7.5 Limitace studie

Naše studie měly několik limitací. V první řadě to byl relativně malý soubor pacientů. V několika již zmíněných studiích a rovněž v naší první práci byl patrný pokles hladiny lipidů po konverzi z cyklosporinu A na takrolimus [12, 18]. Z toho vyplývá limitace druhé studie – nelze s přesností říci, nakolik měl ve snížení lipidového profilu vliv atorvastatin při kombinaci s takrolimem. Třetím problémem bylo, že ačkoli byl patrný signifikantní pokles hladin celkového cholesterolu a LDL-cholesterolu, pouze velmi málo nemocných dosáhlo cílových hladin dle doporučení pro léčbu dyslipidémie pro vysoce rizikovou skupinu [47] – tj. hladiny celkového cholesterolu pod 4,0 mmol/l, LDL-cholesterolu pod 2,0 mmol/l a Apo-B nad 0,8 g/l. Snížení hladiny celkového cholesterolu \leq 4,0 mmol/l bylo dosaženo pouze u 4 nemocných po měsíci léčby takrolimem a atorvastatinem a pouze u 3 pacientů

po 13 měsících. Lze však předpokládat, že zvýšením dávek atorvastatinu by bylo možno hladiny lipidů dále ovlivnit.

8 ZÁVĚR

Novější imunosupresivum ze skupiny kalcineurinových inhibitorů – takrolimus – je vhodnou léčbou nejen probíhající akutní rejekce, ale i u pacientů při opakovaných epizodách buněčné rejekce. Patrný je i příznivý vliv takrolimu na dyslipidémii, a to nejen jeho vlastním účinkem, ale zejména v kombinaci s atorvastatinem. Tato kombinace se ukázala být bezpečnou a účinnou. Po 13 měsíčním sledování se významně snížila hladina nejen celkového cholesterolu, ale i LDL-cholesterolu a Apo-B.

Výsledky uvedených studií byly i jedním z podkladů pro praktické doporučení užívání takrolimu v našem kardiocentru. Takrolimus je po OTS podáván jako imunosupresivum první volby pacientům s přítomností preformovaných protilátek proti panelu lymfocytů či přímo proti lymfocytům dárce (pozitivní cross-match), u mladších pacientů a u nemocných s ICHS a/nebo známou anamnézou poruchy lipidového metabolismu. Indikací ke konverzi z cyklosporinu A na takrolimus je především opakovaný suboptimální nález v EMB. Druhou nejčastější indikací je špatně kontrolovatelná porucha lipidového metabolismu.

9 LITERATURA

1. Málek I. *Transplantace srdce, pohled kardiologa*. Triton, Praha, 2004; 108.
2. Vymětalová Y, Málek I. Akutní rejekce po transplantaci srdce. *Kardio Forum*. 2005; **3**: 12-5.
3. Kubo SH, Naftel DC, Mills RM, Jr., et al. Risk factors for late recurrent rejection after heart transplantation: a multiinstitutional, multivariable analysis. Cardiac Transplant Research Database Group. *J Heart Lung Transplant*. 1995; **14**: 409-18.
4. Taylor DO, Edwards LB, Boucek MM, et al. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-fourth official adult heart transplant report--2007. *J Heart Lung Transplant*. 2007; **26**: 769-81.
5. Billingham ME, Cary NR, Hammond ME, et al. A working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart and lung rejection: Heart Rejection Study Group. The International Society for Heart Transplantation. *J Heart Transplant*. 1990; **9**: 587-93.
6. Yamani MH, Yousufuddin M, Starling RC, et al. Does acute cellular rejection correlate with cardiac allograft vasculopathy? *J Heart Lung Transplant*. 2004; **23**: 272-6.
7. Segovia J, Gomez-Bueno M, Alonso-Pulpon L. Treatment of allograft vasculopathy in heart transplantation. *Expert Opin Pharmacother*. 2006; **7**: 2369-83.
8. Reichenspurner H. Overview of tacrolimus-based immunosuppression after heart or lung transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2005; **24**: 119-30.
9. Goto T, Kino T, Hatanaka H, et al. FK 506: historical perspectives. *Transplant Proc*. 1991; **23**: 2713-7.
10. Hegarová M, Málek I. Imunosupresiva po transplantaci srdce. *Kardio Forum*. 2005; **3**: 16-21.
11. Montori VM, Basu A, Erwin PJ, Velosa JA, Gabriel SE, Kudva YC. Posttransplantation diabetes: a systematic review of the literature. *Diabetes Care*. 2002; **25**: 583-92.
12. Grimm M, Rinaldi M, Yonan NA, et al. Superior prevention of acute rejection by tacrolimus vs. cyclosporine in heart transplant recipients--a large European trial. *Am J Transplant*. 2006; **6**: 1387-97.
13. Yamani MH, Starling RC, Pelegrin D, et al. Efficacy of tacrolimus in patients with steroid-resistant cardiac allograft cellular rejection. *J Heart Lung Transplant*. 2000; **19**: 337-42.
14. De Bonis M, Reynolds L, Barros J, Madden BP. Tacrolimus as a rescue immunosuppressant after heart transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2001; **19**: 690-5.
15. Jiang H, Wynn C, Pan F, Ebbs A, Erickson LM, Kobayashi M. Tacrolimus and cyclosporine differ in their capacity to overcome ongoing allograft rejection as a result of their differential abilities to inhibit interleukin-10 production. *Transplantation*. 2002; **73**: 1808-17.
16. Miller LW, Schlant RC, Kobashigawa J, Kubo S, Renlund DG. 24th Bethesda conference: Cardiac transplantation. Task Force 5: Complications. *J Am Coll Cardiol*. 1993; **22**: 41-54.
17. Rudas L, Pflugfelder PW, McKenzie FN, Menkis AH, Novick RJ, Kostuk WJ. Serial evaluation of lipid profiles and risk factors for development of hyperlipidemia after cardiac transplantation. *Am J Cardiol*. 1990; **66**: 1135-8.
18. Taylor DO, Barr ML, Radovancevic B, et al. A randomized, multicenter comparison of tacrolimus and cyclosporine immunosuppressive regimens in cardiac transplantation: decreased hyperlipidemia and hypertension with tacrolimus. *J Heart Lung Transplant*. 1999; **18**: 336-45.

19. Ballantyne CM, Corsini A, Davidson MH, et al. Risk for myopathy with statin therapy in high-risk patients. *Arch Intern Med.* 2003; **163**: 553-64.
20. Omar MA, Wilson JP. FDA adverse event reports on statin-associated rhabdomyolysis. *Ann Pharmacother.* 2002; **36**: 288-95.
21. Spinarova L, Toman J. Fluvastatin in patients after heart transplantation. *Vnitr Lek.* 1998; **44**: 13-6.
22. Češka R, Vnoučková K. Fluvastatinum. *Remedia.* 2004; **14**: 91-100.
23. Keogh A, Macdonald P, Kaan A, Aboyoun C, Spratt P, Mundy J. Efficacy and safety of pravastatin vs simvastatin after cardiac transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2000; **19**: 529-37.
24. Jones P, Kafonek S, Laurora I, Hunninghake D. Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin, and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia (the CURVES study). *Am J Cardiol.* 1998; **81**: 582-7.
25. Magnani G, Carinci V, Magelli C, Potena L, Reggiani LB, Branzi A. Role of statins in the management of dyslipidemia after cardiac transplant: randomized controlled trial comparing the efficacy and the safety of atorvastatin with pravastatin. *J Heart Lung Transplant.* 2000; **19**: 710-5.
26. Patel DN, Pagani FD, Koelling TM, et al. Safety and efficacy of atorvastatin in heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant.* 2002; **21**: 204-10.
27. Lemahieu WP, Hermann M, Asberg A, et al. Combined therapy with atorvastatin and calcineurin inhibitors: no interactions with tacrolimus. *Am J Transplant.* 2005; **5**: 2236-43.
28. Valantine H. Cardiac allograft vasculopathy after heart transplantation: risk factors and management. *J Heart Lung Transplant.* 2004; **23**: S187-93.
29. Mentzer RM, Jr., Jahania MS, Lasley RD. Tacrolimus as a rescue immunosuppressant after heart and lung transplantation. The U.S. Multicenter FK506 Study Group. *Transplantation.* 1998; **65**: 109-13.
30. Onsager DR, Canver CC, Jahania MS, et al. Efficacy of tacrolimus in the treatment of refractory rejection in heart and lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant.* 1999; **18**: 448-55.
31. Akhlaghi F, Jackson CH, Parameshwar J, Sharples LD, Trull AK. Risk factors for the development and progression of dyslipidemia after heart transplantation. *Transplantation.* 2002; **73**: 1258-64.
32. Bilchick KC, Henrikson CA, Skojec D, Kasper EK, Blumenthal RS. Treatment of hyperlipidemia in cardiac transplant recipients. *Am Heart J.* 2004; **148**: 200-10.
33. Jeloka TK, Ross H, Smith R, et al. Renal transplant outcome in high-cardiovascular risk recipients. *Clin Transplant.* 2007; **21**: 609-14.
34. Kasiske BL, Guijarro C, Massy ZA, Wiederkehr MR, Ma JZ. Cardiovascular disease after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 1996; **7**: 158-65.
35. Kobashigawa JA, Katznelson S, Laks H, et al. Effect of pravastatin on outcomes after cardiac transplantation. *N Engl J Med.* 1995; **333**: 621-7.
36. Wenke K, Meiser B, Thiery J, et al. Simvastatin reduces graft vessel disease and mortality after heart transplantation: a four-year randomized trial. *Circulation.* 1997; **96**: 1398-402.
37. Kobashigawa JA, Moriguchi JD, Laks H, et al. Ten-year follow-up of a randomized trial of pravastatin in heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant.* 2005; **24**: 1736-40.
38. Wenke K, Meiser B, Thiery J, Reichart B. Impact of simvastatin therapy after heart transplantation an 11-year prospective evaluation. *Herz.* 2005; **30**: 431-2.
39. Samman A, Imai C, Straatman L, Frolich J, Humphries K, Ignaszewski A. Safety and efficacy of rosuvastatin therapy for the prevention of hyperlipidemia in adult cardiac transplant recipients. *J Heart Lung Transplant.* 2005; **24**: 1008-13.

40. Arora R, Liebo M, Maldonado F. Statin-induced myopathy: the two faces of Janus. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2006; **11**: 105-12.
41. Pechandová K, Buzková H, Slanař O, Perlík F. Efluxní transmembránový transportér – P-glykoprotein. *Klin Biochem Metab.* 2006, No. 4; **14**: 196-201.
42. Reichart B, Meiser B, Vigano M, et al. European Multicenter Tacrolimus (FK506) Heart Pilot Study: one-year results--European Tacrolimus Multicenter Heart Study Group. *J Heart Lung Transplant.* 1998; **17**: 775-81.
43. Meiser BM, Uberfuhr P, Fuchs A, et al. Single-center randomized trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporine in the prevention of acute myocardial rejection. *J Heart Lung Transplant.* 1998; **17**: 782-8.
44. Marchetti P. New-onset diabetes after transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2004; **23**: S194-201.
45. Mazali FC, Lalli CA, Alves-Filho G, Mazzali M. Posttransplant diabetes mellitus: incidence and risk factors. *Transplant Proc.* 2008; **40**: 764-6.
46. Jindal RM. Posttransplant diabetes mellitus - a review. *Transplantation.* 1994; **58**: 1289-98.
47. Vaverková H, Soška V, Rosolová H, et al. Doporučení pro diagnostiku a léčbu dyslipidemií v dospělosti, vypracované výborem České společnosti pro aterosklerózu *Cor Vasa.* 2007; **49**: K 73-K 86.

10 SEZNAM ZKRATEK

| | | |
|----------|---|--------------------------------------|
| OTS | - | ortotopická transplantace srdce |
| ATG | - | antilymfocytární globulín |
| IL | - | interleukín |
| TNF | - | tumor necrosis factor |
| TOR | - | target of rapamycin |
| FKPB | - | FK-binding protein |
| LDL | - | low-density lipoprotein |
| HDL | - | high-density lipoprotein |
| VLDL | - | very-low-density lipoprotein |
| NK | - | natural killers |
| BMI | - | body mass index |
| HMG-CoA | - | 3-hydroxy-3-methylglutaryl koenzym A |
| HLA | - | human leukocyte antigen |
| CK | - | kreatinkináza |
| CK-MB | - | muscle-brain frakce kreatinkinázy |
| AST | - | aspartátaminotransferasa |
| ALT | - | alaninaminotransferasa |
| GMT | - | gama-glutamyltransferasa |
| ALP | - | alkalická fosfatasa |
| LDH | - | laktátdehydrogenasa |
| Apo-A(B) | - | apolipoprotein-A(B) |

VLASTNÍ PUBLIKACE:

1. Publikace in extenso, které jsou podkladem disertace

- Dufková B., Málek I., Vymětalová Y., Hošková L., Podzimková M., Kautzner J.: Efficacy and safety of combined therapy with atorvastatin and tacrolimus in heart transplant recipients. *Cor Vasa* 2008;50(10):368-372.
- Dufková B., Málek I., Vymětalová Y. Konverze na tacrolimus u pacientů po transplantaci srdce s rekurentní rejekcí. *Cor Vasa* 2006;48(12):421–425.
- Skalicka Blanka, Kubanek Milos, Malek Ivan, Vymetalova Yevheniya, Hoskova Lenka, Podzimkova Mariana, Kautzner Josef: Conversion to tacrolimus and atorvastatin in cyclosporine-treated heart transplant recipients with dyslipidemia refractory to fluvastatin. *J Heart Lung Transplant* 2009;28:598–604. (IF 3,32)
- Blanka Skalická, Ivan Málek, Miloš Kubánek, Jevgenija Vymětalová, Josef Kautzner: Long-term efficacy and safety of conversion to tacrolimus in heart transplant recipients with ongoing or recurrent acute cellular rejection – přijato v časopise *Physiological Research*. (IF 1,5)

2. Publikace in extenso bez vztahu k tématu dizertace

- Dufková B., Málek I., Vymětalová Y., Hošková L., Skalský I., Pirk J., Vrbská J., Marek T., Bohuslavová R., Hubáček J.A., Kautzner J: Myxoma of donor origin in a transplanted heart. *J Heart Lung Transplant* 2007;26(8): 865-7. (IF 2,83).
- Vymetalova Y., Bohuslavova R., Hubacek JA., Dufkova B., Kocik M., Malek I., Kautzner J. High prevalence of microchimerism in females. *Transpl Proc* 2008;40(10):3685-3687. (IF 0,96).
- Kocík M., Dufková B., Málek I. Koronární nemoc srdečního štěpu. *Kardioforum*, 2005;3(4):25-28.