

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

1. lékařská fakulta



Přínos nových imunosupresiv po transplantaci srdce

Zhodnocení dvou klinických indikací takrolimu

Disertační práce

MUDr. Blanka Skalická

Praha 2008

Školitel:

doc. MUDr. Ivan Málek, CSc., Klinika kardiologie, Institut klinické a experimentální medicíny, Vídeňská 1958/9, Praha 4, 140 21

Doktorand:

MUDr. Blanka Skalická, Klinika kardiologie, Institut klinické a experimentální medicíny, Vídeňská 1958/9, Praha 4, 140 21, blanka.dufková@medicon.cz

PROHLÁŠENÍ

Studie zahrnuté v této práci byly provedeny na Klinice kardiologie Institutu klinické a experimentální medicíny v Praze. Disertační práce byla vypracována v rámci prezenční a následně kombinované formy doktorského studia na 1. lékařské fakultě UK v Praze v oboru fyziologie a patofyziologie člověka.

Svému školiteli doc. MUDr. Ivanu Málkovi, CSc bych chtěla poděkovat za inspiraci a podporu během celého postgraduálního studia i během práce sekundární lékařky na klinice kardiologie. Dále bych chtěla poděkovat kolegům a sestřičkám, kteří se podíleli na realizaci projektů. Děkuji také své rodině za podporu a toleranci.

V Praze 27.8.2008

OBSAH

1.	ÚVOD	4
2.	AKUTNÍ REJEKCE	5
3.	IMUNOSUPRESIVNÍ PROFYLAXE PO TRANSPLANTACI SRDCE	6
3.1.	Cyklosporin A	6
3.2.	Azathioprin	8
3.3.	Glukokortikoidy	8
3.4.	Přínos mykofenolát mofetilu	8
3.5.	TOR inhibitory	9
4.	TAKROLIMUS	9
4.1.	Účinek a profil toxicity	9
4.2.	Vliv na akutní rejekce	10
4.3.	Přínos v léčbě dyslipidemií	10
5.	VÝCHODISKA PRÁCE	13
6.	STUDIE 1. Konverze na takrolimus u pacientů po transplantaci srdce s rekurentní rejekcí	13
6.1.	Charakteristika studie	13
6.2.	Soubor nemocných	13
6.3.	Imunosuprese a medikace před konverzí	14
6.4.	Metodika	14
6.5.	Výsledky	15
7.	STUDIE 2. Bezpečnost a účinnost kombinované terapie atorvastatinem a takrolimem u pacientů po OTS	16
7.1.	Charakteristika studie	16
7.2.	Soubor nemocných	17
7.3.	Metodika	18
7.4.	Výsledky	19
8.	DISKUZE	22
8.1.	Ovlivnění akutních rejekcí po konverzi na takrolimus:	23
8.2.	Ovlivnění hladin lipidů po konverzi na takrolimus:	24
8.3.	Ovlivnění renálních funkcí	27
8.4.	Takrolimus a porucha metabolismu glukózy	28
8.5.	Limitace studie	28
9.	ZÁVĚR	29
10.	LITERATURA	30
11.	SEZNAM ZKRATEK	37
12.	VLASTNÍ PUBLIKACE	38

1 ÚVOD

Transplantace srdce se v posledních 30 letech stala neúčinnější 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.

Protože podrobnosti o jednotlivých imunosupresivech nejsou ve všeobecném povědomí, snažili jsme se v úvodu práce jejich účinky čtenářům přiblížit.

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].

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

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].

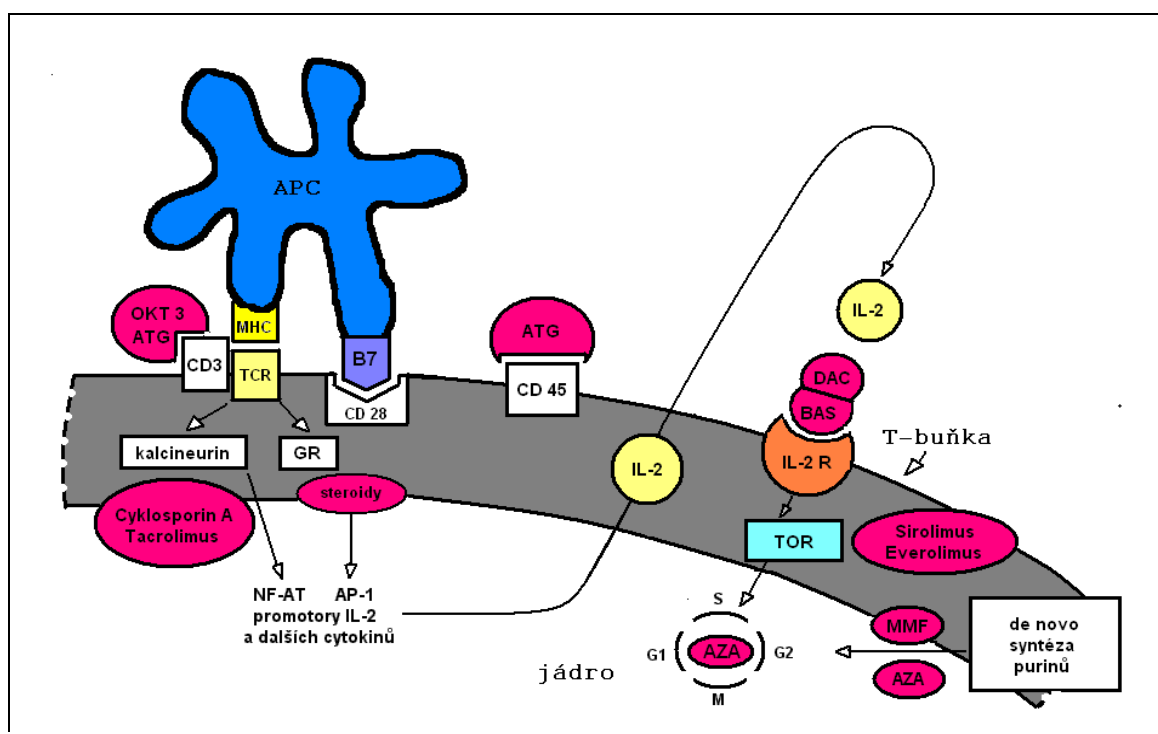
3 IMUNOSUPRESIVNÍ PROFYLAXE PO TRANSPLANTACI

SRDCE

3.1 Cyklosporin A

Cyklosporin A patří do skupiny *kalcineurinových inhibitorů*. Jejich účinkem je blokována syntéza interleukinu-2 (IL-2) a mnoha jiných cytokinů v T-lymfocytech, které jsou důležitými mediátory v akutní rejekci štěpu. V cytoplasmě T-lymfocytů se cyklosporin A váže na svůj specifický imunofilin – cyklofilin. Komplex cyklosporinu A a cyklofilinu inhibuje aktivitu kalcineurinu (kalcium/kalmodulin dependentní fosfatáza) a přes kaskádu mnoha dalších interakcí dochází k inhibici transkripce genu pro IL-2 a tím k inhibici syntézy IL-2 (**Obr.1**) [8]. Cyklosporin A je metabolizován cestou cytochromu P-450 izoenzym 3A4 v hepatocytech, který je však zodpovědný za metabolismus i mnoha dalších farmak. Z toho vyplývají četné lékové interakce s cyklosporinu A [9]. Spektrum nežádoucích účinků cyklosporinu A je bohužel široké. Cyklosporin A je nefrotoxický a neurotoxický, podílí se na vzniku arteriální hypertenze, dyslipidémie, diabetes mellitus, hyperkalémie, hyperurikémie a dalších komplikací. Nelze opominout ani zvýšený výskyt gingivální hyperplazie a hirsutismu v souvislosti s podáváním cyklosporinu A.

Cyklosporin A byl zaveden do praxe na počátku 80. let minulého století a zásadně zlepšil přežívání nemocných [10]. Do skupiny kalcineurinových inhibitorů patří rovněž takrolimus, který bude podrobně zmíněn v samostatné kapitole [11].



Obr. 1. Princip akutní rejekce a mechanismus účinku imunosupresiv

Akutní tzv. celulární rejekce transplantovaného orgánu je děj zprostředkovaný především T-lymfocyty. Stimulem pro imunitní reakci je cizorodý antigen prezentovaný antigen prezentující buňkou (APC), nejčastěji makrofágem, dendritickou buňkou nebo B lymfocitem. APC mohou být původem od dárce i příjemce. Antigen na povrchu APC je rozpoznán receptory T buněk (TCR-CD3). Aktivace T-buňky probíhá optimálně, pokud dojde ke kostimulaci, obvykle receptoru CD 28 na povrchu T buňky vazbou na molekulu B7 APC (CD 80, 86). Stimulace TCR CD3 vede k aktivaci kalcineurinu v cytoplazmě T buňky, který defosforyluje transkripční faktor NF-AT (nuclear factor of activated T cells). Defosforylovaný NF-AT je schopen vstoupit do jádra T buňky a vázat se na specifické úseky DNA kódující cytokiny včetně interleukinu 2 (IL-2). Secernovaný IL-2 se váže na receptor (IL-2 R) a vede ke klonální proliferaci T buněk. IL-2 produkovaný těmito T helpéry stimuluje další účastníky imunitní reakce – cytotoxické T lymfocyty, B buňky a killery. IL-2 aktivuje mimo jiné enzym TOR (target of rapamycin), který reguluje transkripci mRNA do proteinů, které ovlivňují buněčný cyklus. Buněčný cyklus T lymfocytů je závislý na de-novo syntéze purinů, pro kterou je klíčový enzym inositol monofosfát dehydrogenáza. (podle Hegarová et al. [11] – se svolením autorky).

3.2 Azathioprin

Proliferace lymfocytů je závislá výhradně na syntéze purinů *de novo*, což je klíčové pro působení azathioprinu, který je *inhibitorem DNA syntézy*. Azathioprin je plazmatickými esterázami nebo neenzymaticky glutathionem konvertovaný na purinový analog, který je zabudován do DNA. Účinkem azathioprinu je rovněž blokován IL-2, ale odlišným mechanismem než u cyklosporinu A. Nejzávažnějším nežádoucím účinkem azathioprinu je myelosuprese a hepatopatie [8].

3.3 Glukokortikoidy

V chronické imunosupresivní profylaxi je nejvíce užívaným kortikoidem prednison. Glukokortikoidy pro svou lipofilitu procházejí volně přes buněčnou membránu, avšak v cytoplasmě již potřebují vazbu na specifický cytoplasmatický receptor. Komplex glukokortikoid – receptor vstupuje do jádra a váže se na kortikoid dependentní elementy v DNA. Tímto je změněna transkripce genů pro mnoho cytokinů, např. IL-2, IL-1, IL-3, IL-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α) a dalších. Inhibice tvorby cytokinů v makrofázích způsobuje ztrátu jejich schopnosti fagocytózy a chemotaxe. Glukokortikoidy tedy zasahují do všech fází aktivace T-lymfocytů [8, 11] Mezi nežádoucí účinky kortikoidů patří např. kushingoidní vzhled, obezita, steroidní diabetes, osteoporóza, hypertenze, dyslipidémie, vznik peptických vředů s nebezpečím gastrointestinálního krvácení, pankreatitida, katarakta a další.

3.4 Přínos mykofenolát mofetilu

Mykofenolát mofetil novějším zástupcem skupiny *inhibitorů DNA syntézy*. Po požití je mykofenolát mofetil hydrolyzován na kyselinu mykofenolovou, která zasahuje do syntézy guanidinu. Mykofenolát je tedy selektivním inhibitorem tvorby purinů *de novo* a poskytuje více specifickou a účinnou inhibici proliferace T a B-lymfocytů [8]. Pro silnější imunosupresivní účinek mykofenolátu ve srovnání s azathioprinem je možno snížit hladiny

cyklosporinu A aniž by došlo ke zvýšení počtu rejekčních epizod. Tímto lze redukovat nefrotoxický účinek cyklosporinu A [12, 13]. Vedlejšími účinky mykofenolátu jsou zejména na dávce závislé gastrointestinální obtíže, zejména nauzea a průjem a dále leukopenie. Azathioprin je postupně vytěšňován z imunosupresivní profylaxe po OTS a v současnosti je již u nově transplantovaných pacientů zahajována terapie mykofenolát mofetilem.

3.5 TOR inhibitory

Makrolid sirolimus a jeho alkylovaný analog everolimus patří do skupiny *TOR (target of rapamycin) inhibitorů*. Sirolimus se v cytoplasmě T-lymfocytů váže na imunofilin FK-binding protein 12 (FKBP-12) a způsobuje inhibici TOR, cytoplasmatického enzymu, který je důležitou součástí přenosu signálů z povrchu T-buněk do jádra. Sirolimem je tímto ovlivněna proliferace a diferenciace T i B-lymfocytů a produkce protilátek. Na rozdíl od kalcineurinových inhibitorů sirolimus inhibuje proliferaci buněk stimulovaných cytokiny (IL-2, IL-4, IL-6) a způsobuje zastavení proliferace buněk v G1 fázi [8, 11, 14]. Mezi nejvýznamnější nežádoucí účinky TOR inhibitorů patří jejich silný hyperlipidemický efekt (zejména vliv na hladinu triglyceridů a LDL-cholesterolu), trombocytopenie a leukopenie.

4 TAKROLIMUS

4.1 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) [15]. 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 [16]. 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 [11]. 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 [17].

4.2 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 [18]. 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 [19-21].

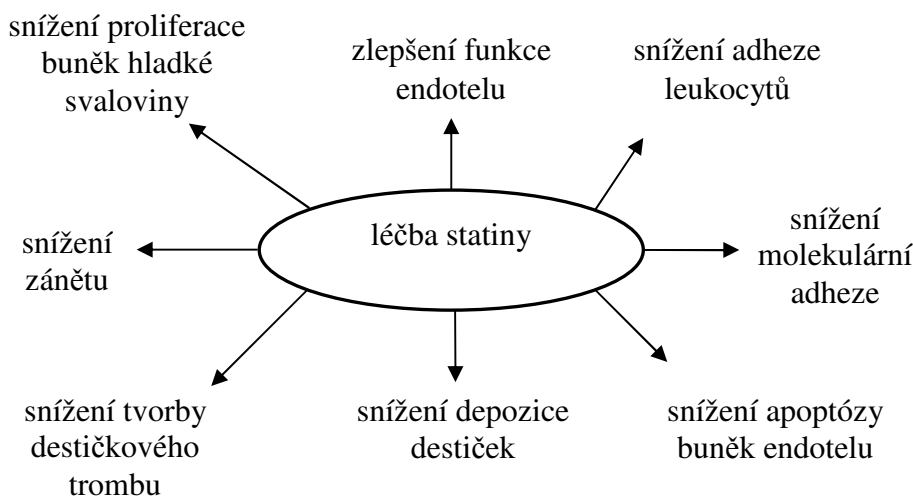
4.3 Přínos v léčbě dyslipidemií

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 [22]. 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 [23]. Kalcineurinové inhibitory obecně zvyšují hladiny lipidů v plazmě, ale tento nežádoucí účinek je u takrolimu menší [18, 24].

V současnosti jsou součástí standardní medikace po OTS statiny, které inhibují 3-hydroxy-3-methylglutaryl koenzym A (HMG-CoA) reduktázu [25-29]. Tímto mechanismem je blokována přeměna HMG-CoA na mevalonát, ze kterého během dalších reakcí tvořen cholesterol. Snížená intracelulární koncentrace cholesterolu v hepatocytech indukuje zvýšenou expresi LDL-receptorů na jejich povrchu, a tak jsou následně vychytávány částice LDL-cholesterolu z plazmy. Zpomalení intrahepatální syntézy cholesterolu je spojeno se snížením rychlosti produkce VLDL a LDL lipoproteinů v játrech [30].

Statiny však kromě vlivu na lipidový metabolismus mají řadu dalších účinků, potenciálně významných i u pacientů po orgánových transplantacích [31-33]. Blokádou HMG-CoA reduktázy je blokována nejen produkce cholesterolu, ale rovněž tvorba například geranylgeranylpyrofosfátu, který je zahrnut v mnoha buněčných procesech [34]. Některé in vitro studie prokázaly, že statiny potlačují indukci hlavního histokompatibilního antigenu (HLA II) přes interferon- γ , a tím snižují aktivaci T-lymfocytů [35]. Dále redukují sérové hladiny C-reaktivního proteinu u pacientů se zvýšeným cholesterolem [36]. Statiny mají přímý vliv na expresi genů pro růstové faktory, které jsou esenciální pro proliferaci buněk hladkého svalstva [31], redukují adhezi monocytů na endoteliální buňky [37], in vitro snižují aktivitu NK-buněk [38] a v neposlední řadě indukují i zvýšenou produkci oxidu dusnatého ovlivněním aktivity endoteliální NO-syntázy [39]. Většina těchto účinků má tak příznivý vliv na zmírnění procesů zahrnutých ve vzniku nebo rozvoji již stávající koronární nemoci štěpu. Tyto a některé další účinky jsou znázorněny na **obr.2**.



Obr. 2. Schéma některých nelipidových účinků statinů (volně podle Česky a spol.[30])

Při výběru vhodného statinu u transplantovaných pacientů jsme limitováni jejich možnou interakcí s cyklosporinem A [40, 41]. 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 [42], který je metabolizován přes izoenzym 2C9 [42, 43]. Dalším bezpečným statinem je pravastatin, který využívá zcela jinou metabolickou cestu [44]. 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 [45-47]. V kombinaci s cyklosporinem A může být nebezpečí myotoxicity mnohem vyšší než s takrolimem [48]. Lemahieu a spol. [48] 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.

5 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.

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

6.1 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.

6.2 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.

6.3 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 %).

6.4 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 1.

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.

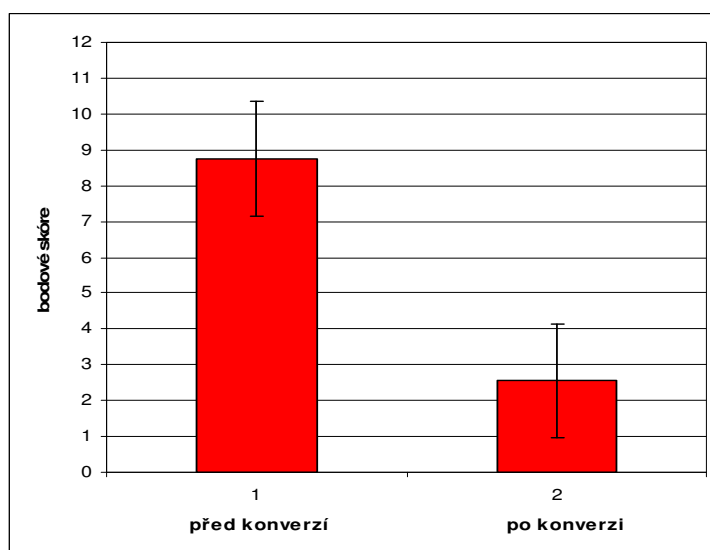
6.5 Výsledky

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.3**), 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 $83 \pm 7,4$ 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.3. – Výskyt akutních buněčných rejekcí před a po konverzi na takrolimus ($p < 0,001$)

7 STUDIE 2. Bezpečnost a účinnost kombinované terapie

atorvastatinem a takrolimem u pacientů po OTS

7.1 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 μ 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.

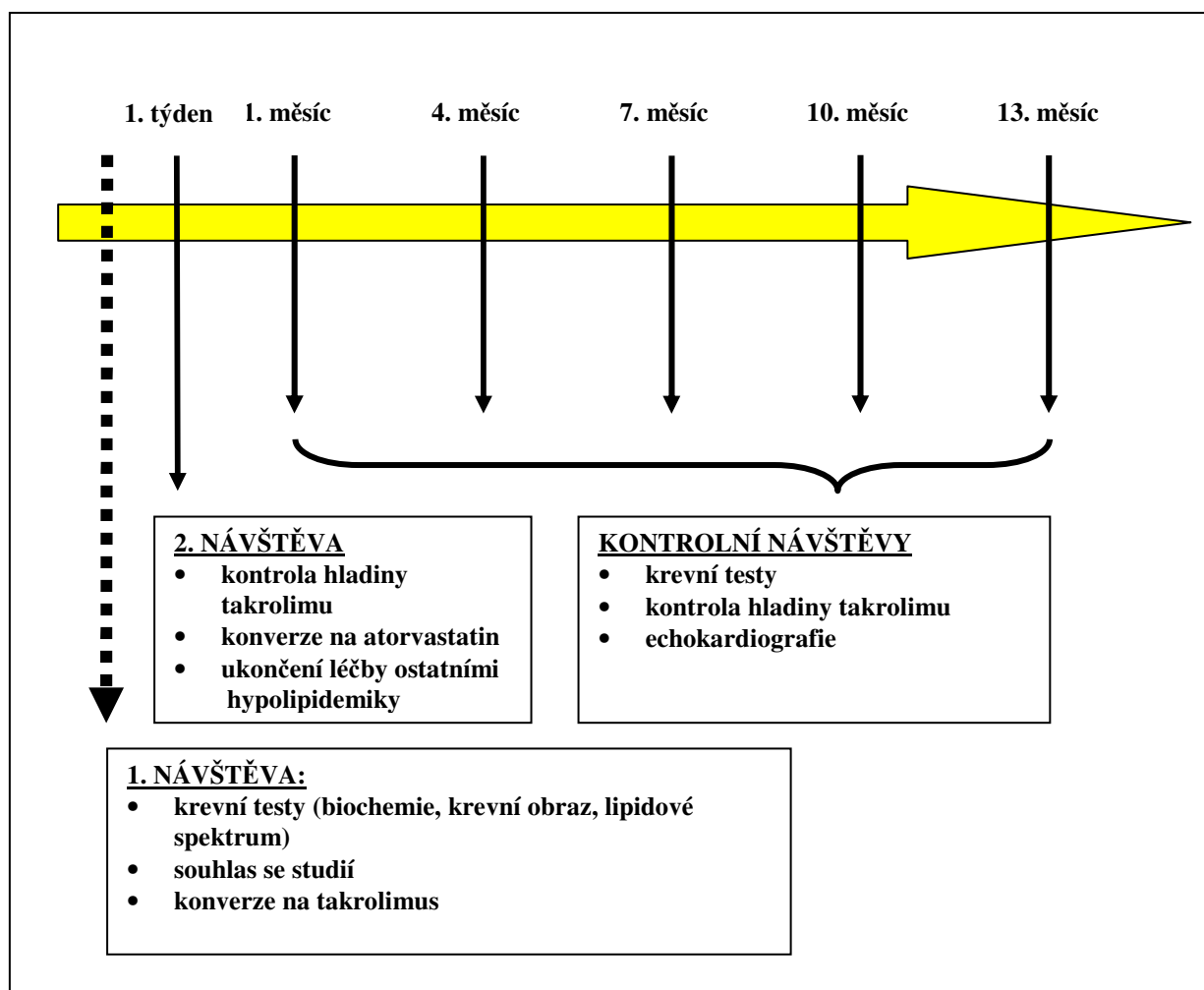
7.2 Soubor nemocných

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.

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.

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, program kontrol je uveden na **Obr. 4.**



Obr.4. - Program kontrol ve studii TAC s atorvastatinem

7.3 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.

7.4 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

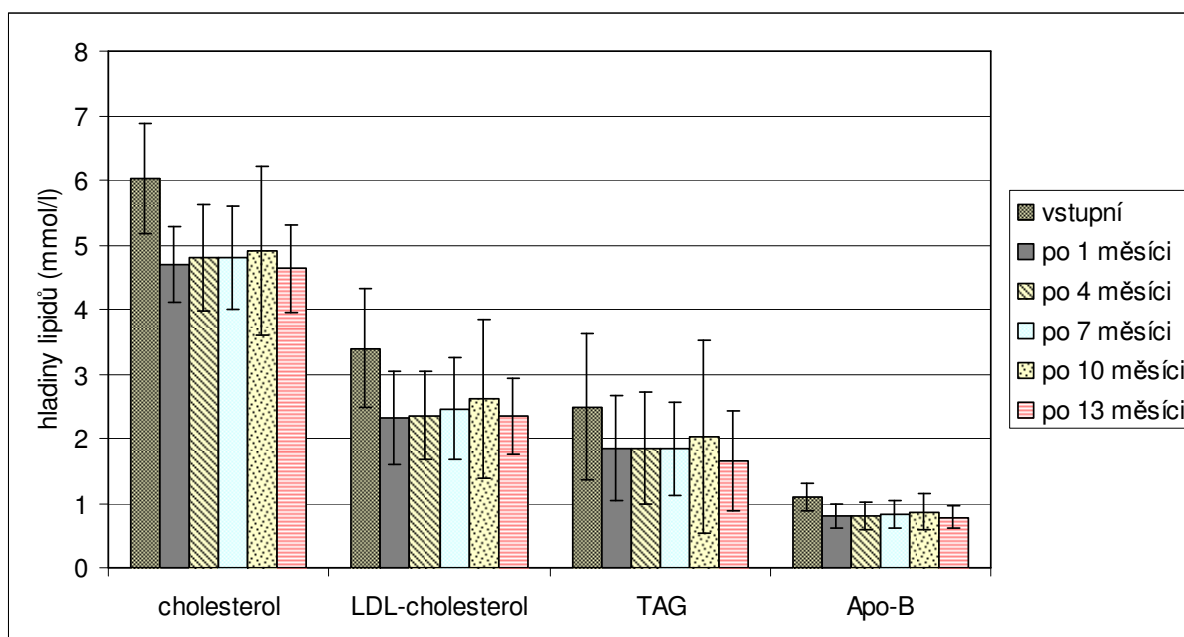
dávky. Během celého sledování jsme nezaznamenali žádný případ myositidy, rhabdomyolýzy, ani asymptomatické elevace kreatinínázy.

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.5.**).



Obr. 5. – 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 - *)

8 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.

8.1 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) [49].

Existuje několik studií zabývajících se konverzí na takrolimus v případě rekurentních akutních rejekcí po OTS, ovšem většina prací byla provedena na malých souborech pacientů [19, 20, 50, 51]. V retrospektivní studii Yamani et al. [19] 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. [20] 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.

8.2 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 [22]. Mezi rizikové faktory rozvoje dyslipidémie patří denní a kumulativní dávka prednisonu, BMI > 25 kg/m² a předtransplantační diagnóza ischemické choroby srdeční [23, 52].

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 [25]. Tento hyperlipidemický účinek je u takrolimu menší, a proto v některých studiích se po konverzi z cyklosporinu A na takrolimus snížila hladina lipidů [18, 24]. V randomizované, prospektivní, multicentrické studii Taylor a spol. [24] 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. [20] 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 [53, 54]. 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 nejúčinnějších 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 [55, 56]. 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. [55] 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%, $p = 0.026$) [57]. V této skupině bylo rovněž méně angiograficky prokázané koronární nemoci štěpu.

Ve druhé studii Wenke a spol. [56] 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 [58]. 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 [59]. 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) [60]. Interakce s imunosupresivy 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 [61]. 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 [42], 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 [45-47]. 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 [48]. 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.

8.3 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 [62] 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 BM a spol. [63]. 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 hospitalisace s možností častých kontrol renálních parametrů.

8.4 *Takrolimus a porucha metabolismu glukózy*

Diabetes mellitus je vážnou komplikací po transplantaci solidních orgánů a jeho incidence po transplantaci srdce se pohybuje okolo 13 % [64]. Z výsledků několika studií vyplývá, že při terapii takrolimem je výskyt nově vzniklého diabetu vyšší než při léčbě cyklosporinem A [18, 65, 66]. 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 [65].

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.

8.5 *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 [18, 24]. 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 [67] – 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 atorvastinem a pouze u 3 pacientů po 13 měsících. Lze však předpokládat, že zvýšením dávek atorvastatinu by bylo možno hladiny lipidů dále ovlivnit.

9 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.

10 LITERATURA

1. Málek I. *Transplantace srdce, pohled kardiologa*. Triton, Praha, 2004; 108.
2. Vymětalová Y, Málek I. Akutní rejekce po transplantaci srdce. *Kardioforum*. 2005; **3**: 12-15.
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**: 272-76.
7. Segovia J, Gomez-Bueno M, Alonso-Pulpon L. Treatment of allograft vasculopathy in heart transplantation. *Expert Opin Pharmacother*. 2006; **7**: 2369-83.
8. Mueller XM. Drug immunosuppression therapy for adult heart transplantation. Part 1: immune response to allograft and mechanism of action of immunosuppressants. *Ann Thorac Surg*. 2004; **77**: 354-62.
9. Hošková L, Málek I, Šedivý J, Podzimková M, Kautzner J, Pirk J. Lékové interakce cyklosporinu A. *Cor Vasa*. 2002; **44**: 481-86.

10. Hosenpud JD, Novick RJ, Breen TJ, Keck B, Daily P. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twelfth official report-1995. *J Heart Lung Transplant*. 1995; **14**: 805-15.
11. Hegarová M, Málek I. Imunosupresiva po transplantaci srdce. *Kardio Forum*. 2005; **3**: 16-21.
12. Kobashigawa J, Miller L, Renlund D, et al. A randomized active-controlled trial of mycophenolate mofetil in heart transplant recipients. Mycophenolate Mofetil Investigators. *Transplantation*. 1998; **66**: 507-15.
13. Hegarová M, Podzimeková M, Hošková L, Málek I. Mycophenolate mofetil vs. Azathioprine after OHTX. Results from the prospective randomized study. *ESOT*, 2003: Abstr. 264.
14. Yatscoff RW, LeGatt DF, Kneteman NM. Therapeutic monitoring of rapamycin: a new immunosuppressive drug. *Ther Drug Monit*. 1993; **15**: 478-82.
15. Reichenspurner H. Overview of tacrolimus-based immunosuppression after heart or lung transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2005; **24**: 119-30.
16. Goto T, Kino T, Hatanaka H, et al. FK 506: historical perspectives. *Transplant Proc*. 1991; **23**: 2713-17.
17. 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.
18. 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.
19. 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.

20. De Bonis M, Reynolds L, Barros J, Madden BP. Tacrolimus as a rescue immunosuppressant after heart transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2001; **19**: 690-95.
21. 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.
22. 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.
23. 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**: 1135-38.
24. 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.
25. Bilchick KC, Henrikson CA, Skojec D, Kasper EK, Blumenthal RS. Treatment of hyperlipidemia in cardiac transplant recipients. *Am Heart J.* 2004; **148**: 200-10.
26. Marzosa-Rivas R, Crespo-Leiro MG, Paniagua-Marin MJ, et al. Safety of statins when response is carefully monitored: a study of 336 heart recipients. *Transplant Proc.* 2005; **37**: 4071-73.
27. Kobashigawa JA. Statins and cardiac allograft vasculopathy after heart transplantation. *Semin Vasc Med.* 2004; **4**: 401-406.
28. Mehra MR, Raval NY. Metaanalysis of statins and survival in de novo cardiac transplantation. *Transplant Proc.* 2004; **36**: 1539-41.

29. Grigioni F, Carigi S, Potena L, et al. Long-term safety and effectiveness of statins for heart transplant recipients in routine clinical practice. *Transplant Proc.* 2006; **38**: 1507-10.
30. Češka R, Urbánek K. Atorvastatinum. *Remedia.* 2004; **14**: 110-20.
31. Farmer JA. Pleiotropic effects of statins. *Curr Atheroscler Rep.* 2000; **2**: 208-17.
32. Davignon J. Beneficial cardiovascular pleiotropic effects of statins. *Circulation.* 2004; **109**: III39-43.
33. Maron DJ, Fazio S, Linton MF. Current perspectives on statins. *Circulation.* 2000; **101**: 207-13.
34. Goldstein J, Brown M. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature.* 1990; **343**: 425-30.
35. Kwak B, Mulhaupt F, Myit S, Mach F. Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nat Med* 2000; **6**: 1399-402.
36. Jialal I, Stein D, Balis D, Grundy S, Adams-Huet B, Devaraj S. Effect of hydroxymethyl glutaryl coenzyme A reductase inhibitor therapy on high sensitive C-reactive protein levels. *Circulation* 2001; **103**: 1933-35.
37. Teupser D, Bruegel M, Stein O, Stein Y, Thiery J. HMG-CoA reductase inhibitors reduce adhesion of human monocytes to endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001; **289**: 838-44.
38. Katznelson S, Wang X, Chia D. The inhibitory effects of pravastatin on natural killer T-cell activity in vivo and on cytotoxic T-lymphocyte activity in vitro. *J Heart Lung Transplant.* 1998; **17**: 335-40.
39. Laufs U, La Fata V, Plutzky J, Liao J. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. *Circulation.* 1998; **97**: 1129-35.
40. 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.

41. Omar MA, Wilson JP. FDA adverse event reports on statin-associated rhabdomyolysis. *Ann Pharmacother.* 2002; **36**: 288-95.
42. Spinarova L, Toman J. Fluvastatin in patients after heart transplantation. *Vnitr Lek.* 1998; **44**: 13-16.
43. Češka R, Vnoučková K. Fluvastatinum. *Remedia.* 2004; **14**: 91-100.
44. 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.
45. 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**: 582-87.
46. 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**: 710-15.
47. 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.
48. 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.
49. Valantine H. Cardiac allograft vasculopathy after heart transplantation: risk factors and management. *J Heart Lung Transplant.* 2004; **23**: S187-93.
50. 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.

51. 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.
52. 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.
53. Jeloka TK, Ross H, Smith R, et al. Renal transplant outcome in high-cardiovascular risk recipients. *Clin Transplant*. 2007; **21**: 609-14.
54. Kasiske BL, Guijarro C, Massy ZA, Wiederkehr MR, Ma JZ. Cardiovascular disease after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 1996; **7**: 158-65.
55. Kobashigawa JA, Katznelson S, Laks H, et al. Effect of pravastatin on outcomes after cardiac transplantation. *N Engl J Med*. 1995; **333**: 621-27.
56. 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.
57. 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.
58. Wenke K, Meiser B, Thiery J, Reichart B. Impact of simvastatin therapy after heart transplantation an 11-year prospective evaluation. *Herz*. 2005; **30**: 431-32.
59. 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.
60. Arora R, Liebo M, Maldonado F. Statin-induced myopathy: the two faces of Janus. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2006; **11**: 105-12.

61. Pechandová K, Buzková H, Slanař O, Perlík F. Efluxní transmembránový transportér – P-glykoprotein. *Klin Biochem Metab.* 2006, No. 4; **14**: 196-201.
62. 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.
63. 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.
64. Marchetti P. New-onset diabetes after transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2004; **23**: S194-201.
65. Mazali FC, Lalli CA, Alves-Filho G, Mazzali M. Posttransplant diabetes mellitus: incidence and risk factors. *Transplant Proc.* 2008; **40**: 764-66.
66. Jindal RM. Posttransplant diabetes mellitus - a review. *Transplantation.* 1994; **58**: 1289-98.
67. 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.

11 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)

12 VLASTNÍ PUBLIKACE

1. M.Kocík, B.Dufková, Málek I. Koronární nemoc srdečního štěpu. *Kardioforum* 2005;3(4):25-28.
2. Dufková B., Málek I, Vymětalová Y. Konverze na tacrolimus u pacientů po transplantaci srdce s rekurentní rejekcí. *Cor Vasa* 2006;48(12):421–425.
3. 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)**.
4. 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 – přijato v časopise *Cor et Vasa*
5. Vymetalova Y., Bohuslavova R., Hubacek JA., Dufkova B., Kocik M., Malek I., Kautzner J. High prevalence of microchimerism in females. – přijato v časopise *Transplant Proceedings*. **(IF 0,96)**.

Přednášky:

1. **Den mladých kardiologů 28-6-2005, Praha.**
Dufková B., Málek I.: Konverze na tacrolimus u pacientů po ortotopické transplantaci srdce s rekurentními akutními rejekcemi (1.místo). *Cor Vasa* 2005;47(9): K 142-K 143.
2. **XIV. Výroční sjezd České kardiologické společnosti, 10.5.2006, Brno.**
Dufková B., Málek I. : Přínos tacrolimu u pacientů po ortotopické transplantaci srdce. *Supplementum Cor Vasa* 2006;48(4):21.
3. **I. Československý transplantační kongres 10/2006, Brno.**
Dufková B., Málek I.: Bezpečnost a účinnost kombinované léčby atorvastatinem a tacrolimem u pacientů po transplantaci srdce. *Sborník abstrakt (U59)*.
4. **15th Alpe – Adria Cardiology Meeting, 05/2007, Brno.**
Dufková B., Málek I.: Efficacy and safety of combined therapy with atorvastatin and tacrolimus in heart transplant recipients. *Sborník abstrakt, Cor Vasa* 2007;49(4):Kardio, K12.

Postery:

1. **ESOT 2007, Prague (P267).**
Dufková B., Málek I., Vymětalová Y., Hošková L., Skalský I., Pirk J., Vrbská J., Marek T., Bohuslavová R., Hubáček J. Myxoma of a donor origin in a transplanted heart (case report).
2. **II. Československý transplantační kongres 09/2008, Starý Smokovec, SR.**
Dufková B., Klein D., Málek I., Vymětalová Y., Adamec M. Embolie do arteria mesenterica superior u pacienta po transplantaci srdce.
3. **II. Československý transplantační kongres 09/2008, Starý Smokovec, SR.**
Dufková B., Málek I. Bezpečnost a účinnost kombinované léčby atorvastatinem a tacrolimem u pacientů po transplantaci srdce.

Příloha 1

Konverze na tacrolimus u pacientů po
transplantaci srdce s rekurentní rejekcí

Konverze na tacrolimus u pacientů po transplantaci srdce s rekurentní rejekcí

Blanka Dufková, Ivan Málek, Yevheniya Vymětalová

Klinika kardiologie, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, Česká republika

Dufková B, Málek I, Vymětalová Y (Klinika kardiologie, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, Česká republika). **Konverze na tacrolimus u pacientů po transplantaci srdce s rekurentní rejekcí.** *Cor Vasa* 2006;48(12):421–425.

Cíl: Posoudit účinek konverze z cyklosporinu A (CyA) na tacrolimus (TAC) u nemocných po ortotopické transplantaci srdce (OTS) s rekurentními epizodami buněčné rejekce.

Metodika: Sledovali jsme soubor 17 pacientů po OTS (5 žen, 12 mužů, věkový průměr 53 ± 11 let), u nichž byla v letech 2001–2005 provedena konverze na TAC 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 TAC. Každý stupeň Banffské klasifikace byl bodově ohodnocen (škála 1–6 bodů); následně byl proveden součet bodů a průměr pro celý soubor. Dalšími sledovanými parametry byl vliv TAC na krevní tlak, koncentraci sérového kreatininu a cholesterol. Při konverzi následovala první dávka TAC 12 hodin po posledním podání CyA, počáteční dávka byla 0,1–0,15 mg/kg, byla rozdělena do dvou denních dávek, koncentrace byla stanovena po podání pěti dávek. U všech pacientů bylo dosaženo cílových koncentrací (10–20 ng/ml).

Výsledky: U všech pacientů byl TAC tolerován. Ovlivnění probíhající akutní rejekce a pokles výskytu vyšších stupňů akutních rejekcí po konverzi na TAC bylo statisticky významné (před konverzí $8,75 \pm 1,61$, po konverzi $2,56 \pm 1,59$, $p < 0,001$). Pokles hodnot systolického krevního tlaku (mm Hg) nebyl statisticky významný (před konverzí $133 \pm 12,5$, po konverzi 128 ± 9 , $p = 0,0775$), rovněž u diastolického tlaku nebyl pokles významný (před konverzí $84,4 \pm 9,5$, po konverzi $83 \pm 7,4$, $p = 0,516$). Koncentrace sérového kreatininu se po konverzi změnila pouze nevýznamně (před konverzí $105 \pm 26,1$ $\mu\text{mol/l}$, po konverzi $109 \pm 26,07$ $\mu\text{mol/l}$, $p = 0,158$). Naopak koncentrace cholesterolu se po konverzi statisticky významně snížily (před konverzí $5,2 \pm 1,06$ mmol/l, po konverzi $4,7 \pm 0,84$ mmol/l, $p = 0,0026$).

Závěr: Tacrolimus příznivě ovlivňuje nejen probíhající rekurentní akutní rejekce, ale snižuje i další výskyt rejekčních epizod. Po konverzi z cyklosporinu A na tacrolimus byl zaznamenán pokles koncentrací cholesterolu. Konverze na tacrolimus je vhodnou léčebnou metodou u pacientů s opakovanými akutními rejekcemi.

Klíčová slova: Transplantace srdce – Akutní buněčná rejekce – Tacrolimus – Cyklosporin A

Dufková B, Málek I, Vymětalová Y (Department of Cardiology, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic). **Switching to tacrolimus in heart transplant recipients with recurrent rejection episodes.** *Cor Vasa* 2006;48(12):421–425.

Aim: To assess the effect of switching patients undergoing orthotopic heart transplantation (OHTx) with recurrent cellular rejection episodes from cyclosporin A (CyA) to tacrolimus (TAC).

Method: We followed a group of 17 OHTx patients (5 women, 12 men, age range 53 ± 11 years), switched to TAC in 2001–2005 for repeat 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 TAC. 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. Other end-points included the effect of TAC on blood pressure, serum creatinine and cholesterol levels. Upon conversion, the first dose of TAC was administered at 12 hours after the last CyA administration; the initial dose of 0.1–0.15 mg/kg was divided into two daily doses, with the levels determined after five doses. Goal levels (10–20 ng/mL) were obtained in all patients.

Results: TAC was 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 TAC were significant (8.75 ± 1.61 before conversion; 2.56 ± 1.59 after conversion; $p < 0.001$). The decrease in systolic blood pressure (mmHg) was not significant (133 ± 12.5 prior to conversion; 128 ± 9 after conversion; $p = 0.0775$), as was not that of diastolic blood pressure (84.4 ± 9.5 before conversion; 83 ± 7.4 after conversion; $p = 0.516$).

Serum creatinine levels changed only non-significantly after conversion (105 ± 26.1 $\mu\text{mol/L}$ before conversion, and 109 ± 26.07 $\mu\text{mol/L}$ after conversion; $p = 0.158$). By contrast, cholesterol levels declined significantly after conversion (5.2 ± 1.06 mmol/L before conversion; 4.7 ± 0.84 mmol/L after conversion; $p = 0.0026$).

Conclusion: Tacrolimus has a beneficial effect not only on recurrent acute rejection episodes, it also decreases the incidence of future rejection episodes. Switching the patient from cyclosporin A to tacrolimus resulted in a decrease in cholesterol levels. Switching to tacrolimus is a suitable therapeutic option in patients experiencing recurrent acute rejection episodes.

Key words: Heart transplantation – Acute cellular rejection – Tacrolimus – Cyclosporin A

Adresa: MUDr. Blanka Dufková, Klinika kardiologie, IKEM, Vídeňská 1958/9, 140 21 Praha 4, Česká republika, e-mail: Blanicka.D@seznam.cz

ÚVOD

Ortotopická transplantace srdce (OTS) se v posledních 30 letech stala nejúčinnější terapií pro pacienty v terminálním stadiu srdečního selhání. Po zavedení účinné imunopresivní profylaxe, zejména kalcineurinových inhibitorů, se výrazně zlepšila délka přežívání štěpů.⁽¹⁾ Přesto zůstávají akutní rejekce a koronární nemoc limitujícími faktory pro další osud štěpu. Akutní buněčné rejekce postihují až 60 % pacientů v prvním roce po OTS s kombinovanou imunopresivní profylaxí.⁽²⁾ Zvláštní problém představují pacienti s opakovanými buněčnými rejekcemi, které mohou následně vést k poškození štěpu, k rozvoji vaskulopatie a zvýšení rizika infekcí v důsledku antirejkeční terapie.^(3,4)

Klasická imunopresivní profylaxe u pacientů po OTS je založena na trojkombinaci cyklosporinu A (CyA), azathioprinu nebo mykofenolátu mofetilu a kortikoidů. Alternativou k CyA je tacrolimus (TAC), který také patří do skupiny kalcineurinových inhibitorů. Blokuje syntézu interleukinu-2 (IL-2) a mnoha jiných cytokinů, které jsou důležitými mediátory v akutní rejekci štěpu. V cytoplazmě lymfocytů T se váží na své specifické imunofiliny – CyA na cyklofilin a TAC na FKBP-12 (FK506 binding protein-12). Komplex kalcineurinového inhibitoru a imunofilinu inhi-

buje aktivitu kalcineurinu (kalcium/kalmodulin dependentní fosfatáza) a přes kaskádu mnoha dalších interakcí dochází k inhibici transkripce genu pro IL-2, a tím k inhibici syntézy IL-2.⁽⁵⁾ (obrázek 1).

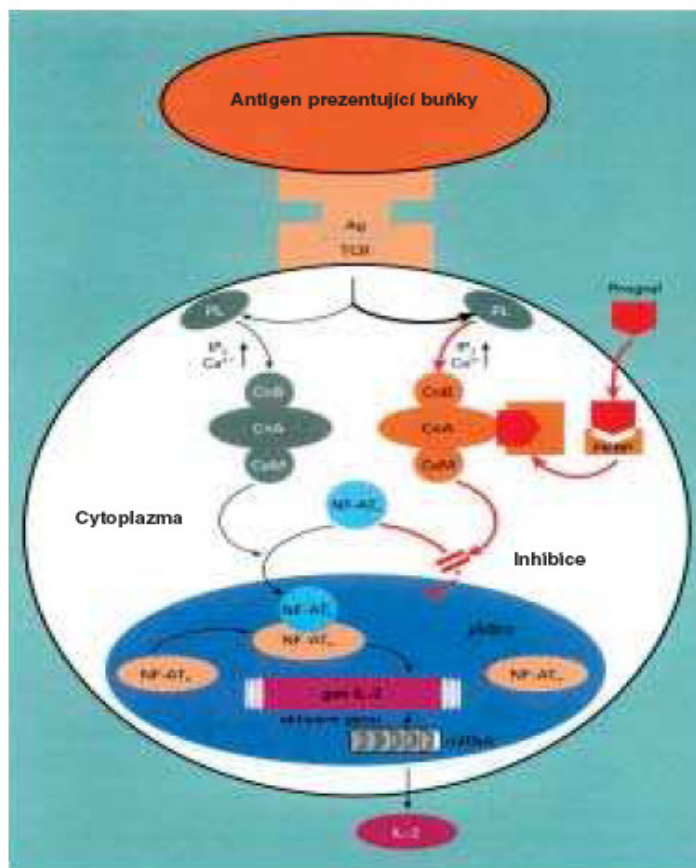
Ve studiích in vitro je TAC oproti CyA 100× účinnějším v supresi proliferativní odpovědi při reakci mezi myšimi a lidskými lymfocyty. V experimentálním in vivo modelu buněčné a humorální imunitní odpovědi byl TAC 10× účinnější než CyA.⁽⁶⁾ TAC je dále na rozdíl od CyA schopný ovlivnit již probíhající akutní buněčnou rejekci štěpu. Ze studie Jiangha a spol.⁽⁷⁾ vyplývá, že TAC snižuje syntézu IL-10, který zprostředkovává zvýšenou infiltraci tkáně štěpu aktivovanými T-lymfocyty CD 8+ a NK (natural killers) buňkami, které produkují cytotoxické cytokiny granzym B a perforin 1. Spektrum nežádoucích účinků je u TAC i CyA obdobné a těmi jsou zejména nefrotoxicita, arteriální hypertenze, neurotoxicita a další.^(8,9)

Cílem této studie bylo posoudit účinek konverze CyA na TAC u nemocných po OTS s rekurentními epizodami buněčné rejekce.

SOUBOR PACIENTŮ

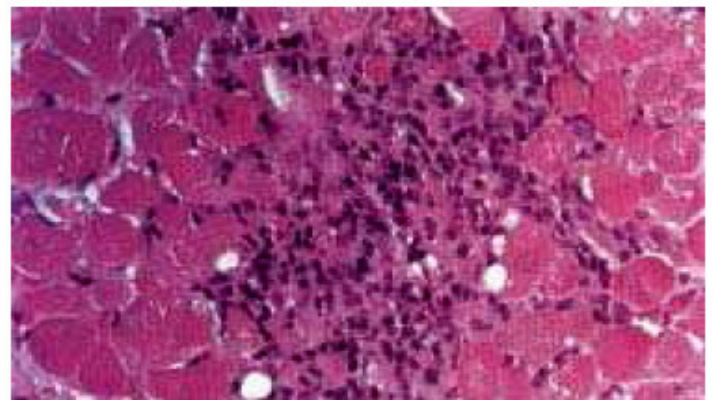
Charakteristika souboru

V období od prosince 1993 do prosince 2004 byla v Kardiocentru Institutu klinické a experimentální



Obr. 1 Působení tacrolimu, upraveno podle produktové monografie programu firmy Astellas

Ag – antigen, TCR – receptor T buněk, PL – fosfolipáza, IP3 – inositoltrifosfát, CnA/CnB – kalcineurin A a B, CaM – calmodulin, NF-ATc – nukleární faktor aktivovaných T lymfocytů, NF-ATn – nukleární komponenta NF-AT



Obr. 2 Akutní buněčná rejekce Banff 2 s lymfocytární infiltrací a nekrózou

medicíny v Praze provedena OTS u 443 nemocných. U 17 pacientů (5 žen, 12 mužů, věkový průměr 53 ± 11 let) byla provedena v průběhu sledování konverze na tacrolimus pro opakované nálezy akutních buněčných rejekcí vyšších stupňů v endomyokardiálních biopsiích (EMB). U 5 pacientů se jednalo o rejekce rezistentní na antirejkeční léčbu pulsním podáním kortikoidů, u 7 pacientů o rekurentní rejekce a u 5 pacientů nebyla při akutní rejekci stupně Banff 2 antirejkeční terapie podána. V EMB je podle Banffské klasifikace⁽¹⁰⁾ histologicky hodnocena lymfocytární infiltrace myokardu a stupeň poškození myocytů (tabulka 1, obrázek 2). U všech pacientů byla vstupně normální systolická funkce levé komory srdeční. Doba od OTS do konverze trvala 27 ± 2 měsíce (od 2 do 90 měsíců). Věk dárců srdce se pohyboval od 19 do 51 let (30 ± 10 let). Typizace HLA (human leukocyte antigen) byla k dispozici u 13 pacientů, ale tři a více shod se nevyskytlo u žádného pacienta, dvě shody byly u 3 nemocných, jedna

Tabulka I
Banffská klasifikace a bodové ohodnocení

Banff 0	Žádná rejekce	0
Banff 1A	Ložisková infiltrace, lymfocyty bez nekrózy	1
Banff 1B	Difuzní infiltrace, lymfocyty bez nekrózy	2
Banff 2	Ložisková infiltrace, lymfocyty s nekrózou	3
Banff 3A	multifokální infiltráty, lymfocyty s nekrózou	4
Banff 3B	Difuzní infiltrace, lymfocyty s nekrózou	5
Banff 4	Difuzní smíšená infiltrace s nekrózou, vaskulitida, hemoragie, edém	6

shoda HLA byla přítomna u 7 pacientů a žádná shoda v HLA – u 3 pacientů.

Imunosuprese a medikace před konverzí

Před konverzí na TAC u 14 pacientů byla imunosupresivní profylaxe složena z trojkombinace – CyA, mykofenolát mofetil/azathioprin, kortikoidy. Tři pacienti byli na dvojkombinaci imunosupresiv – u 2 nemocných bylo nutné vysadit kortikoidy pro osteoporózu a u jednoho pacienta byl vysazen mykofenolát mofetil pro leukopenii. Součástí léčebného schématu byla dále antihypertenziva (94 %) a statiny (88 %).

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 TAC. Každý stupeň Banffské klasifikace byl bodově ohodnocen (škála 1–6 bodů), následně byl proveden součet bodů a průměr pro celý soubor před konverzí a po konverzi (tabulka I).

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

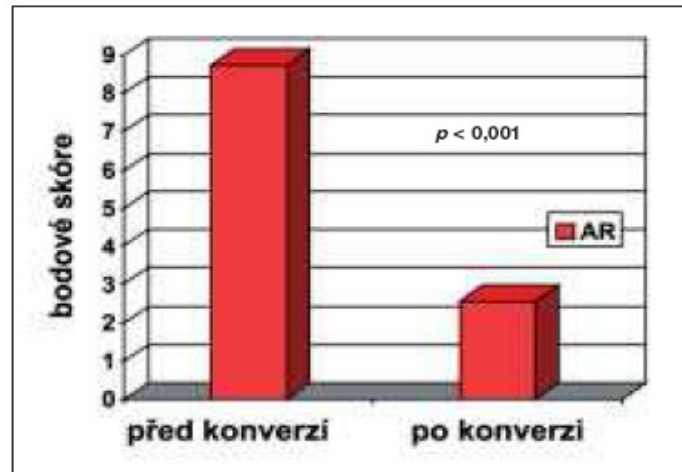
Dále jsme sledovali vliv TAC na krevní tlak, koncentraci sérového kreatininu a cholesterol, kdy hodnoty byly získány při třech návštěvách před konverzí na TAC a třech návštěvách po konverzi na TAC. Byly nejprve stanoveny průměrné hodnoty pro pacienta a následně průměrné hodnoty pro celý soubor před konverzí a po ní.

Statistická analýza

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

VÝSLEDKY

U všech pacientů byl TAC 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 (obrázek 3), kdy před konverzí bylo bodové skóre $8,75 \pm 1,61$, po konverzi $2,56 \pm 1,59$



Obr. 3 Výskyt akutních buněčných rejekcí před konverzí a po konverzi na TAC

($p < 0,001$). Po konverzi na TAC byly epizody akutní rejekce zaznamenány u čtyř pacientů (u tří pacientů Banff 2, u jednoho pacienta Banff 3A), které byly řešeny zvýšením dávek imunosupresiv, nebyla nutná antirejekční terapie pulsními kortikoidy. Pokles hodnot systolického krevního tlaku (mm Hg) nebyl po konverzi statisticky významný (před konverzí $133 \pm 12,5$, po konverzi 128 ± 9 , $p = 0,0775$), u diastolického tlaku nebyl pokles rovněž statisticky významný (před konverzí $84,4 \pm 9,5$, po konverzi $83 \pm 7,4$, $p = 0,516$). Změny koncentrací sérového kreatininu před konverzí a po konverzi nebyly statisticky významné (před konverzí $105 \pm 26,1$ $\mu\text{mol/l}$, po konverzi $109 \pm 26,07$ $\mu\text{mol/l}$, $p = 0,158$). Naopak koncentrace cholesterolu se po konverzi statisticky významně snížily (před konverzí $5,2 \pm 1,06$ mmol/l, po konverzi $4,7 \pm 0,84$ mmol/l, $p = 0,0026$).

DISKUSE

CyA se již déle než 20 let osvědčuje jako základní imunosupresivum. U některých pacientů je jeho podávání doprovázeno výraznými nežádoucími účinky, kterými jsou zejména nefrotoxicita, arteriální hypertenze a hyperplazie gingiv. Nejzávažnějším problémem zůstává výskyt opakujících se akutních buněčných rejekcí, kde již intenzifikace režimu CyA pozbývá významu a pulsní terapie kortikoidy nezabrání rekurenci rejekce. Existuje několik studií zabývajících se v těchto případech konverzí na TAC, ovšem většina prací byla provedena na malých souborech pacientů.^(11–14) Rovněž výsledky studií, které srovnávají nežádoucí účinky CyA a TAC a jejich vliv

na koncentraci cholesterolu a arteriální krevní tlak, nejsou zcela konzistentní.^(14,15) Proto jsme provedli retrospektivní analýzu údajů pacientů konvertovaných na TAC pro opakované akutní buněčné rejekce a zhodnotili jsme vliv TAC na výše uvedené parametry. Shrnutí výsledků našeho sledování je následující: signifikantní pokles výskytu rejekčních epizod po konverzi na TAC, významný pokles koncentrace cholesterolu po konverzi, statisticky nevýznamná změna koncentrace sérového kreatininu a hodnot systolického a diastolického krevního tlaku.

Ovlivnění akutních rejekcí po konverzi na TAC

Před konverzí na TAC byla většina akutních buněčných rejekcí vyššího stupně léčena pulsní dávkou 3 g metylprednisolonu (1 g po následující 3 dny). Ačkoli většinou došlo v kontrolní EMB ke zlepšení histologického obrazu, u některých pacientů se v různém časovém odstupu akutní rejekce opakovala. Naše sledování potvrdilo, že po konverzi na TAC u těchto pacientů došlo 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 u 4 pacientů (3× Banff 2, 1× Banff 3A), žádná z těchto epizod si nevyžádala léčbu pulsními kortikoidy, bylo pouze upraveno dávkování bazální imunosupresivní terapie. Výsledky našeho sledování jsou v souladu s několika již dříve provedenými studiemi.⁽¹¹⁻¹⁴⁾ Yamani a spol.⁽¹³⁾ v retrospektivní studii autorů analyzovali skupinu 21 pacientů, kteří byli konvertováni z CyA na TAC pro rekurentní akutní buněčné rejekce rezistentní na steroidní léčbu. Srovnávací skupinou bylo 6 pacientů, kteří byli pro opakované rejekce léčeni OKT3. Akutní buněčné rejekce se v 85 % objevily v prvních třech měsících po transplantaci. Po konverzi na TAC byl zaznamenán signifikantní pokles počtu dalších akutních rejekcí a TAC se ukázal být více účinným než OKT3. V další retrospektivní studii Bonis MD a spol.⁽¹⁴⁾ hodnotili konverzi na TAC 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 CyA. 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 CyA nebyla dále zaznamenána žádná akutní rejekce.

Ovlivnění koncentrace cholesterolu a krevního tlaku

Názory na snížení hodnot cholesterolu po konverzi na TAC se liší. Ve studii autorů Bonis MD a spol.⁽¹⁴⁾ zůstala koncentrace cholesterolu po konverzi nezměněna. V randomizované prospektivní multicentrické studii Taylor DO a spol.⁽¹⁵⁾ hodnotili vedle výskytu akutních rejekcí po konverzi na TAC i vliv na krevní tlak a změny koncentrací sérových lipidů. Pacienti byli po transplantaci rozděleni do dvou skupin, kdy v první skupině byl bazálním imunosupresivem TAC a ve druhé CyA. Po ročním sledování byly koncentrace celkového cholesterolu, triglyceridů, LDL- i HDL-cholesterolu významně nižší ve skupině s TAC; ve skupině s CyA byl zaznamenán větší výskyt nově

vzniklé hypertenze, vyžadující antihypertenzní terapii. Rovněž v našem sledování došlo po konverzi ke statisticky významnému poklesu koncentrací cholesterolu, ale změny systolického a diastolického krevního tlaku nebyly významné.

V poslední době se ukazuje, že konverze na TAC by mohla být vhodná i u pacientů po OTS s dlouhodobě špatně korigovatelnou hypercholesterolemií. Z mnoha studií je známá interakce CyA se statiny (zejména lovastatinem a simvastatinem), jejichž koncentrace je následně zvýšená, a tím vzrůstá riziko rhabdomyolýzy.^(16,17,18,19) Podle jedné novější studie se však zdá, že by mohla být dobrá tolerance TAC a atorvastatinu, kdy koncentrace atorvastatinu není zvyšována.⁽²⁰⁾ Tato studie byla provedena ve skupině zdravých dobrovolníků a až další klinické studie u pacientů po OTS ukážou, zda se hypercholesterolemie stane další indikací pro konverzi na TAC.

Ovlivnění renálních funkcí

Nevýhodou TAC zůstává jeho nefrotoxický účinek. Jak ale vyplývá z výsledků většiny studií, nefrotoxicita TAC a CyA je srovnatelná. Např. v evropské a americké multicentrické pilotní studii s TAC⁽²¹⁾ nebyly po jednoletém sledování žádné signifikantní rozdíly renálních funkcí mezi skupinou pacientů s TAC a skupinou s CyA. K podobným výsledkům dospěli i Meiser BM a spol.⁽²²⁾ My jsme též nezaznamenali statisticky významný rozdíl koncentrací sérového kreatininu před konverzí a po konverzi na TAC.

Indikace ke konverzi na TAC

Ačkoli je TAC velmi účinným imunosupresivem, jeho podávání by mělo být přesně indikováno, tj. hlavně v případě opakovaných akutních rejekcí, hyperplazie gingiv, atd. V některých případech může být toxicita TAC více vyjádřena než u CyA, a to zejména neurotoxicita. Dále nelze opominout, že s CyA jsou všeobecně delší zkušenosti a u mnoha pacientů je stav dlouhodobě stabilní při terapii CyA. V úvahu se musí brát i finanční stránka, kdy TAC je dražším imunosupresivem.

I přes tyto výhrady lze do budoucna předpokládat stále vyšší užívání TAC s hlavní indikací opakujících se akutních rejekcí. Stoupající tendence užívání TAC vyplývá i z registru ISHLT (International Society of Heart and Lung Transplantation) 2005.⁽²³⁾

ZÁVĚR

Naše sledování potvrdilo, že tacrolimus příznivě ovlivňuje nejen probíhající rekurentní akutní rejekce, ale snižuje i další výskyt rejekčních epizod. Po konverzi z cyklosporinu A na tacrolimus byl zaznamenán pokles koncentrací cholesterolu. Konverze na tacrolimus je vhodnou léčebnou metodou u pacientů s opakovanými akutními rejekcemi.

LITERATURA

1. Málek I. Transplantace srdce, pohled kardiologa. Praha: Triton, 2004:103.
2. Kubo SH, Naftel DC, Mills RM Jr, et al. Risk factors for late recurrent rejection after heart transplantation. J Heart Lung Transplant 1995;14:409-18.

3. 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.
4. Segovia J. Update on cardiac allograft vasculopathy. *Curr Opin Organ Transplant* 2002;7:240-51.
5. Reichenspurner H. Overview of tacrolimus-based immunosuppression after heart or lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2005;24:119-30.
6. Goto T, Kino T, Hatanaka H, et al. FK 506: historical perspectives. *Transplant Proc* 1991;23:2713-7.
7. Jiang H, Wynn C, Pan F, Ebbs A, Ericsson 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.
8. Keogh A. Calcineurin inhibitors in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2004;23:S202-S206.
9. Špinarová L. Hypertenze po transplantaci srdce. *Vnitř Lék* 1999;45:555-8.
10. 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. *Heart Transplant* 1990;9:587-93.
11. Mentzer RM Jr, Jahania MS, Lasley RD. The U. S. multicenter FK506 study group. Tacrolimus as a rescue immunosuppressant after heart and lung transplantation. *Transplantation* 1998;65:109-13.
12. Onsager DR, Carver CC, Jahania MS, et al. Efficacy of tacrolimus in the treatment of refractory rejection in heart and lung transplant recipient. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:448-55.
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. Bonis MD, Reynolds L, Barros J, Madden BP. Tacrolimus as a rescue immunosuppressant after heart transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001;19:690-5.
15. 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.
16. Christians U, Jacobsen W, Benet LZ, et al. Mechanisms of clinically relevant drug interactions associated with tacrolimus. *Clin Pharmacokinet* 2002;41:813-51.
17. Christians U, Jacobsen W, Floren LC, et al. Metabolism and drug interactions of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors in transplant patients: are the statins mechanistically similar? *Pharmacol Ther* 1998;80:1-34.
18. Hošková L, Málek I, Šedivý J, Podzimková M, Kautzner J, Pirk J. Lékové interakce cyklosporinu A. *Cor Vasa* 2002;44:481-6.
19. Widimský J. Poškození svalů při léčbě inhibitory HMG CoA reduktázy – statiny. *Cor Vasa* 2003;45:376-86.
20. Lemahieu WPD, Hermann M, Asberg A, et al. Combined therapy with atorvastatin and calcineurin inhibitors: no interactions with tacrolimus. *Am J Transplant* 2005;5:2236-43.
21. 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.
22. 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.
23. Trulock EP, Edwards LB, Taylor DO, et al. Registry of the international society for heart and lung transplantation: twenty-second official adult lung and heart-lung transplant report. *J Heart Lung Transplant* 2005;24:956-67.

*Došlo do redakce 23. 3. 2006
Přijato po úpravách 5. 9. 2006*

Příloha 2

Efficacy and safety of combined therapy with atorvastatin and tacrolimus in heart transplant recipients

Dufková Blanka, MD,
Málek Ivan, MD, PhD,
Vymětalová Yevheniya, MD,
Hošková Lenka, MD,
Podzimková Mariana, MD,
Kautzner Josef, MD, PhD, FESC,

All authors from the Department of Cardiology, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech republic

Abstract.

Background: The HMG-CoA inhibitors are common part of standard drug regimen after orthotopic heart transplantation (OHTx). On the other hand, they are potentially dangerous as they could interact with cyclosporin A (CSA). The aim of this study was to evaluate the efficacy and safety of combined therapy with atorvastatin and tacrolimus (TAC) in heart transplant recipients.

Methods: We followed a group of 31 OHTx patients with repeatedly documented plasma levels of total cholesterol above 5.5 mmol/l while on fluvastatin therapy. CSA was the main immunosuppressive drug. Subsequently, the patients were switched to a combination of TAC and atorvastatin at a starting dosage of 20 mg. Four patients had to interrupt this treatment due to adverse events. The remaining 27 OHTx patients were followed up. Clinical controls with blood tests were performed one month and four months after switching of drug regimen. The subgroup of 19 patients had control also after seven months.

Results: Neither myalgia nor increase in plasma creatinase levels were observed. Total cholesterol levels decreased significantly after the first month of treatment (6.06 ± 0.89 mmol/l vs. 4.74 ± 0.70 mmol/l; $p < 0.0001$). Similar trend was observed for LDL cholesterol and apolipoprotein-B. Treatment effect was stable during the entire period of follow up. **Conclusions:** In patients after OHTx, switching to TAC and atorvastatin combination resulted in significant decrease of cholesterol, LDL-cholesterol and apolipoprotein-B levels.

Keywords: atorvastatin - dyslipidemia - heart transplantation – statins - tacrolimus

Running footline: **Efficacy of therapy with atorvastatin and tacrolimus**

Introduction

Dyslipidemia is a frequent metabolic disorder in patients after orthotopic heart transplantation (OHTx). Its incidence reaches 60-80% [1]. Pathophysiologically, dyslipidemia is involved in the development of graft

vascular disease (GVD) which is the most common cause of death in long-term transplant recipients [2]. Therefore, lipid-lowering therapy must be particularly aggressive in these patients.

At present, 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitors – statins - are critical component of the standard medication after OHTx. However, selection of individual drugs from this group is limited because of high risk of interaction with cyclosporin A (CsA). Typically, such an interaction results in myositis and rhabdomyolysis [3,4]. To minimize the risk, fluvastatin is frequently used due to its unique metabolism [5]. In addition, the dose of the drug is adjusted carefully and plasma creatine kinase levels monitored. On the other hand, the drug has limited efficacy in some patients.

Previous studies have shown that atorvastatin is more effective than other lipid-lowering agents in reducing total cholesterol and triglyceride levels [6-8]. However, combination of atorvastatin and CsA could be dangerous because of the higher risk of interaction [8]. Less is known about the efficacy and safety of concomitant use of atorvastatin and tacrolimus (TAC). Pharmacokinetically, addition of TAC did not alter atorvastatin pharmacokinetics [9]. The aim of this study was to assess efficacy and safety of combined therapy of atorvastatin and TAC in OHTx recipients.

Materials and methods.

The study population consisted of a group of 31 OHTx patients (21 men, 10 women, age $53,9 \pm 10$ years) with repeatedly detected plasma levels of total cholesterol above 5.5 mmol/l during the last 6 months along with fluvastatin therapy (mean dose 69 ± 19 mg). The patients were followed for seven months. **Table 1.** shows the clinical characteristics of all cohort. All patients received CsA in combination with azathioprine (n=7) or mycophenolate mophetil (n=22) and prednisone (n=29).

Exclusion criteria included significant renal insufficiency with creatinine above 250 $\mu\text{mol/l}$, liver insufficiency or active liver disease, hypersensitivity to statins, previous administration of TAC or atorvastatin (after OHTx), acute infection, acute rejection and noncompliance of the patient.

All patients were thoroughly informed about monitoring and signed an informed consent. The study protocol conforms to the ethical guidelines of the 1975 Declaration of Helsinki as reflected in a priori approval by the institution's human research committee. After baseline laboratory analysis, the patients were switched from CsA to TAC according to the following protocol: the last CsA dose was administered in the evening and TAC was started the next morning at a dosage of 0.1-0.15 mg/kg twice daily. Patients were instructed to report any unusual muscle soreness, nausea, vomiting or prolonged diarrhea.

Hematologic parameters, fasting glucose, serum creatinine, blood urea nitrogen, creatine kinase, creatine kinase muscle-brain fraction (CK-MB), bilirubine, liver enzymes aspartate amino-transferase (AST), alanine amino-transferase (ALT), γ -glutamyl-transferase (GMT), alkaline phosphatase (ALP), lactic dehydrogenase (LDH), total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), triglycerides (TG), apolipoprotein-A (apo-A) and apolipoprotein-B (apo-B) were assessed.

After a period of 7-10 days, TAC levels were checked with dose adaptation to obtain average levels between 5 to 15 nmol/l (along the post-transplant period). In the same time fluvastatin was switched to atorvastatin at the starting dosage of 20 mg. Clinical status and control laboratory tests were assessed at 1 month and 4 month after switching of drugs. The subgroup of 19 patients was evaluated also at seven months.

The data are expressed as a mean \pm SD. An analysis of variance for repeated measurement was used for statistical analysis, considering values of $p < 0.05$ as significant.

Results.

Four patients were excluded from the monitoring during the first month. Three patients stopped TAC because of the following reasons: serious diarrhea, progressive elevation of serum creatinine level and psychic disorders. One patient stopped atorvastatin because of sore throat. No myalgia or creatinase elevation were observed in the remaining cohort. Nevertheless, the majority of these patients experienced some diarrhea after switching to TAC. Diarrhea subsided in all of them after the dose adjustment.

At one month, atorvastatin reduced significantly total cholesterol levels (6.06 ± 0.89 mmol/l vs 4.74 ± 0.70 mmol/l after conversion; $p < 0.0001$), as well as LDL cholesterol levels (3.21 ± 0.77 vs. 2.13 ± 0.67 mmol/l; $p < 0.0001$), plasma triglycerides (2.48 ± 1.15 vs. 1.81 ± 0.83 ; $p < 0.0001$) and Apo-B (1.07 ± 0.22 vs. 0.76 ± 0.20 g/l; $p < 0.0001$). By contrast, levels of HDL-cholesterol, Apo-A, creatinine and liver transaminases changed only non-significantly (**Table 2.**). At four months, levels of total cholesterol, LDL-cholesterol and Apo-B remained decreased. The total cholesterol levels decreased below 5.5 mmol/l in 88.9 % of patients after one month and in 77.8 % of patients after four months. The dose of atorvastatin at four months reached 21 ± 5 mg. In 2 patients, the dose of atorvastatin had to be increased to 30 and 40 mg, respectively. In another patient, the dose was decreased to 10 mg because of loss of weight of patient. During the treatment period, decrease of urea (10.32 ± 3.46 vs. 9.04 ± 2.94) and hematocrite (0.38 ± 0.03 vs. 0.37 ± 0.03) was observed that reached statistical significance. However, clinically this change was considered as negligible.

The subgroup of 19 patients was evaluated also at 7 months and this control revealed sustained decrease in the total cholesterol, TAG, LDL-cholesterol and Apo-B levels (**Figure 1.**). No significant change in liver tests were observed. Although thrombocyte counts decreased statistical significant (240.40 ± 55.65 vs. 223.07 ± 57.14), clinically this change was considered also as negligible.

Discussion.

The results of this study can be summarized as follows: 1) the prospective monitoring demonstrated clinical efficacy of conversion from fluvastatin to atorvastatin in terms of sustained lowering of cholesterol, LDL cholesterol and Apo B levels, 2) combination of atorvastatin with tacrolimus after replacing CsA proved to be safe with no occurrence of myositis or rhabdomyolysis.

Treatment of dyslipidemia is one of the important components of complex care after OHTx. The prevalence of dyslipidemia after OHTx ranges between 60-80%. Most importantly, cholesterol levels rise relatively early (1 to 6 months) after transplantation [1]. Among the risk factors, both daily and cumulative prednisone dosage, body mass index (BMI) > 25 kg/m², and a pre-transplantation diagnosis of coronary artery disease appear to be the most important risk [10]. There is a correlation between increased cholesterol and triglyceride levels and the development of graft vascular disease - the major factor limiting long-term survival after OHTx [2,11,12].

Two prospective, randomized clinical trials have demonstrated high efficacy of statins in reduction of LDL-cholesterol and their positive effect on GVD and survival. Kobashigawa et al. [13] randomized 97 patients early after OHTx to pravastatin (n=47) and placebo for 12 months. The pravastatin group had a significantly lower total cholesterol (193 ± 36 vs. 248 ± 49 mg/dl, $p < 0.001$), better survival rate (94% vs. 78%, $p = 0.025$), lower incidence of GVD (by angiography and at autopsy) and less progression in the intimal thickness and intimal index (by intravascular ultrasound). Moreover, pravastatin was shown to reduce the prevalence of acute rejection and the activity of natural killers cells. This study has continued and ten-year follow-up has been reported [14].

Eighty-one percent of the control patients were placed on statin therapy by the ten-year follow-up. Still, the 10-year survival rate remained significantly better in pravastatin patients (68% vs. 48%, $p=0.026$) and the freedom from angiographic GVD and/or death was greater in this group (43% vs. 20%, $p= 0.0009$). In the second study, Wenke et al. [15] compared treatment with simvastatin ($n=35$) and diet therapy ($n=37$). The simvastatin group showed significant improvement in the 4-year survival rate (88.6% vs. 70.3%), a lower incidence of GVD by angiography, and less intimal thickening and a lower intimal index by intravascular ultrasound. In the continuation of this study, most patients in both groups received statins after 4 years. Even after 11 years, the survival rate was significantly better in the simvastatin group and also incidence of GVD was significantly lower [16]. The above landmark studies provided evidence about importance of statin therapy after OHTx and about the need for its initiation early after transplantation.

Currently, fluvastatin is one of the most utilized statins after OHTx due to its safety. However, the efficacy of fluvastatin appears to be rather modest, especially in some patients. In this respect, atorvastatin is more effective than other lipid-lowering agents in reducing total cholesterol and triglyceride levels [6-8]. The problem with the use of atorvastatin in post-transplant population appears to be interaction with CsA. There is an evidence that even the use of moderate doses of atorvastatin in patients treated with CsA can result in myositis in some patients [8]. This observation is along the same lines with experimental studies on significant increase in plasma levels of statins after exposure to CsA [17]. The interaction is due to the competitive inhibitory effect of CsA on drug metabolism by cytochrome P450 3A4 (CYP3A4) and efflux by drug transporter P-glycoprotein. Interestingly, TAC does not seem to alter atorvastatin pharmacokinetics as documented in a study with 13 healthy volunteers [9]. On the contrary, concomitant administration of CsA led to 15-fold increase in plasma levels of atorvastatin. In our study, patients after OHTx were evaluated. Although the atorvastatin levels were not determined in this study, safety record of combination of atorvastatin and TAC supports the above observation. Therefore, this combination can be recommended for treatment of dyslipidemia after OHTx, especially after failure of other statins.

Study limitations

This study has several limitations. First, the number of patients was relatively small and the follow-up was short. Second, since TAC has been reported to exert lipid lowering effect [18], this study cannot answer what is the magnitude of lipid lowering effect atorvastatin as compared with TAC. Third, despite significant decrease in cholesterol and LDL cholesterol levels, very few patients reached levels recommended by guidelines on lipid lowering therapy for high risk group [19]. Total cholesterol levels below 4,0 mmol/l, LDL-cholesterol levels < 2,0 mmol/l and Apo-B < 0,8 g/l were fulfilled only in 18.5 % of patients after 4 months and only in 5.3 % of patients after seven months. It can be expected that increase in atorvastatin dosage will be more effective.

Conclusions

Management of dyslipidemia after OHTx could be difficult because of medical interactions. Our pilot study demonstrated clinical efficacy of conversion from fluvastatin to atorvastatin after replacing CsA with TAC. This combination proved to be safe with no occurrence of myositis or rhabdomyolysis.

References.

- [1]. 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(1):41-54.
- [2]. Keogh AM, Valentine HA, Hunt SA, et al. Impact of proximal or midvessel discrete coronary artery stenoses on survival after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1992;11(5):892-901.
- [3]. Ballantyne CM, Corsini A, Davidson MH, et al. Risk for myopathy with statin therapy in high-risk patients. *Arch Intern Med* 2003;163(5):553-64.
- [4]. Omar MA, Wilson JP. FDA adverse event reports on statin-associated rhabdomyolysis. *Ann Pharmacother* 2002;36(2):288-95.
- [5]. Spinarova L., Toman J. Fluvastatin in patients after transplantation of the heart. *Vnitr Lek* 1998;44(1):13-6.
- [6]. Jones P, Kafonek S, Laurora I, Hunninghake D, for the CURVES Investigators. Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin, and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia. (The CURVES Study). *Am J Cardiol* 1998;81(5):582-7.
- [7]. 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(7):710-5.
- [8]. Patel DN, Pagani FD, Koelling TM, et al. Safety and efficacy of atorvastatin in heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2002;21(2):204-10.
- [9]. Lemahieu WP, Hermann M, Asberg A, et al. Combined therapy with atorvastatin and calcineurin inhibitors: no interactions with tacrolimus. *Am J Transplant* 2005;5(9):2236-43.
- [10]. 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(15):1135-8.
- [11]. Orbaek Andersen H. Heart allograft vascular disease: an obliterative vascular disease in transplanted heart. *Atherosclerosis* 1999;142(2):243-63.
- [12]. Escobar A, Ventura HO, Stapleton DD, et al. Cardiac allograft vasculopathy assessed by intravascular ultrasonography and nonimmunologic risk factors. *Am J Cardiol* 15;74(10):1042-6.
- [13]. Kobashigawa JA, Katznelson S, Laks H, et al. Effect of pravastatin on outcomes after cardiac transplantation. *N Engl J Med* 1995;333(10):621-7.
- [14]. 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(11):1736-40.
- [15]. Wenke K, Meiser B, Thierry J, et al. Simvastatin reduces graft vessel disease and mortality after heart transplantation: a four-year randomized trial. *Circulation* 1997;96(5):1398-402.
- [16]. Wenke K, Meiser B, Thierry J, Reichart B, et al. Impact of simvastatin therapy after heart transplantation an 11-year prospective evaluation. *Herz* 2005;30(5):431-2.
- [17]. Hermann M, Asberg A, Christensen H, Holdaas H, Hartmann A, Reubsæet JL. Substantially elevated levels of atorvastatin and metabolites in cyclosporine-treated renal transplant recipients. *Clin Pharmacol Ther* 2004;76(4):388-91.
- [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(4):336-45.

[19]. Vaverková H, Soška V, Rosolová H, et al. Czech atherosclerosis society guidelines for the diagnosis and treatment of dyslipidemia in adults. *Cor Vasa* 2007;49(3):K 73-K 86.

This manuscript has not been, and will not be, submitted to another journal for publication.

Table 1. Patients characteristics. (IHD – ischemic heart disease, DCMP – dilated cardiomyopathy, RHD – rheumatic heart disease, CsA – cyclosporin A, AZA – azathioprin, MMF – mycophenolate mophetil).

Table 2. Laboratory tests and changes after switching to atorvastatin and tacrolimus after 4 months. Statistical results are related to the base line (***) - $p < 0.0001$; ** - $p < 0.01$; * - $p < 0.05$)

Figure 1. Changes in lipid levels after switching to tacrolimus and atorvastatin after 7 months (n=19). Statistical results are related to the base line (* - $p < 0.0001$).

Blanka Dufková, MD, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Vídeňská 1958/9, Prague 4, 14021, Czech republic. Business telephone: +420 261 365 107, Mobile phone: +420 604 801 970, E-mail: Blanicka.D@seznam.cz, Birth identification number: 805611/0029

Málek Ivan, MD, PhD, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Vídeňská 1958/9, Prague 4, 14021

Vymětalová Yevheniya, MD, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Vídeňská 1958/9, Prague 4, 14021

Hošková Lenka, MD, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Vídeňská 1958/9, Prague 4, 14021

Podzimková Mariana, MD, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Vídeňská 1958/9, Prague 4, 14021

Kautzner Josef, MD, PhD, FESC, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Vídeňská 1958/9, Prague 4, 14021

This study was supported by grant IGA NR 9400-3/2007

Table 1. Patients characteristics.

Number	31
Age	53 ± 10 years
Sex	10 women
	21 men
Baseline disease	IHD (n=13)
	DCMP (n=17)
	RHD (n=1)
Donor age	37 ± 13 years
Time since OHTx	66 ± 42 months
Diabetes mellitus	6
Immunsuppression	CsA (n=31)
	AZA (n=7)
	MMF (n=22)
	Corticoids (n=29)

Table 2. Laboratory tests and changes after switching to atorvastatin and tacrolimus after 4 months.

Variables	base line	after 1 month	after 4 months	N
Total cholesterol (mmol/l)	6.06 ± 0.89	4.74 ± 0.70 ***	4.82 ± 0.82 ***	27
TG (mmol/l)	2.48 ± 1.15	1.81 ± 0.83 ***	2.0 ± 1.28 *	27
HDL-cholesterol (mmol/l)	1.78 ± 0.55	1.76 ± 0.52	1.66 ± 0.64	21
LDL-cholesterol (mmol/l)	3.21 ± 0.77	2.13 ± 0.69 ***	2.27 ± 0.66 ***	18
Apo – A (mmol/l)	1.82 ± 0.33	1.86 ± 0.48	1.86 ± 0.50	20
Apo- B (mmol/l)	1.07 ± 0.2	0.76 ± 0.19 ***	0.76 ± 0.19 ***	21
Glucose (mmol/l)	5.52 ± 1.5	5.52 ± 0.82	5.43 ± 1.5	26
Creatinine (µmol/l)	135.22 ± 39.77	130.76 ± 35.08	128.96 ± 31.09	27
Urea (mmol/l)	10.32 ± 3.46	9.04 ± 2.94 **	8.71 ± 3.04 **	27
Creatin kinase (µkat/l)	1.52 ± 1.05	1.35 ± 1.05	1.68 ± 1.30	26
CK-MB (µkat/l)	0.24 ± 0.08	0.28 ± 0.07	0.28 ± 0.07	19
LDH (µkat/l)	3.34 ± 1.24	3.14 ± 0.60	3.33 ± 0.75	20
Total bilirubin (µmol/l)	15.37 ± 8.37	12.84 ± 7.44	14.46 ± 8.04	27
AST (µkat/l)	0.4 ± 0.17	0.36 ± 0.14	0.39 ± 0.19	27
ALT (µkat/l)	0.43 ± 0.24	0.41 ± 0.16	0.49 ± 0.24	27
ALP (µkat/l)	0.36 ± 0.53	1.30 ± 0.51	1.30 ± 0.51	26
GMT (µkat/l)	1.29 ± 1.62	1.18 ± 1.31	1.51 ± 1.76	27
Erythrocytes (ele x 10 ¹²)	4.36 ± 0.69	4.19 ± 0.49	4.22 ± 0.86	27
Hemoglobine (g/l)	137.85 ± 13.68	134.66 ± 11.81	138.33 ± 14.39	27
Hematocrite	0.38 ± 0.03	0.37 ± 0.03 *	0.38 ± 0.04	27
Thrombocytes (ele x 10 ⁹)	240.40 ± 55.65	237.40 ± 63.99	223.07 ± 57.14 *	27
Leukocytes (ele x 10 ⁹)	6.86 ± 1.62	6.82 ± 1.40	7.12 ± 1.58	27
Lymphocytes (ele x 10 ⁹)	1.66 ± 0.63	1.55 ± 0.57	1.55 ± 0.64	27
Neutrophiles (ele x 10 ⁹)	4.40 ± 1.30	4.47 ± 1.08	4.64 ± 1.25	27

Statistical results are related to the base line (***) - p<0.0001; ** - p<0.01; * - p<0.05)

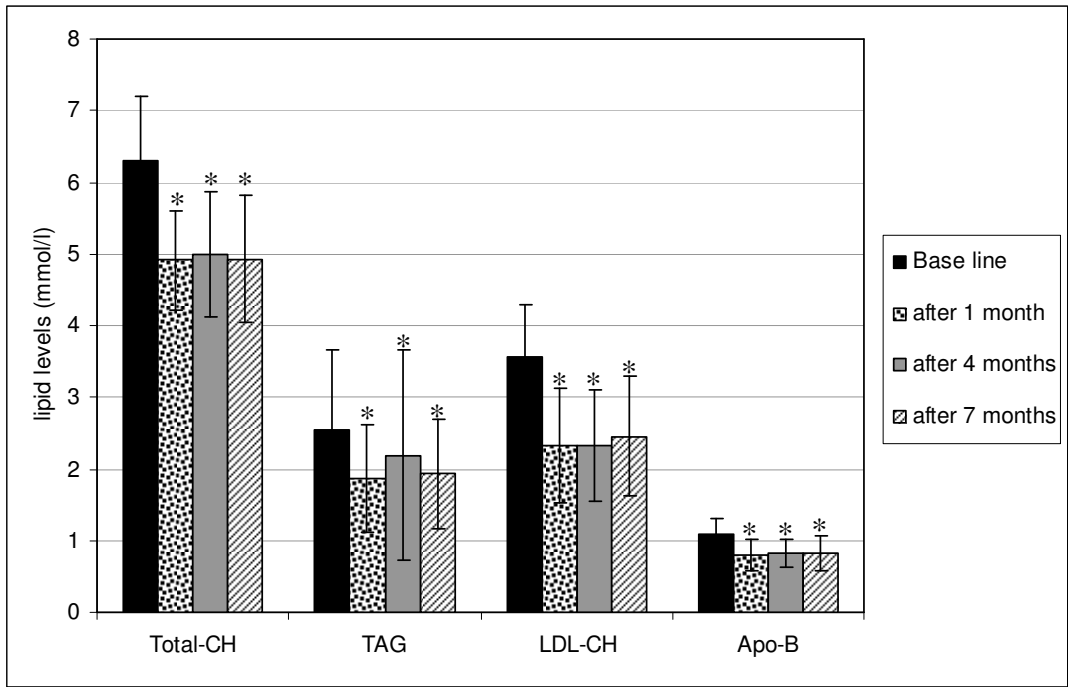


Figure 1. Changes in lipid levels after switching to tacrolimus and atorvastatin after 7 months (n=19). Statistical results are related to the base line (* - p<0.0001).

Příloha 3.

Den mladých kardiologů, 28.6.2005, Praha. (abstrakt přednášky)

Konverze na tacrolimus u pacientů po transplantaci srdce s refrakterní rejekcí

Blanka Dufková, Ivan Málek
Klinika kardiologie, IKEM

Úvod: Klasická imunosupresivní profylaxe u pacientů po ortotopické transplantaci srdce (OTS) je založena na trojkombinaci cyklosporinu A, azathioprinu nebo mykofenolátu mofetilu a kortikoidů. Tacrolimus (TAC) spolu s cyklosporinem A (CyA) patří do skupiny kalcineurinových inhibitorů. Spektrum nežádoucích účinků je u TAC i CyA obdobné (nefrotoxicita, hypertenze), ale dle výsledků některých studií je TAC narozdíl od CyA schopen ovlivnit probíhající akutní rejekci štěpu.

Cíl: Zhodnotit vliv tacrolimu na probíhající akutní rejekci a výskyt akutních rejekcí po konverzi.

Soubor: Sledovali jsme soubor 19 pacientů po OTS (6 žen, 13 mužů, věkový průměr $52,5 \pm 8$), u nichž byla v letech 2001-2005 provedena konverze na tacrolimus pro opakované nálezy vyšších stupňů akutní rejekce v endomyokardiálních biopsiích (EMB). V EMB je dle Banffské klasifikace histologicky hodnocena lymfocytární infiltrace myokardu a stupeň poškození myocytů. Porovnávali jsme výskyt akutních rejekcí celkem v 6 EMB u každého pacienta, z nichž 3 byly provedeny před konverzí a zbylé 3 po konverzi na TAC. Každý stupeň Banffské klasifikace byl bodově ohodnocen (škála 1-6 bodů), následně byl proveden součet bodů a průměr pro celý soubor. Dalšími sledovanými parametry byl vliv tacrolimu na krevní tlak, hladinu sérového kreatininu a cholesterol. Při konverzi následovala první dávka TAC 12 hodin po posledním podání CyA, počáteční dávka byla 0,1-0,15 mg/kg rozdělená do dvou denních dávek, hladina byla stanovena po podání 5 dávek. U všech pacientů bylo dosaženo cílových hladin (10-20 ng/ml).

Výsledky: U všech pacientů byl tacrolimus tolerován. Ovlivnění probíhající akutní rejekce a pokles výskytu vyšších stupňů akutních rejekcí po konverzi na tacrolimus bylo statisticky významné (před konverzí $8,2 \pm 2,16$, po konverzi $2,39 \pm 1,61$, $p < 0,001$). Významný byl i pokles hodnot systolického krevního tlaku (mm Hg) (před $135 \pm 14,0$, po $129 \pm 9,3$, $p=0,034$), u diastolického tlaku nebyl pokles statisticky významný (před $86 \pm 9,8$, po $83 \pm 7,3$, $p=0,315$). Zaznamenali jsme nárůst hladiny sérového kreatininu po konverzi (před $107 \pm 25,6 \mu\text{mol/l}$, po $117 \pm 25,9 \mu\text{mol/l}$, $p=0,017$). Naopak hladiny cholesterolu se po konverzi statisticky významně snížily (před $5,3 \pm 1,06 \text{ mmol/l}$, po $4,7 \pm 0,80 \text{ mmol/l}$, $p=0,001$).

Závěr: Tacrolimus nejen příznivě ovlivňuje probíhající refrakterní akutní rejekce, ale následně snižuje jejich další výskyt. Dále byl po konverzi zaznamenán pokles systolického krevního tlaku a cholesterolu, diastolický krevní tlak se významně nelišil a hladiny sérového kreatininu mírně vzrostly. Konverze na tacrolimus je vhodnou léčebnou metodou u pacientů s opakovanými akutními rejekcemi.

Příloha 4.

XIV. Výroční sjezd České kardiologické společnosti, 10.5.2006, Brno.
(abstrakt přednášky)

PŘÍNOS TACROLIMU U PACIENTŮ PO ORTOTOPICKÉ TRANSPLANTACI SRDCE

DUFKOVÁ B, MÁLEK I

*Klinika kardiologie, Institut klinické
a experimentální medicíny, Praha*

Úvod: Tacrolimus (TAC) patří spolu s cyklosporinem A (CyA), který byl více než 20 let hlavním imunosupresivem po ortotopické transplantaci srdce (OTS), do skupiny kalcineurinových inhibitorů. V posledních letech užití TAC stále vzrůstá, protože oproti CyA má některé výhody.

Cíl: Zhodnotit indikace konverze na TAC, jeho toleranci, vliv na akutní rejekce a některé laboratorní změny.

Soubor a metodika: Hodnotili jsme soubor 36 pacientů po OTS (14 žen, 22 mužů, věk 52 ± 12 let), u kterých byla provedena v letech 2001–2005 konverze z CyA na TAC. Byla hodnocena tolerance TAC, vliv na systolický a diastolický krevní tlak, na hladinu sérového kreatininu a cholesterolu. U 23 pacientů (63,8 %) byla konverze provedena pro opakované celulární akutní rejekce štěpu. U této podskupiny byl navíc sledován vliv TAC na opakující se akutní buněčné rejekce. Byly hodnoceny 3 EMB s akutními rejekcemi před konverzí a 3 EMB po konverzi. Stupně Banffské klasifikace byly bodově ohodnoceny, bylo vypočítáno skóre u každého pacienta před konverzí a po konverzi.

Statistika: Statistické zpracování bylo provedeno párovým *t*-testem.

Výsledky: TAC v rozmezí terapeutických hladin byl u všech pacientů dobře tolerován. Nedošlo k významné změně systolického a diastolického tlaku ani sérového kreatininu. Pokles cholesterolu byl statisticky významný: $4,84 \pm 1,12$ mmol/l před konverzí vs. $4,47 \pm 0,84$ mmol/l po konverzi, $p < 0,01$.

Pokles akutních buněčných rejekcí byl statisticky významný: $8,53 \pm 1,65$ bodů před konverzí vs. $2,32 \pm 1,60$ bodů po konverzi, $p < 0,001$.

Závěr: Tacrolimus se ukazuje jako bezpečné imunosupresivum účinné především u pacientů s rekurentní buněčnou rejekcí. TAC je přínosem v imunosupresivní profylaxi po OTS.

Příloha 5.

*I. Československý transplantční kongres, 10/2006, Brno.
(abstrakt přednášky)*

BEZPEČNOST A ÚČINNOST KOMBINOVANÉ LÉČBY ATORVASTATINEM A TACROLIMEM U PACIENTŮ PO TRANSPLANTACI SRDCE

Dufková B., Málek I.

Klinika kardiologie IKEM, Praha

Úvod:

Statiny jsou součástí standardní medikace po transplantaci srdce (TxS), při výběru preparátu jsme však omezeni interakcí s cyklosporinem A (CyA).

Cíl:

Zhodnotit bezpečnost a účinnost kombinace tacrolimu (TAC) a atorvastatinu u pacientů po Tx s dyslipidemií i při léčbě fluvastatinem.

Metodika:

Soubor: 23 pacientů (15 mužů) s opakovaně zjištěnou hodnotou celkového cholesterolu nad 5.5 mmol/l i při léčbě fluvastatinem. Základním imunosupresivem byl CyA. Provedli jsme konverzi s CyA na TAC a z fluvastatinu na atorvastatin v počáteční dávce 20 mg/d. Kontroly spojené s odběrem krve jsou prováděny ve 3 měs. intervalech do 1 roku. V této práci jsou zhodnoceny nálezy z prvních 3 měsíců. Statistika: párový t-test, ANOVA test.

Výsledky:

TAC byl dobře tolerován, u žádného pacienta se neobjevily bolesti svalů či zvýšení CK. Po měsíci došlo ke statisticky významnému poklesu hladiny celkového cholesterolu (před 6.21 ± 0.89 ; po 4.86 ± 0.70 mmol/l; $p < 0,0001$), poklesu LDL cholesterolu (před 3.66 ± 0.94 ; po 2.48 ± 0.78 mmol/l; $p < 0,0001$), poklesu ApoB (před 1.11 ± 0.2 ; po 0.78 ± 0.19 g/l; $p < 0,0001$) a poklesu triacylglycerolu (před 2.56 ± 1.03 ; po 1.97 ± 0.71 mmol/l; $p < 0,0026$). Hladina HDL cholesterolu a ApoA se nezměnila. Nedošlo rovněž ke změnám kreatininu, urey a jaterních testů. 16 pacientů absolvovalo i kontrolu za 3 měsíce. Hladiny cholesterolu, LDL cholesterolu a ApoB zůstaly snižené proti počátečním hodnotám, avšak oproti první kontrole po měsíci se již významně nezměnily.

Závěr:

Konverze na TAC s následným zahájením terapie atorvastatinem je pacienty dobře tolerována a dochází k významnému snížení celkového cholesterolu, LDL cholesterolu a apolipoproteinu ApoB.

Příloha 6.

15th Alpe-Adria Cardiology Meeting, 05/2007, Brno.
(abstrakt přednášky)

EFFICACY AND SAFETY OF COMBINED THERAPY WITH ATORVASTATIN AND TACROLIMUS IN HEART TRANSPLANT RECIPIENTS

DUFKOVÁ B, MÁLEK I

*Department of Cardiology,
Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague*

Introduction: HMG-CoA inhibitors are part of the standard medication after orthotopic heart transplantation (OHTx), but they could interact with cyclosporin A (CyA).

Aim: To evaluate the efficacy and safety of combined therapy with atorvastatin and tacrolimus (TAC) in heart transplant recipients with dyslipidemia in spite of fluvastatin therapy.

Method: We followed up a group of 23 OHTx patients (8 women, 15 men, age range $52,56 \pm 11,78$) with repeatedly detected levels of total cholesterol above 5.5 mmol/L in spite of fluvastatin therapy. CyA was the main immunosuppressive agent. Subsequently, the patients were switched to TAC and atorvastatin at a starting dose of 20 mg. Follow-up with blood tests was performed one month after conversion and then every three months for up to one year. At the time of writing this abstract, follow-up data controls one month and four month after conversion were being evaluated. Statistics: pair *t*-test, ANOVA test.

Results: TAC was tolerated by all patients, with no evidence of myalgia or creatine kinase elevation. Total cholesterol levels declined significantly after one month (6.21 ± 0.89 mmol/L before conversion; 4.86 ± 0.70 mmol/L after conversion; $p < 0.0001$), as did LDL cholesterol (3.66 ± 0.94 vs. 2.48 ± 0.78 ; $p < 0.0001$) and apolipoprotein-B (1.11 ± 0.02 vs. 0.78 ± 0.19 g/L; $p < 0.0001$). By contrast, the levels of HDL-cholesterol, apolipoprotein-A and creatinine changed only non-significantly. A subgroup of 16 patients underwent follow-up examinations after four months. Their levels of total cholesterol, LDL-cholesterol and apolipoprotein-B remained decreased compared with those before conversion, but they did not change significantly in accordance with the control after the first month.

Conclusion: Switching to TAC with subsequent atorvastatin therapy after OHTx resulted in significant decreases in cholesterol, LDL-cholesterol and apolipoprotein-B levels.

Příloha 7.

II. Československý transplantční kongres, 09/2008, Starý Smokovec, Slovenská republika (abstrakt posteru).

Bezpečnost a účinnost kombinované léčby atorvastatinem a tacrolimem u pacientů po transplantaci srdce (roční sledování)

Dufková B., Málek I.

Klinika kardiologie, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, Česká Republika

Úvod: Inhibitory HMG-CoA - statiny - jsou součástí standardní medikace po ortotopické transplantaci srdce (OTS), ve výběru vhodného statinu jsme však limitováni interakcí s cyklosporinem A (CyA). Předchozí studie na zdravých dobrovolnících ukázala účinnost a zejména bezpečnost atorvastatinu podávaného spolu s tacrolimem (TAC).

Cíl: Zhodnotit bezpečnost a účinnost kombinované terapie atorvastatinem a TAC u pacientů po OTS, u kterých i přes léčbu fluvastatinem přetrvávaly vysoké hladiny lipidů.

Metody: Sledovali jsme skupinu 31 pacientů po OTS (9 žen, 22 mužů, věkový průměr 54 ± 10) s opakovaně zjištěnou hladinou celkového cholesterolu nad 5,5 mmol/l v průběhu léčby fluvastatinem. CyA byl hlavním imunosupresivem. Následně byli pacienti konvertováni na TAC a atorvastatin (počáteční dávka 20 mg). První kontrola byla měsíc po konverzi a dále ve 4, 7, 10 a 13 měsíci. Pro statistické vyhodnocení dat byl použit ANOVA test.

Výsledky: TAC byl tolerován u většiny pacientů. U žádného pacienta nebyla po konverzi zaznamenána myositida, rhabdomyolýza či elevace kreatinkinázy. Došlo ke statisticky významnému poklesu hladin celkového cholesterolu ($6,1 \pm 0,9$ mmol/l před konverzí; $4,7 \pm 0,6$ jeden měsíc po konverzi; $p < 0,0001$), LDL-cholesterolu ($3,3 \pm 0,9$ mmol/l vs. $2,4 \pm 0,9$ mmol/l; $p < 0,0001$) a apolipoproteinu-B ($1,1 \pm 0,2$ mmol/l vs. $0,8 \pm 0,2$ mmol/l; $p < 0,0003$) a jejich hladiny zůstaly sníženy i v průběhu dalšího sledování. Naopak hladiny HDL-cholesterolu, apolipoproteinu-A, kreatininu a jaterních testů se změnilly pouze nevýznamně.

Závěr: Konverze na TAC spolu s terapií atorvastatinem po OTS byla dobře tolerována a při této léčbě došlo ke statisticky významnému poklesu hladin celkového cholesterolu, LDL-cholesterolu a apolipoproteinu-B.