

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmakologie a toxikologie

IMUNOSUPRESIVNÍ TERAPIE

Diplomová práce

Prohlašuji, že tato práce je mým původním dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

Jitka Pichlová

ABSTRAKT

Imunosupresivní léčba je využívána všude tam, kde je zapotřebí tlumit nežádoucí aktivitu imunitního systému. Takovými klinickými situacemi jsou především stavy provázející transplantace orgánů a autoimunitní nemoci. Cílem imunosupresivní léčby je omezení nežádoucí imunitní aktivity, tj. přerušit aktivaci T- a B-lymfocytů. Na druhé straně co nejméně potlačit buňky nespecifické imunity, které zprostředkovávají imunitní reakci na nejrůznější zánětlivé stimuly bez ohledu na specifický antigen.

Použití imunosupresiv je spojeno se zvýšeným rizikem infekcí všech typů, a to i jinak vzácných. Navíc je zvýšené riziko vzniku lymfomů a dalších malignit, a proto je nutné zvažovat přínos vs. rizika terapie.

Tato práce nabízí přehled látek používaných v imunosupresivní terapii. Z počátku k nim patřily nespecifické cytotoxické látky (azathioprin, cyklofosfamid) a kortikosteroidy. Následně se přidaly cyklosporin A, takrolimus, sirolimus a mykofenolát mofetil. Významného pokroku v imunosupresivní terapii bylo dosaženo zavedením polyklonálních a hlavně monoklonálních protilátek.. Jejich použitím je zpravidla dosahováno dobrých klinických výsledků a jsou většinou dobře tolerovány.

ABSTRACT

Immunosuppressive therapy is used wherever it is necessary to inhibit unwanted immune system activity. Such clinical situations are the conditions accompanying organ transplantation and autoimmune diseases. The goal of immunosuppressive therapy is to reduce unwanted immune activity, ie to stay activated T and B lymphocytes. On the other hand, as little as possible to suppress non-specific cell immunity which mediate the immune response to various inflammatory stimuli, regardless of the specific antigen.

Application of immunosuppressants is associated with an increased risk of infections of all types, and to otherwise rare. Moreover, an increased risk of developing lymphomas and other malignancies, therefore it is necessary to consider the benefits vs. risks of therapy.

This work offers an overview of the substances used in immunosuppressive therapy. From the beginning they were non-specific cytotoxic agents (azathioprine, cyclophosphamide) and corticosteroids. Subsequently, it added ciclosporin A, tacrolimus, sirolimus and mycophenolate mofetil. Significant progress in immunosuppressive therapy has been achieved mainly by introducing polyclonal and monoclonal antibodies . Their use is generally achieved good clinical results and are well tolerated.

CÍLE

V léčbě autoimunitních chorob a při prevenci rejekce v transplantologii se uplatňuje velké množství imunosupresiv. Cílem této práce je zmapovat jejich vývoj a pokroky v imunosupresivní léčbě od zavedení cytostatik (azathioprin, cyclofosfamid), použití kortikoidů, mykofenolátu mofetilu a následně cyklosporinu A, takrolimu či sirolimu. Podstatná část bude věnována monoklonálním protilátkám, které tvoří rozsáhlou skupinu dnes používaných imunosupresivních léčiv.

OBSAH

1	ÚVOD.....	8
2	ANTIPROLIFERATIVNÍ LÁTKY.....	15
2.1	Azathioprin	15
2.2	Cyklofosfamid	17
2.3	Mykofenolát mofetil	18
3	KORTIKOSTEROIDY.....	22
4	KALCINEURINOVÉ INHIBITORY.....	29
4.1	Cyklosporin A.....	32
4.2	Takrolimus	34
5	INHIBITORY mTOR.....	37
5.1	Sirolimus.....	37
5.2	Everolimus	39
6	POLYKLONÁLNÍ PROTILÁTKY	40
7	MONOKLONÁLNÍ PROTILÁTKY A DALŠÍ BIOLOGICKÁ LÉČIVA	42
7.1	Monoklonální protilátky proti T-lymfocytům	45
7.1.1	Muromonab.....	45
7.2	Léčiva namířená proti aktivačním markerům T-lymfocytů.....	47
7.2.1	Abatacept	47
7.3	Léčiva proti TNF α	49
7.3.1	Adalimumab.....	54
7.3.2	Infliximab.....	55
7.3.3	Etanercept	55
7.4	Léčiva proti B-lymfocytům	56
7.4.1	Rituximab.....	57
7.5	Protilátky proti receptoru pro interleukin 2	59
7.5.1	Basiliximab	61
7.5.2	Daclizumab	62

7.6	Antagonista receptoru pro interleukin 1	62
7.6.1	Anakinra.....	62
7.7	Léčiva namířená proti adhezním molekulám.....	63
7.7.1	Efalizumab	63
7.7.2	Alemtuzumab.....	64
7.7.3	Natalizumab	65
	ZÁVĚR	69
	SEZNAM ZKRATEK	70
	SEZNAM OBRÁZKŮ	71
	POUŽITÁ LITERATURA	72

1 ÚVOD

Imunosupresivní léčba je využívána všude tam, kde je zapotřebí tlumit nežádoucí aktivitu imunitního systému. Takovými klinickými situacemi jsou především autoimunitní imunopatologické nemoci a stavy provázející xenogenní transplantace orgánů. Imunosupresiva se používají buď v monoterapii, nebo v kombinaci, mohou se podávat dlouhodobě v nižších dávkách, nebo jsou podávány nárazově v dávkách vysokých (Krejsek; 2004).

Většina z těchto léčiv má nízký terapeutický index a jejich širšímu použití brání zvýšené nebezpečí infekcí všech typů, riziko vzniku lymfomů a dalších malignit. Kromě toho mají významné lékové interakce, které mohou snižovat hladiny a účinnost imunosupresiv, což má za následek rejekci transplantátu nebo zhoršení autoimunitního onemocnění (Fireman; 2004).

▪ Mechanismy imunitní odpovědi

B-lymfocyty

Účinná B-lymfocytární odpověď, vedoucí k tvorbě protilátek, je podmíněna kooperací s T-lymfocyty (Krejsek; 2004). Ty poskytnou druhý signál prostřednictvím svých informačních molekul, které se vážou na příslušné receptory B-lymfocytu. K takové interakci dochází buď při těsném kontaktu buněk (vazba CD40 a CD40L), anebo na dálku. Po obdržení druhého signálu začne buňka intenzivně přepisovat geny pro imunoglobuliny do mRNA a překládá je na ribozomech do podoby bílkovin. Pokud buňka neobdrží druhý signál, začne místo tvorby protilátek proces apoptózy (Jílek; 2002).

B-lymfocyty mohou sloužit jako buňky prezentující antigen T-lymfocytům a prostřednictvím protilátek výrazně ovlivňovat regulační a efektorové mechanismy přirozené imunity. Pro B-lymfocyty je typická schopnost migrovat. Jejich pohyb je regulován prostřednictvím chemokinů.

Glykoproteiny produkované B-lymfocyty jako odpověď na stimulaci antigenem jsou nazývány protilátkami. Uvolňování protilátek předchází vazba antigenu na

imunoglobuliny zakotvené na membráně B-lymfocytů a následná prezentace antigenu prostřednictvím makrofágů nebo samotnými B-lymfocyty.

Protilátky mají za úkol neutralizovat infekční agens, která se nacházejí buď na slizničním povrchu, nebo jsou přítomny v rozmanitých tělních tekutinách. Protilátky zesilují schopnost přirozené imunity fagocytovat a aktivovat komplementový systém (Humlová; 2006).

T-lymfocyty

Převážná většina T-lymfocytů dozrává v thymu. Při pobytu v thymu probíhá u nezralých T-lymfocytů přeskupení genových úseků a vznikají geny kódující řetězce receptoru pro antigen na T-lymfocytech - TCR. Aby mohl TCR rozpoznat antigen, musí být antigen zpracován v antigen-prezentujících buňkách (APC). Za APC buňky jsou považovány monocyto-makrofágové elementy, které mají schopnost fagocytovat cizorodý materiál. Ještě efektivněji mohou zpracovávat cizorodý materiál B-lymfocyty. Za nejefektivnější antigen-prezentující buňku je v současnosti považována dendritická buňka.

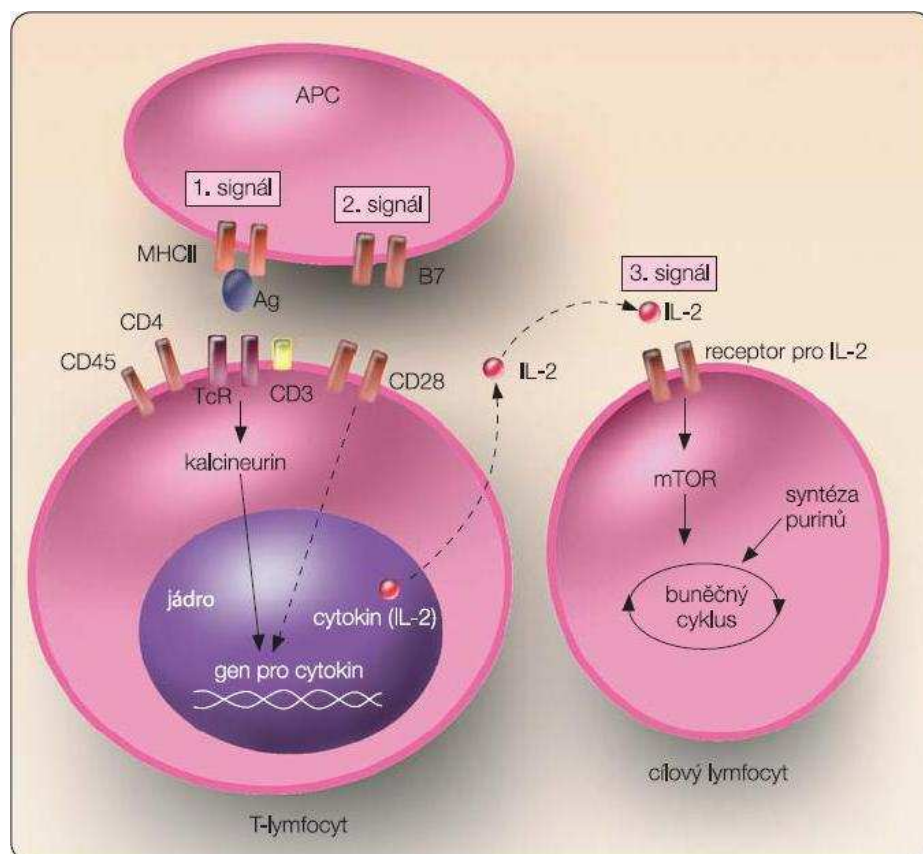
Aby mohl TCR na buňce účinně fungovat, je nutné, aby se v jeho těsné blízkosti nacházely další molekuly. Jde především o komplex CD3, jehož úkolem je přenos signálu o vazbě antigenu na TCR do nitra buňky. Přítomnost znaku CD3 charakterizuje zralé T-lymfocyty a slouží k jejich identifikaci (Jílek; 2002).

Rozpoznání antigenního peptidu prostřednictvím TCR spolu s interakcí s molekulami HLA I. nebo II. třídy je nutnou podmínkou specifického rozpoznání. Pro plnou aktivaci a klonální expanzi T-lymfocytů však nepostačuje. Rozpoznání musí být doplněno řadou dalších interakcí mezi T-lymfocytem a APC nebo spíše mezi specifickou a nespecifickou imunitou (viz obr. 1). Za klíčové jsou považované tzv. ko-stimulační interakce. Ko-stimulační interakce zajišťují T-lymfocytu potřebnou úroveň II. signálů. Prototypem těchto reakcí jsou např. interakce mezi molekulou CD28 vyjádřenou na T-lymfocytech a molekulami B1-7 (CD80), B7-2 (CD86) na APC. Uvedené interakce významně doplňuje vazba mezi molekulami CD40 antigen-prezentujících buněk a jejich ligandy, molekulami CD40L (CD154) na T-lymfocytech. Chybění ko-stimulační reakce vede buď k funkčnímu vyřazení lymfocytu nebo dokonce k jeho delecii.

Kromě ko-stimulačních interakcí vyžaduje T-lymfocyt další aktivační podněty zprostředkované vazbou molekuly $CD4^+$ na řetězce HLA II. třídy, respektive molekuly $CD8^+$ na molekuly HLA I. třídy. Mnohočetné membránové interakce jsou navíc doplňovány komplexním humorálním prostředím představovaným směsí cytokinů produkovaných jak APC, tak T-lymfocyty.

Když jsou všechny kroky potřebné pro aktivaci T-lymfocytů úspěšně realizovány, dochází složitým mechanismem k přenosu aktivačních signálů do nitra buňky. Zde jsou zapojovány rozmanité aktivační procesy, které vedou ke stimulaci genů kódující různé cytokiny, zejména IL-2. Syntéza purinových a pyrimidinových nukleotidů de novo, je nezbytná k tomu, aby T-lymfocyty mohly zahájit buněčný cyklus a proliferovat (Krejsek; 2004).

Obr. 1: Vztah mezi prvním, druhým a třetím imunologickým signálem



Ag – antigen, *mTOR* – mammalian target of rapamycin,
MHC II – molekula hlavního histokompatibilního komplexu
 (Saudek; 2006)

▪ Základní koncepce imunosuprese

Cílem imunosupresivní léčby je omezení nežádoucí imunitní aktivity, tj. přerušit aktivaci T- a B-lymfocytů, které jsou hlavními nositeli imunitní odpovědi na cizí antigeny. Na druhé straně by imunosupresiva neměla potlačit buňky nespecifické imunity, které zprostředkovávají imunitní reakci na nejrůznější zánětlivé stimuly bez ohledu na specifický antigen. Cílem imunosuprese je dosažení stavu, kdy příjemce akceptuje přítomnost štěpu, avšak zachovává rezistenci k infekcím a tumorům.

Nadměrná inhibice T- a B-lymfocytů je podkladem vzniku toxicity spojené s imunosupresivní účinkem, která se projevuje zejména rozvojem virových, protozoárních nebo mykotických infekcí anebo vznikem malignit. Imunosupresivní léčbu provází také velké množství nežádoucích účinků, které nemají imunosupresivní povahu. Typickým příkladem je nefrotoxicita kalcineurinových inhibitorů cyklosporinu A a takrolimu, nebo hepatotoxicita azathioprinu, neurotoxicita takrolimu nebo poruchy lipidového metabolismu sirolimu.

Nové imunosupresivní strategie chtějí zlepšit nejen účinnost, ale i bezpečnostní profily léčby (*Hawksworth; 2009*). Nejnovějším přístupem v imunosupresivní terapii je takzvaný „tailoring“, tedy jakési „šití imunosupresivní kombinace na míru“ jednotlivým pacientům po zvážení jejich rizik, predispozic a dosavadních problémů. Takový postup, kterým se snažíme co nejvíce léčbu individualizovat, umožnilo v posledních letech rozšíření škály dostupných imunosupresiv. Je zřejmé, že pacient trpící osteoartrózou a diabetem II. typu nebude mít prospěch ze stejných imunosupresiv jako pacient trpící arteriální hypertenzí a hyperlipidémií (*Kuypers; 2002*).

▪ Indikace imunosupresivní léčby

Autoimunitní onemocnění

Nemoci z autoimunity představují situaci, kdy imunitní systém reaguje na vlastní struktury tak, že je poškozují. Dochází ke ztrátě imunologické tolerance poškozovaných tkání. Terapeutické řešení těchto poruch spočívá v tlumení poškozujících imunitních mechanismů, jako je blokáda proliferace lymfocytů, či tlumení syntézy cytokinů.

Ideálním řešením by bylo znovunastolení efektivní tolerance těchto struktur. Toleranci se však zatím daří navodit jen u laboratorních zvířat (Jílek, 2008).

Transplantace orgánů

Imunosupresivní léčba po transplantacích orgánů má minimalizovat riziko vzniku akutní rejekce. Imunosupresivní léčba se zahajuje co nejdříve po transplantaci a podává se po celý zbytek života nemocného, resp. po celý zbytek funkce jeho štepů (Hawksworth; 2009).

Indukční léčbou je označovaná velmi intenzivní imunosuprese v časném období po transplantaci. Jejím cílem je zabránit rejekci štepů v období, kdy je imunitní odpověď na aloantigen nejintenzivnější (Kirk; 2006). Indukční terapie je pravděpodobně jedním z nejdůležitějších objevů posledních let. V roce 1996 pouze 35% všech pacientů po transplantaci ledviny dostalo nějaký druh indukční terapie. V roce 2005 toto číslo už vystoupalo na více jak 75% pacientů (Mueller; 2008).

Udržovací imunosuprese je méně intenzivní než indukční léčba a klade si za cíl profylaxi akutní rejekce při zachování protiinfekční imunity. Jednotlivá imunosupresiva se kombinují do imunosupresivních režimů. Imunosupresiva se kombinují proto, aby byly zasaženy různé úrovně imunitní odpovědi a aby se jednotlivé látky mohly podávat v nižších dávkách. Tím se omezí nežádoucí účinky, které jsou často na dávce závislé (Kirk; 2006).

▪ Vývoj imunosupresivní terapie

V prvním období orgánových transplantací, tj. v „předcyklosporinové éře“, byla udržovací imunosuprese založena na kombinaci purinového antagonisty azathioprinu a relativně vysokých dávek prednisonu. Tato kombinace bývá obvykle označována za „konvenční imunosupresi“ (Vítko; 2009). V udržovací terapii je dnes vidět posun od cyklosporinu A k takrolimu, stejně jako od azathioprinu k mykofenolátu mofetilu. Používání steroidů kleslo v roce 2005 z téměř 100% na méně než 70% (Mueller; 2008). Začátkem 60. let bylo spektrum imunosupresivních molekul rozšířeno o první biologické látky – tzv. polyklonální globuliny (ATG-antithymocytární a ALT-antilymfocytární), které byly získávány senzibilizací koní nebo králíků. Od začátku 80.

let minulého století, kdy byl do klinické praxe uveden cyklosporin A, byly možnosti potransplantační imunoprese obohaceny o takrolimus, se stejným mechanismem účinku jako cyklosporin, ale s jiným profilem nežádoucích účinků. V 90. letech byl azathioprin nahrazen jiným antimetabolitem, kyselinou mykofenolovou.

Imunosupresivní látky obohatily zejména inhibitory proliferčních signálů (známé i jako mTOR inhibitory), sirolimus a jeho derivát everolimus, které jsou na rozdíl od CNI téměř bez nežádoucích nefrotoxických účinků. K polyklonálním globulinům přibýly monoklonální protilátky proti T-receptoru lymfocytů (OKT3) a zejména monoklonální protilátky proti receptoru IL-2 (daclizumab a basiliximab) (Vítko; 2009). Použití anti-IL2 protilátek stoupl od začátku tohoto století o 40% (Mueller; 2008).

Nové biologické látky zcela změnil vžitý názor, který doposud panoval v transplantační medicíně. Tradiční představa je, že se protilátky podávají jako indukční zásah v perioperačním období s cílem vyvolat nespecifickou depleci T-lymfocytů. Nová generace netoxických biologických látek byla vyvinuta pro udržovací imunopresi. Dlouhodobá biologická léčba je možná díky tomu, že byla zdokonalena „humanizace“ protilátek, a proto jejich dlouhodobá imunogenicita téměř vymizela.

Pro léčbu revmatoidní artritidy byl schválen abatacept, fúzní protein, který je kompetitivním antagonistou CD28. Belatacept, který byl speciálně vyvinut pro transplantace, je abataceptem druhé generace, protože má větší afinitu k receptoru CD86. Efalizumab, humanizovaná monoklonální protilátka, byl v roce 2003 schválen pro léčbu psoriázy. V současnosti se vyvíjí jeho subkutánní forma, která bude testována v udržovací léčbě po orgánových transplantacích. Ve II. fázi klinického zkoušení u nemocných po transplantaci ledviny bylo dosaženo slibných výsledků, nicméně pacienti s vyšší dávkou efalizumabu v kombinaci s cyklosporinem měli vyšší incidenci potransplantačních lymfoproliferací. Další protilátkou, která byla již schválena pro léčbu Crohnovy choroby a roztroušené sklerózy, je natalizumab. Pro četný výskyt nežádoucích účinků je jeho využití v transplantační medicíně je nejasné.

Dosavadní pokrok v transplantologii byl dosažen především imunopresivou, která inhibovala imunitní odpovědi na T-lymfocyty. Proto T-buňkami zprostředkovaná akutní rejekce přestala být závažným problémem. Nyní se dostala do popředí pozornosti imunitní odpověď zprostředkovaná B-buňkami. Rituximab, který je schválen pro léčbu B-buněčných malignit, je nyní „of label“ podáván u nemocných vyžadujících účinnou depleci B-buněk exprimujících CD20.

Kromě „úspěšných molekul“ byl konec minulého století poznamenán i některými selháními: do řádného klinického testování nepostoupil inhibitor metabolismu purinů – deoxyspergualin a pro podezření z nefrotoxicity bylo u nemocných po transplantaci ledviny předčasně pozastaveno klinické zkoušení FTY720 (antagonista sfingosin 1-fosfatázy), se zcela jedinečným mechanismem účinku. Začátek nového tisíciletí nepřinesl – na rozdíl od devadesátých let – téměř žádné nové molekuly, které by byly specificky indikovány pro orgánové transplantace.

Hlavním cílem současného vývoje nových imunosupresivních látek je snaha o nalezení molekul, které nebudou dlouhodobě toxické (*Vítko; 2009*).

2 ANTIPROLIFERATIVNÍ LÁTKY

2.1 Azathioprin

Azathioprin je purinovým analogem (viz obr. 2) s antiproliferativními vlastnostmi a komplexním mechanismem účinku. Účinkuje jako kompetitivní inhibitor syntézy purinových nukleosidů.

Již koncem 60. let minulého století, kdy byl azathioprin zaveden do klinické praxe, bylo zjištěno, že kombinace azathioprinu a prednisonu dokáže u nemocných po transplantaci ledviny a jater zabránit rejekci štěpu. Až do objevu cyklosporinu A byla jejich kombinace považována za standardní imunosupresivní léčbu. Její výsledky však nebyly optimální. 85% takto léčených příjemců prodělalo alespoň jednu rejekční epizodu akutní rejekce a jenom 50% štěpů přeživalo jeden rok po transplantaci.

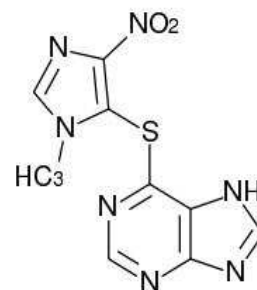
Azathioprin se používá v léčbě hematoonkologických onemocnění u dětí a také v rámci imunosupresivní terapie autoimunitních onemocnění nebo idiopatických střevních zánětů u pacientů rezistentních k jiné léčbě. S úspěchem se využívá v léčbě autoimunitních onemocnění jako systémový lupus erythematoses, revmatoidní artritida, vaskulitidy atd. V transplantologii je azathioprin stále častěji nahrazován mykofenolátem mofetilem (*Suchý; 2004*).

▪ Mechanismus účinku

Azathioprin je proléčivo, z něhož vznikají vlastní účinné thioguaninové metabolity, které se jako falešné báze inkorporují do nukleových kyselin a inhibují tak jejich transkripci. Azathioprin je imidazolový derivát 6-merkaptopurinu, který se po absorpci v těle rychle neenzymaticky mění na 6-merkaptopurin. Ten se transferázou mění na 6-thioinosinovou kyselinu, která je jeho hlavním biologicky aktivním metabolitem. Kyselina se potom mění na thioguanosintrifosfát, který může být inkorporován do nukleových kyselin a tím inhibuje syntézu purinů. Alternativní cestou

Obr. 2:

Strukturní vzorec azathioprinu



metabolismu 6-merkaptopurinu je přeměna na 6-thiomočovou kyselinu, kterou zprostředkuje enzym xantinoxidáza (*Barshes; 2004*). Na to je nutné pamatovat při současném užívání inhibitorů xantinoxidázy (allopurinol). A to především při léčbě hyperurikémie, aby se předešlo případným toxickým účinkům nakumulovaného 6-merkaptopurinu a jeho derivátů. Jen malá část podaného azathioprinu prochází nezměněná organizmem a je vylučována z těla močí (*Taylor; 2005*).

Hlavní mechanismus účinku azathioprinu je jeho zásah do metabolické dráhy biosyntézy purinových bází. Nejsilněji působí na buňky, které jsou v S-fázi buněčného cyklu. V S-fázi dochází k syntéze DNA. Selektivně působí na replikující se T- a B-lymfocyty po stimulaci antigenem (*Barshes; 2004*).

Azathioprin ovlivňuje funkci B-lymfocytů s následnou redukcí produkce γ -globulinů a cytokinů. Snižuje citlivost B-lymfocytů k signálům z T-buněk, omezuje populaci NK buněk a snižuje jejich aktivitu, ovlivňuje i cytotoxicitu závislou na protilátkách (*Lincová; 2007*).

▪ Nežádoucí účinky

Nezávažnějším nežádoucím účinkem azathioprinu je myelotoxicita, hlavně leukopenie, ale také megaloblastová anémie a trombocytopenie. V případě leukopenie musí být jeho podávání zastaveno. Dále byla prokázána hepatotoxicita, která může nastat již při malých dávkách azathioprinu. Často se objevuje nauzea, zvracení a průjem. Nezanedbatelné je i zvýšené riziko rozvoje infekčních onemocnění, méně často se vyskytují alergické kožní reakce (*Barshes; 2004*).

Azathioprin patří mezi karcinogenní látky. Dvě velké epidemiologické studie ukázaly, že u pacientů po transplantaci ledvin, kteří byli léčeni kombinací azathioprinu a prednisonu, byl vyšší výskyt nonHodgkinových lymfomů, kožních nádorů a hepatobiliárních karcinomů (*Domhan; 2008*).

2.2 Cyklofosfamid

Alkylační agens cyklofosfamid (viz obr. 3) účinkuje na úrovni nukleových kyselin prakticky během všech fází buněčného cyklu, zejména však v S-fázi. Má účinek cytotoxický, imunosupresivní a protizánětlivý (Perini; 2008).

Cyklofosfamid je považován za nejúčinnější imunosupresivum, které bylo dosud syntetizováno. Ničí nejen proliferující lymfoidní buňky, ale bylo zjištěno, že alkyluje i některé buňky klidové. Mechanismus, kterým působí jako imunosupresivum, je alkylace DNA, zejména v proliferujících (ale i neproliferujících) buňkách. Tím interferuje se syntézou DNA a její funkcí. Cyklofosfamidem jsou ovlivněny jak B-, tak T-lymfocyty, ale toxicita je vyšší vůči B-buňkám, protože rychlost jejich obnovy je pomalejší. V důsledku toho má největší účinek na potlačení humorální imunity. Je-li podán ve vysokých dávkách, může vyvolat specifickou toleranci na nový antigen, kterému je současně vystaven.

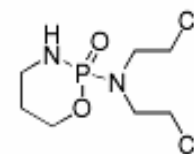
Cyklofosfamid se metabolizuje v játrech na aktivní alkylační metabolity. Lze jej podávat jak perorálně, tak intravenózně. Vylučuje se zejména ledvinami, takže při poruše funkce ledvin je třeba jeho dávku redukovat. Četné klinické studie prokázaly, že cyklofosfamid zpomaluje progresi jizvícího procesu v ledvinných glomerulech a snižuje riziko rozvoje konečného stádia ledvinného selhání.

▪ Nežádoucí účinky

Nežádoucí účinky cyklofosfamidu jsou častější než u azathioprinu. Jedná se především o útlum krvetvorby, gastrointestinální potíže, většinou reverzibilní alopecii, poškození gonád, zvýšené riziko infekce, urotoxicitu a vznik sekundárních malignit. Zvláště opatrně musí být podáván u nemocných s leukopenií. Je pravidlem, že počet leukocytů by neměl klesnout pod $2 \times 10^9/l$. Pravidelné sledování hodnot krevního obrazu je zcela nezbytné. Jako prevence poškození močového měchýře je nutno zajistit dostatečný příjem tekutin a lze podávat 2-merkaptotansulfonát (MESNA), který na sebe váže akrolein (metabolit cyklofosfamidu, který vyvolává akutní cystitidu). Je rovněž prokázáno, že působí teratogenně, a proto před zahájením léčby a během ní je nutno vyloučit případnou graviditu. Velké dávky cyklofosfamidu mohou být

Obr. 3:

Cyklofosfamid



doprovázeny hemoragickou cystitidou, kardiotoxicitou a vážnou formou pancytopenie. Dlouhodobé podávání je spojeno se zvýšeným výskytem nádorů močového měchýře a kožních malignit (*Lincová; 2007*).

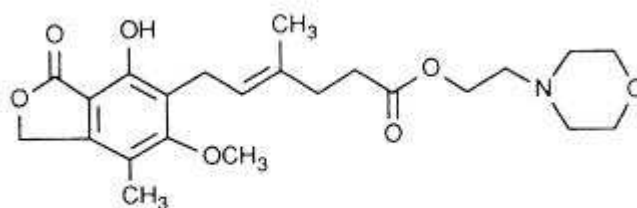
▪ Klinické použití

V malých dávkách se užívá v léčbě autoimunitních onemocnění, jako je systémový lupus erythematoses (SLE), Wegenerova granulomatóza, idiopatická trombocytopenická purpura a revmatoidní artritida (*Perini; 2008*).

2.3 Mykofenolát mofetil

Mykofenolát mofetil (MMF) je semisyntetický ester mykofenolové kyseliny (MPA) (viz obr. 4), syntetizovaný s cílem zvýšit její biologickou dostupnost (*Matl; 2000*). Nejdříve byl zkoumán jako lék na lupénku. Tento výzkum byl však zastaven pro jeho závažné nežádoucí účinky – hlavně myelosupresi a průjem. Teprve později byl studován jako potenciální imunosupresivum (*Barshes; 2004*).

Obr. 4: Chemický strukturní vzorec MMF



▪ Mechanismus účinku

MPA, aktivní metabolit MMF, je nekompetitivní, reverzibilní inhibitor inosinmonofosfát dehydrogenázy (IMPDH). Tento enzym je klíčový pro de novo syntézu purinů. Inhibicí je blokována výstavba guanosinových nukleotidů potřebných pro syntézu DNA (*Akhavan; 2008*).

B- a T-lymfocyty nejsou na rozdíl od ostatních buněk vybaveny alternativní metabolickou cestou pro syntézu purinů, a proto jsou závislé výhradně na purinové syntéze. Blokáda MPA tak umožňuje specifický antiproliferativní účinek pouze na lymfocyty. MPA má navíc 5x vyšší afinitu k IMPDH typu II, která převládá v lymfocytech. Tím je zvýšena selektivita k lymfocytům (*Barshes, 2004*). MMF působí podobně jako antimetabolit azathioprin, který však postrádá specifičnost k lymfocytům a působí i na jiné buňky (*Matl; 2000*).

Výsledkem působení MMF na imunitní systém je snížení tvorby efektorových lymfocytů důležitých pro T-buňkami zprostředkované funkce a také produkci protilátek. U T-lymfocytů, které jsou již stimulované antigenem, se předpokládá indukce apoptózy, která eliminuje klony buněk odpovídajících na antigenní stimulaci. Postižením T-lymfocytů, které samy produkují působky hrající klíčovou roli v další imunitní odpovědi, jako jsou cytokiny IL-2 a IL-4 regulující růst lymfocytů nebo IFN- γ (interferon- γ) ovlivňující syntézu antigenů hlavního histokompatibilního systému (*Allison; 2000*).

Jiným důsledkem inhibice IMPDH je omezení glykosylace proteinů adhezivních molekul, které mají schopnost přichytit se na endotel cév štěpu a hrají nezastupitelnou roli v rejekci štěpu. V mnoha studiích byl prokázán rovněž inhibiční účinek MMF na produkci protilátek (*Surjushe; 2008*).

▪ Farmakokinetika

Po perorálním i intravenózním podání se MMF rychle a kompletně metabolizuje jaterními esterázami na aktivní metabolit - MPA (*Taylor; 2005*). Maximální koncentrace je dosaženo asi za 1 hodinu po podání a je snižována přítomností potravy. Druhé maximum, které se objeví za 6 až 12 hodin po užití léku, je přisuzováno enterohepatální cirkulaci (*Barshes, 2004*). Experimentální i klinické studie potvrdily, že cyklosporin A inhibuje enterohepatální oběh MPA, a tím způsobuje až 50% pokles jeho hladin. Důsledkem může být rozvoj akutní rejekce aloštěpu (*Kuypers; 2008*).

MPA je v játrech metabolizovaná na neaktivní glukuronid. Ten je po vyloučení do žluče konvertován glukuronidázami zpět na MPA, která je resorbována a

recirkulována. Eliminační poločas je přibližně 18 hodin, většina dávky je vylučována močí a jen nevýznamné množství stolicí (*Surjushe; 2008*).

MMF má natolik komplexní farmakokinetiku, že často během prvních několika měsíců po transplantaci je expozice MPA nižší než v delším období po transplantaci. Tyto nižší koncentrace mohou být způsobeny renální dysfunkcí nebo urémií vedoucí ke snížené vazbě mykofenolové kyseliny k albuminu a její snadnější eliminaci.

MMF je typickým příkladem léků, které mají být podávány podle monitorování terapeutických koncentrací (*Kiberd; 2004*).

▪ Nežádoucí účinky

Nežádoucí účinky jsou závislé na dávce. Lze tedy jejich průběh ovlivnit redukcí dávky. Mezi nejběžnější nežádoucí účinky patří bolesti břicha, nauzea, zvracení a průjem, který je obzvláště běžný v kombinaci MMF s cyklosporinem A. V kombinaci MMF a cyklosporinu se průjem objevuje zcela pravidelně (*Barshes, 2004*).

S podáváním MMF stoupá výskyt bakteriálních, plísňových a virových infekcí. Stoupá také riziko vzniku lymfomů a kožních malignit. K dalším nežádoucím účinkům patří anémie, trombocytopenie, nespavost a hyperglykémie (*Surjushe; 2008*).

▪ Klinické použití

Je používán v transplantologii k profylaxi i terapii rejekce transplantátu. Snižuje výskyt akutních rejekcí, zlepšuje funkci transplantovaných orgánů a snižuje mortalitu nemocných (*Quiroz; 2002*) Klinické studie ukázaly, že MMF je ideální náhradou za azathioprin, jelikož není hepatotoxický. Bylo jednoznačně prokázáno, že MMF snižuje riziko rejekcí, pokud je používán v kombinaci s takrolimem či cyklosporinem A.

Použití MMF umožnilo snížení dávek cyklosporinu až o 22% (*Marsi; 2003*), aniž by došlo ke zvýšení počtu rejekčních epizod. Tento postup by měl současně mít i šetřící vliv na ledviny. V případě, kdy u pacienta dojde při standardní terapii k opakovanému vzestupu kreatininu nad 180 $\mu\text{mol/l}$, měl by být azathioprin nahrazen

MMF. Tato strategie vedla ve všech případech k zastavení progresu renální insuficience nebo dokonce ke zlepšení ledvinových funkcí (*Schlitt; 2001*).

Vyřazení steroidů z imunosupresivní léčby po transplantaci ledviny a pokračování terapie pouze MMF a cyklosporinem nezpůsobuje akutní rejekci ani zhoršení funkcí ledvin (*Boletis; 2001*).

Dále zlepšuje klinické i laboratorní parametry pacientů s revmatoidní artritidou, kteří špatně reagují na konvenční léčbu. Podání je účinné i v léčbě nefritidy provázející SLE (*Quiroz; 2002*). Existují i studie podporující používání MMF v léčbě atopické dermatitidy. U pacientů bylo pozorováno výrazné zlepšení nemoci a současně snížení sérových IgE hladin (*Akhavan; 2008*).

3 KORTIKOSTEROIDY

Kortikosteroidy se používají u celé řady klinických stavů, při kterých se předpokládá přínos jejich imunosupresivních a protizánětlivých účinků. (Lincová; 2007). Indikovány jsou v léčbě systémových či orgánových autoimunitních, alergických a zánětlivých chorob (Suchý; 2004), či v transplantační medicíně, kde se začaly používat začátkem 50. let, k udržovací imunosupresi či k antirejekční léčbě, a to buď samotné nebo v kombinaci s jinými imunosupresivy (Lincová; 2007).

▪ Mechanismus účinku

Většina účinků glukokortikoidů je ve tkáních zprostředkována pasivní difúzí z plazmy přes buněčnou membránu do cytoplazmy buněk. Tento pochod je zprostředkován specifickými receptory, jež jsou označeny jako typ 1-MR, určený pro glukokortikoidy (GK) s převážně mineralokortikoidním účinkem (aldosteron apod.), a typ 2-GR, určený pro GK s převážně glukokortikoidním účinkem (kortisol a syntetické deriváty). Receptory typu 1 jsou umístěny zejména v ledvinách a v různých částech mozku a jsou pokládány za rozhodující pro klidovou regulaci cirkadiální adrenokortikální aktivity. Receptory typu 2 jsou přítomny prakticky ve všech buňkách organismu a zprostředkovávají protizánětlivou a metabolickou aktivitu glukokortikoidů.

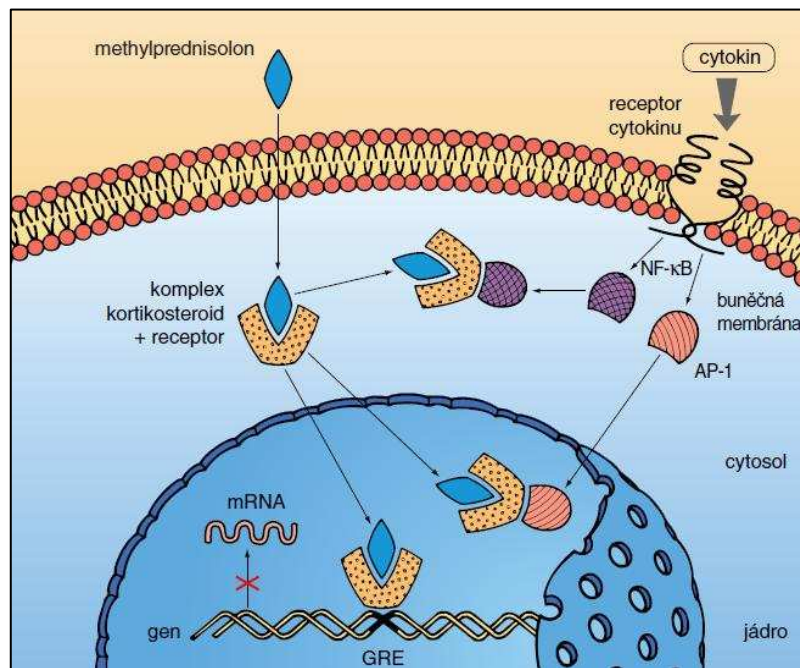
Hlavní nitrobuněčné působení glukokortikoidního receptorového komplexu zahrnuje kompetitivní inaktivaci nukleárního faktoru NF κ B, který je významným činitelem genové transkripce při buněčné tvorbě většiny prozánětlivých cytokinů (viz obr. 5) (Bamberger; 1995). Důsledkem inhibice NF κ B je omezená exprese CD28. Kortikoidy inhibují i expresi indukce CD40, povzbuzují tvorbu cAMP a destabilizují četné messengerové RNA (Suchý; 2004).

Receptor typu 2 má dva podtypy, α - a β -typ; α -typ zprostředkovává klasické protizánětlivé aktivity glukokortikoidního receptoru. Forma β naopak potlačuje aktivitu glukokortikoidů. Převažuje-li v buňce aktivita β - formy, stává se rezistentní vůči glukokortikoidům (Bamberger; 1995).

Tento tzv. genomový mechanismus účinku vytváří určité zpoždění nástupu účinku (minimálně několik hodin), které je způsobeno nutností převodu genetické

informace do bílkovinné podoby. Všechny účinky steroidů však nevykazují toto zpoždění, některé účinky jsou pozorovatelné v řádech sekund nebo minut. Z tohoto důvodu se předpokládá také existence membránových receptorů pro kortikosteroidy. (Boumpas; 1993)

Obr. 5: Mechanismus účinku methylprednisolonu



GRE- glucocorticoid response elements; **NFκB** - nuclear factor kappa B, významný transkripční faktor zúčastněný v regulaci mnoha genů během fyziologických i patologických procesů (např. růstových faktorů, cytokinů);

(Dostál; 2004)

▪ Účinky glukokortikoidů

GK svými mnohočetnými účinky ovlivňují většinu fyziologických funkcí organismu. Ovlivňují zásadním způsobem metabolismus glycidů, tuků a proteinů. Snižují utilizaci glukózy, zvyšují glukoneogenezi a vyvolávají hyperglykémii. V důsledku toho se zvyšuje sekrece insulínu a dochází ke zvýšenému ukládání glykogenu v játrech. Katabolický účinek se sníženou syntézou proteinů se projevuje obzvláště v kosterním svalstvu. V tukové tkáni mají glukokortikoidy účinek na

lipolytickou odpověď na katecholaminy a na jiné hormony, které působí cestou zvýšení intracelulární koncentrace cAMP.

Mineralokortikoidní účinky se u exogenně podávaných glukokortikoidů projevují v různé míře a ve vyšších koncentracích mohou způsobovat retenci sodíku a ztráty draslíku.

Permisivní účinek glukokortikoidů je nutný pro normální schopnost ledvin vylučovat vodu a pro zachování glomerulární filtrace. Zabraňují přesunu vody do buněk a udržují tak extracelulární objem tekutiny. V srdci a cévách se jejich působení projeví zvýšenou selektivitou ke katecholaminům a angiotenzinu II, zvyšuje se kontraktilita myokardu i cévní tonus. Přímé podání do cév vyvolá vazokonstrikci.

GK vyvolávají zvýšení gastrické sekrece kyseliny solné a pepsinu a zvyšují vstřebávání lipidů ze střeva. Zasahují do homeostázy vápníku a vyvolávají negativní vápníkovou bilanci, čímž se snižuje celkové množství vápníku v organismu. Příčinou je snížení absorpce vápníku ve střevě a zvýšení exkrece vápníku ledvinami.

K ovlivnění kostní tkáně dochází jednak regulací metabolismu kalcia a fosfátů, jednak zvýšením katabolismu v pojivové tkáni zásahem do syntézy kolagenu. Při dlouhodobém podávání zvyšují osteoklastickou resorpci kostní matrix. Tyto mechanismy způsobují zvýšený sklon k osteoporóze (*Lincová; 2007*).

GK patří mezi nejméně selektivní imunopresiva, neboť působí na všechny fáze zánětlivé odpovědi. Zabraňují proliferaci T-lymfocytů a produkci cytokinů, vyvolávají apoptózu lymfocytů, ovlivňují přesuny lymfocytů do štěpu a snižují expresi HLA komplexu. Cílovými buňkami účinku kortikosteroidů jsou hlavně pomocné T-lymfocyty a buňky monocyto-makrofágového komplexu (*Suchý 2004*).

Prvotním výsledkem aktivity glukokortikoidů na buněčné úrovni je potlačení kaskády prozánětlivých mediátorů (např. INF- γ , prostaglandinu E₂, leukotrienů, apod.) a imunitních mechanismů, včetně cytokinů (např. TNF- α , IL-1, IL-12 apod.) (*Ramsahoye; 1995*). Inhibice produkce cytokinů po podání kortikosteroidů je reverzibilní děj. Při jejich náhlém vysazení dochází k „rebound fenoménu“, který je daný silnou proliferací T-lymfocytů (*Suchý; 2004*).

Mají minimální supresivní účinek na zralé B-lymfocyty, zatímco potlačují aktivaci nezralých T-lymfocytů, aktivovaných T-efektorových lymfocytů, NK buněk a nezralých B-buněk. Pokud jde o produkci protizánětlivých cytokinů, ovlivňují mírně pozitivně produkci IL-4 a IL-10.

Důsledkem je potlačení aktivace makrofágů a projevů buněčné imunity. Proto choroby zprostředkované prvotně makrofágy a buněčnou imunitou mají tendenci dramaticky odpovídat na terapii glukokortikoidy. Naproti tomu choroby, jež jsou pravděpodobně zprostředkovány humorálně imunitním mechanismem, jako např. systémový lupus erythematoses s lupusovou nefritidou, vyžadují léčení vysokými suprafyziologickými dávkami k potlačení jejich aktivity (*Ramsahoye; 1995*).

▪ Nežádoucí účinky

Kortikosteroidy mají mnoho nežádoucích účinků, které jsou velmi závislé na dávce a začínají vyskytovat již po 2 týdnech užívání (*Barshe; 2004*).

Pokud léčba kortikoidy pouze nahrazuje endogenní nedostatečnost (tzv. substituční terapie), nevede nikdy k nežádoucím vedlejším účinkům. Proti tomu podávání léčebných dávek GK, které přesahují fyziologickou potřebu, vyvolá klinický syndrom, jehož příznaky připomínají Cushingův syndrom, i když vlastní tvorba glukokortikoidů a androgenů je iatrogeně potlačena (*Tegzová; 2004*).

Nejběžnějším důsledkem dlouhodobého užívání kortikosteroidů je osteoporóza, která je charakterizována úbytkem kostní hmoty, změnou mikroarchitektury kosti a snížením mechanické odolnosti kosti se zvýšením rizika fraktur. Steroidy stimulují osteoklasty, což jsou buňky, které produkují enzymy degradující kostní kolagen, a naopak snižují produkci osteoblastů, které produkují kostní bílkoviny. Dále snižují reabsorpci vápníku v gastrointestinálním traktu a zvyšují jeho vylučování močí. Řídnutí kostí se často projevuje bolestí v zádech.

Frekventovaně se vyskytují mykotické infekce kůže a mukózních membrán. Dále je to tzv. Cushingoidní vzhled nemocného. Dochází k zvýšení chuti k jídlu a tím i tělesné hmotnosti, vzniká obezita s maximem tuku v oblasti břicha a obličeje. Na kůži břicha vznikají strie, které se vyskytují u 50 – 70% pacientů následkem ztráty kolagenu. Nemocný bývá velmi unavený a mívá časté změny nálad, velmi často se u něj vyskytuje deprese. Kortikosteroidy zvyšují glykémii tím, že stimulují glukoneogenezi, zvyšují insulinovou rezistenci a ovlivňují metabolismus mastných kyselin. Často se proto vyvíjí diabetes mellitus 2. typu (tzv. steroidní diabetes). Dochází ke zvýšení krevního tlaku a jeho možných komplikací. Kortikosteroidy potlačují pulzní produkci GnRH (gonadotropine-releasing hormone) a tím i produkci LH (luteinizační hormon) a FSH

(folikuly stimulující hormon). Důsledkem je neplodnost, nepravidelná menstruace nebo amenorea u žen. U mužů dochází k poklesu libida a impotenci. Potlačěním produkce růstového hormonu dochází k poruchám růstu zejména u pediatrických pacientů (*Barshes; 2004*).

▪ Lékové interakce

Kortikosteroidy jsou metabolizovány cytochromem P4503A4 a jsou považovány za jeho induktory. Inhibitory tohoto cytochromu, jako ketokonazol, diltiazem a další, zvyšují hladiny kortikoidů, čímž zvyšují jejich toxické účinky. Naopak fenobarbital, fenytoin, rifampicin a ostatní induktory cytochromu P4503A4 mohou hladiny kortikoidů snížit, což může způsobit rejekci štěpu nebo zhoršení autoimunitních onemocnění (*Fireman; 2004*).

▪ Zástupci glukokortikoidů

V lidském těle se přirozeně objevuje jako glukokortikoidní hormon kortisol (hydrokortison). Byly vyrobeny četné syntetické deriváty, z nichž jsou však nejčastěji široce užívány prednison, prednisolon a methylprednisolon. Jedním z nejaktivnějších syntetických derivátů kortisolu je dexamethason a betamethason, který však není obecně užíván pro dlouhodobou protizánětlivou léčbu, neboť má příliš dlouhý poločas eliminace.

Účinek methylprednisolonu, podobně jako ostatních syntetických derivátů kortisonu, je ovlivňován mnoha faktory, především velikostí dávky a formou aplikace, dále reakcí nemocného, charakterem choroby a jinými tkáňovými proměnnými. Účinek při perorálním podávání je dán jeho vazbou na tzv. kortisol vazebný globulin („transcortin“), který je přítomen jak v plazmě, tak i v různém množství ve tkáních.

Prednisolon má stejný glukokortikoidní účinek jako prednison. Ten se však musí při jeho podání nejprve transformovat v játrech na prednisolon. Proto v dnešní době většina klinických lékařů u onemocnění, která dobře reagují na léčení glukokortikoidy, dává přednost užívání prednisolonu, nebo ještě lépe jeho methylované formě, methylprednisolonu, jelikož nemá žádný mineralokortikoidní účinek (*Boumpas; 1993*).

▪ Klinické použití

Kortikosteroidy tvoří stále důležitou složku imunosupresivních režimů a jsou to léky první volby při léčbě akutní rejekce. Nízké dávky kortikosteroidů jsou dostatečně účinné na klidové buňky, pro blokádu aktivovaných však nestačí. Proto se v léčbě akutních rejekčních epizod podávají vysoké dávky steroidů intravenózně, obvykle methylprednisolonu (*Taylor; 2005*).

Hlavními indikacemi pro perorální a injekční podání methylprednisolonu jsou také všechna onemocnění, o kterých je známo, že na tuto léčbu velmi rychle a pozitivně reagují. Na prvním místě jsou to systémová revmatická autoimunitní onemocnění, mezi která se řadí revmatoidní artritida, juvenilní idiopatická artritida, SLE, některé formy sklerodermie, systémové vaskulitidy, Wegenerova granulomatóza, dále Sjogrenův syndrom primární a sekundární a rovněž antifosfolipidový syndrom. Méně výrazně reaguje Behcetova a Kawasakiho choroba (*Boumpas; 1993*).

Glukokortikoidy jsou používány také u pacientů trpících atopickým ekzémem, psoriázou, seborrhoickou dermatitidou. U autoimunitních onemocnění se závažným průběhem je vhodné podávat kortikoidy tzv. pulzní terapií. Ta spočívá ve vysokých dávkách, které jsou podávány po několik dnů. Po nich následuje postupné vysazení. Tato pulzní terapie prokazatelně omezí poškozující složky zánětů a obvykle indukuje klinickou remisi, která může trvat i několik měsíců.

Systémové kortikoidy mají omezenou roli v léčbě závažné atopické dermatitidy. Jejich použití bývá nejčastěji krátkodobé, pro léčbu akutních zarudnutí nebo jako dočasné opatření pro zvládnutí onemocnění. Ačkoli chronická léčba systémovými kortikoidy bývá obhajovaná jako efektivní a přínosná léčebná metoda, na druhou stranu však s sebou nese řadu nežádoucích účinků (*Akhavan, 2008*).

Pro jejich nežádoucí účinky je snaha kortikoidy redukovat. Hlavním rizikem při redukci imunosupresivní léčby v transplantologii je vznik rejekce. Na riziku rejekce se podílejí dva hlavní faktory, a to doba od transplantace a délka období po transplantaci, po které je redukce prováděna. K tomu přistupuje třetí faktor, a tím je individuální dispozice k rejkci (*Matl²; 2000*).

S objevením cyklosporinu A se poprvé objevila možnost vyloučit kortikoidy z udržovací imunosupresivní léčby úplně. Nejčastějším používaným režimem byla trojkombinace cyklosporinu A, prednisonu a azathioprinu. Tato imunosuprese byla

používána v prvních 3–6 měsících po transplantaci, tedy v době nejvyššího rizika rejekcí.

Vysazení azathioprinu z trojkombinace nebylo spojeno s větším rizikem. Naopak vysazení cyklosporinu A přinášelo vysoké riziko rejekce a dlouhodobé přežívání štěpu bylo nižší. Vysazením prednisonu se redukovaly jeho nežádoucí účinky, což mělo význam pro některé skupiny pacientů, jako jsou diabetici, děti, příjemci nad 60 let, pacienti s kostní chorobou či hyperlipidemií (*Matl²; 2000*).

Dvě dvojité slepé, randomizované studie, které se zabývaly pozdním stažením kortikoidů se současnou léčbou cyklosporinem A a MMF, prokázaly jak potenciální rizika, tak výhody této strategie. Studie byla zastavena kvůli nadměrné rejekci štěpu ve skupině bez steroidů. Po 12 měsících se objevila rejekce ve skupině bez prednisonu u 30,8% pacientů, kdežto ve druhé skupině jen u 9,8%. Ve skupině, která neužívala steroidy, měli však pacienti výrazně nižší hladiny cholesterolu a nižší krevní tlak. Studie zjistila, že vysazení steroidů delší dobu po transplantaci s terapií CyA a MMF může znamenat vyšší rejekční riziko, avšak dochází ke snížení nežádoucích účinků (*Vanrenterghem; 2000*). Podobné zprávy byly hlášeny i ze studií, kde pacienti po vysazení steroidů byli léčeni takrolimem a MMF (*Squifflet; 2002*).

Novější studie dokazují, že vysazení steroidů z dlouhodobé imunosuprese je spojeno s jednoznačnými výhodami (*Barshes; 2004*).

4 KALCINEURINOVÉ INHIBITORY

Kalcineurinové inhibitory (CNI) byly zavedeny do klinické praxe okolo roku 1980. Staly se základem pro udržovací imunosupresivní léčbu, jelikož významně snižovaly riziko akutní rejekce. Široké uplatnění našly také v terapii autoimunitních onemocnění.

Mezi CNI patří cyklosporin A (CyA) a takrolimus (*Flechner; 2008*). Mechanismus účinku takrolimu spočívá v inhibici kalcineurinu a je prakticky totožný s mechanismem CyA. Rozdíl je pouze v odlišných imunofilinech, na které se obě látky váží (*Matl; 2000*).

▪ Mechanismus účinku

CNI brání aktivaci T-lymfocytů a inhibují jejich proliferaci. Tím snižují nežádoucí imunitní odpověď organismu vůči vlastním bílkovinám v případě autoimunitních onemocnění, či pomáhají při odhojování transplantovaného orgánu.

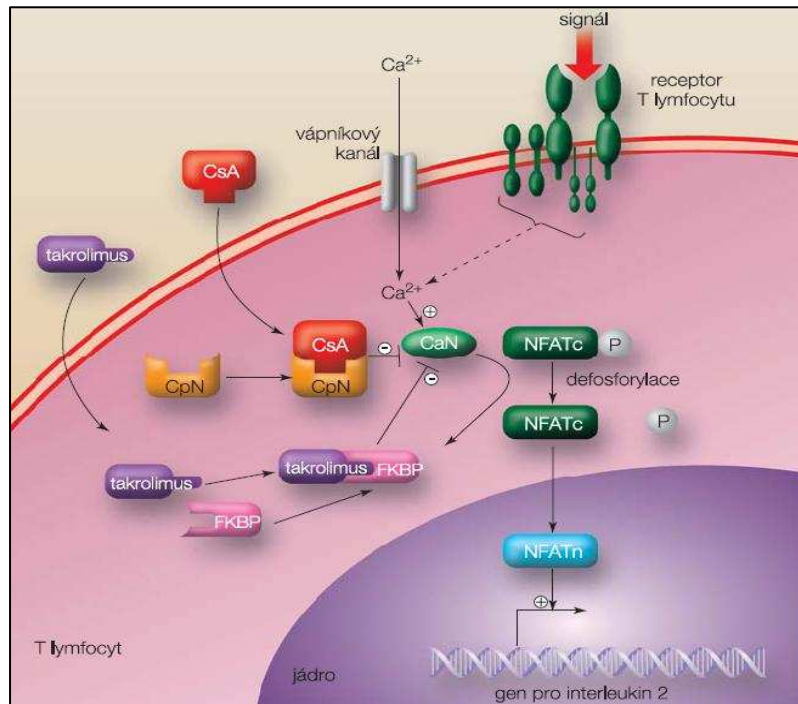
Kalcineurin je cytosolický protein řazený mezi fosfatázy a jeho aktivita je regulována hladinou intracelulárního kalcia prostřednictvím kalmodulinu. Kalmodulinem aktivovaný kalcineurin umožňuje několika nukleárním faktorům (ze skupiny NFAT – nukleární faktor aktivovaných T-lymfocytů) translokaci do buněčného jádra tím, že je defosforyluje. NFAT patří mezi důležité aktivátory transkripce a následné syntézy regulačních cytokinů v T-lymfocytech.

Aktivace T-lymfocytů vyvolává vzestup hladiny intracelulárního kalcia, aktivaci kalmodulinu a následně aktivaci kalcineurinu. Celý proces je závislý na počátečním vzestupu hladiny intracelulárního kalcia, označuje se jako kalcium-dependentní.

Vazba CyA na cyklofilin (*Dostál; 2005*) a takrolimu na FK vazebný protein 12 (FKBP-12) (*Barshes; 2004*) zvyšuje afinitu vůči kalcineurinu a vede ke kalcineurinové inhibici s následným omezením defosforylace NFAT v cytoplasmě buňky. Rovněž je inhibována translokace NFAT do jádra a následně utlumena transkripce a proteosyntéza cytokinů (viz obr. 6). Mezi nejvýznamnější cytokiny, jejichž produkci CNI inhibují, patří IL-2, IL-3, IL-4, granulocytární-makrofágový stimulační faktor a tumor nekrotizující faktor (TNF- γ). Největší význam má omezení produkce IL-2, který se

objevuje několik hodin po antigenní stimulaci pomocných T-lymfocytů a je nezbytný pro zesílení imunitní odpovědi. CyA však neblokuje alternativní cestu produkce IL-2, která je zprostředkována přes CD 28. (Dostál; 2005)

Obr. 6: Mechanismus účinku CNI



(Saudek; 2006)

Zvýšená exprese transformujícího růstového faktoru β (TGF- β) může přispívat k celkovému imunosupresivnímu účinku. TGF- β je silným inhibítoem IL-2 stimulované T-buněčné proliferace a tvorby antigen-specifických cytotoxických T-lymfocytů. Zároveň však stimuluje produkci mezibuněčné matrix a fibrózu, což se pravděpodobně uplatňuje v patogenezi nežádoucích účinků (Matsuda; 2000).

▪ Nežádoucí účinky

Mnohé vedlejší účinky CNI jsou závislé na dávce. Nejzávažnějším účinkem je nefrotoxicita, která je v prvních letech po transplantaci ledviny pozorována až u 50%

nemocných. Způsobuje ji hlavně vazokonstrikce aferentní arterioly, se snížením průtoku krve ledvinami a sníženou glomerulární filtrací. Tyto změny jsou reverzibilní a vymizí s vysazením CNI. Dlouhodobé podávání však může způsobit chronické ireverzibilní změny (Taylor; 2005).

Dlouhodobým cílem je proto minimalizace či vysazení dávek CNI. Je prokázáno, že redukce dávek kdykoli po transplantaci zvyšuje glomerulární filtraci o 10-20%. Jedním z přístupů, jak se vyhnout dlouhodobému užívání CNI, je podávání MMF v kombinaci se steroidy, po předchozí indukční léčbě monoklonální protilátkou daclizumabem. Alternativou je také nahrazení sirolimem, u kterého nebyla nefrotoxicita prokázána (Flechner; 2008).

Hypertenze se vyskytuje u 50-100% pacientů po transplantaci. Její výskyt stoupá s prodlužující se dobou po transplantaci. Chronická hypertenze je závažným rizikovým faktorem, který může způsobit rejekci aloštěpu, selhání ledvin nebo srdeční hypertrofii. Před zavedením CyA do klinické praxe byl výskyt hypertenze jen okolo 20%, zatímco nyní dosahuje až 90% (Miller; 2002).

Neurotoxicita se častěji vyskytuje u takrolimu než CyA. Bolesti hlavy a třes se vyskytují okolo jedné hodiny po podání. Běžná je také nespavost, neklid, křeče, psychózy a halucinace. Dalšími společnými nežádoucími účinky je hyperkalémie, hyperurikémie a hyperlipidémie. Gingivální hyperplazie je typická pro CyA, zatímco alopecie může doprovázet podávání takrolimu (Taylor; 2005).

▪ Imunosupresivní léčba

CNI představují dnes v transplantační medicíně základ většiny imunosupresivních schémat a kombinují se zpravidla s jedním nebo dvěma dalšími profylakticky podávanými léčivy. V monoterapii s výjimkou některých dlouhodobě stabilních pacientů většinou nepostačují, pokud jejich účinek nemá být vykoupen nadměrnou toxicitou vysokých dávek.

Pro svoje výhodnější farmakokinetické vlastnosti, lepší imunosupresivní účinek a celkové příznivější profil nežádoucích, zejména kardiovaskulárních účinků je nyní podstatně více rozšířen takrolimus než CyA.

U řady pacientů dovoluje podávání CNI postupně vysazovat kortikosteroidy, a nebo přímo zahajovat léčbu bez jejich použití. Kombinace, které neobsahují CNI a jsou

rejekce při shodném nebo nižším výskytu nežádoucích účinků ve srovnání s klasickými lékovými formami CyA.

Po perorálním podání se CyA rychle, ale nekompletně vstřebává. Z lékových forem mikroemulzí je vstřebávání rychlejší a dosahuje vyšších plazmatických hladin. Při podání CyA současně s tučným jídlem dojde ke snížení jeho biologické dostupnosti.

Celkem 90-98% CyA se váže na lipoproteiny nebo plazmatické bílkoviny. Jeho distribuční objem svědčí o extenzivní tkáňové distribuci. Vysokých koncentrací CyA je dosahováno v játrech, ledvinách, pankreatu a především v tukové tkáni. Dobře proniká i do synoviální tekutiny.

CyA je v játrech metabolizován cytochromem P4503A4. Zároveň působí jako slabý až středně silný induktor tohoto enzymu. Proto CyA může potenciálně vést k velkému množství lékových interakcí. Při současné terapii CyA a silnými inhibitory CYP3A4 (např. azolová antimykotika, některá makrolidová antibiotika) nebo induktory (např. rifampicin, třezalka tečkovaná) je nutné častější monitorování hladin CyA a v případě potřeby upravit jeho dávky (*Dunn; 2001*).

▪ Klinické použití

Systémová terapie CyA nachází uplatnění ve dvou základních oborech. První oblastí je transplantační medicína, v níž stále představuje základní imunosupresivní léčivo, které se používá v profylaxi rejekce orgánů a tkání a k potlačení zejména buněčně zprostředkovaných projevů autoimunity.

Druhým využitím jsou autoimunitní onemocnění, u kterých může představovat život zachraňující léčivo. Rozsáhlou skupinu těchto chorob představují systémová autoimunitní revmatická onemocnění. V souvislosti se změnami ve strategii léčby revmatoidní artritidy se CyA v současné době používá nejen u jejích refrakterních forem, ale také u časných forem. Významné uplatnění našel v kombinované terapii revmatoidní artritidy, kdy se přidává k nedostatečně účinnému léčivu. Nadále zůstává alternativou u pacientů, kteří netolerují methotrexát.

K dalším onemocněním, při jejichž terapii se CyA využívá, patří především psoriáza, atopická dermatitida a endogenní uveitida. Jeho použití je vyhrazeno především pro pacienty se závažnými formami těchto onemocnění nebo pro ty, kteří nereagují na standardní terapii. Použití CyA u autoimunitních onemocnění je limitováno

především jeho nefrotoxicitou a rizikem rozvoje špatně kontrolované hypertenze (Dostál; 2005).

Během posledních let byl CyA a perorální CNI snad nejčastěji používanými imunopresivami k léčbě atopické dermatitidy. Účinnost cyklosporinu A v léčbě atopické dermatitidy jak u dětí, tak dospělých byla prokázána mnoha klinickými studiemi. Stejně jako u kortikoidů je dlouhodobé používání CyA spojeno s rizikem nežádoucích účinků, a proto by léčba neměla překračovat dobu jednoho roku. (Akhavan; 2008).

4.2 Takrolimus

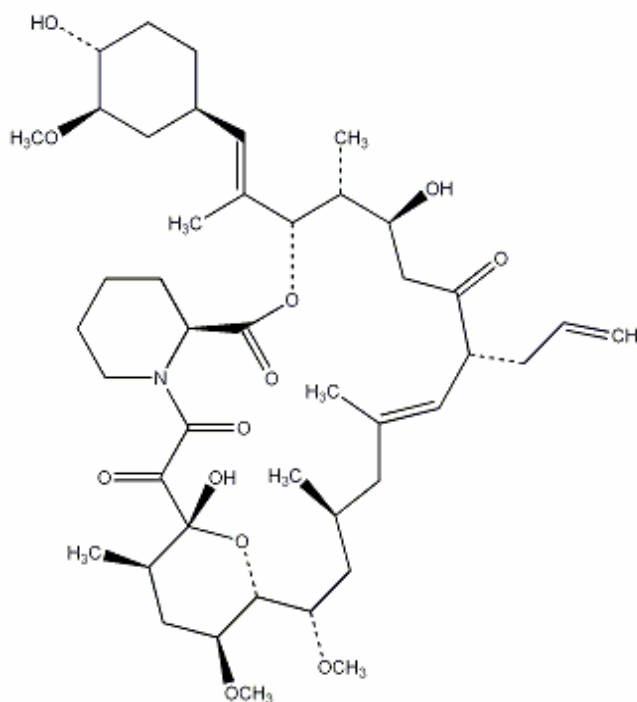
Takrolimus (FK-506) je makrolidové antibiotikum (viz obr. 8), izolované ze *Streptomyces tsukubiensis*, s mechanismem účinku podobným cyklosporinu A.

V klinické praxi je FK-506 dostupný déle než 10 let a je považován za základní stavební kámen imunoprese po orgánových transplantacích (Alloway; 2007). Široké využití našel také v léčbě autoimunitních onemocnění.

▪ Mechanismus účinku

Podobně jako CyA patří mezi látky s vazbou na imunofiliny. V cytoplasmě buněk obsazuje specifický receptor, v tomto případě tzv. FK binding protein 12. Tento komplex se váže na kalcineurin a inhibicí této kinázy brání aktivaci transkripčních faktorů. V důsledku toho nedochází v T-lymfocytech k produkci cytokinů. Na rozdíl CyA vykazuje výrazný inhibiční účinek na produkci IL-10. Potlačení exprese IL-10 může takrolimus inhibovat infiltraci cytotoxických buněk do štěpu a omezuje tak poškození těchto tkání (Barshes; 2004).

Obr. 8:
Chemický vzorec takrolimu



Farmakokinetické vlastnosti

Farmakokinetické vlastnosti takrolimu se vyznačují velkou interindividuální a rovněž intraindividuální variabilitou. Vzhledem k tomu, že má nízký terapeutický index, je pro dosažení dobrých léčebných výsledků nezbytné provádět terapeutické monitorování.

Ze zažívacího traktu je takrolimus vstřebáván rychle, ale nekompletně. Jeho biologická dostupnost po p.o. podání je relativně nízká a činí přibližně 25%. Biologickou dostupnost snižuje a rychlost vstřebávání zpomaluje potrava, zvláště obsahuje-li hodně tuku.

Takrolimus se vysoce váže v červených krvinkách, kde může být jeho koncentrace až 35x vyšší než v plazmě. Jeho hlavními vazebnými proteiny v krevní plazmě jsou kyselý α_1 -glykoprotein a albumin. Volné zůstává v plazmě méně než 1% látky. Takrolimus podléhá rozsáhlé biotransformaci v játrech a střevě a do moči se vyloučí méně než 1% původní dávky (*Venkataramanan; 1995*).

▪ Lékové interakce

Takrolimus je metabolizován jaterním izoenzymem CYP3A4 cytochromu P450. Souběžné podávání léků rostlinného původu může ovlivňovat metabolismus takrolimu, a tím zvýšit nebo naopak snížit jeho hladinu v krvi. Např. třezalka tečkovaná je induktorem jaterních enzymů metabolizujících takrolimus a její podávání může vést ke snížení jeho plazmatických hladin, naopak grapefruitová šťáva hladiny takrolimu zvyšuje.

Podstatná část takrolimu se váže na proteiny plazmy. Z toho důvodu je možná interakce s léčivými látkami, která mají vysokou vazbu na plazmatické bílkoviny (NSAID – nonsteroid antiinflammatory drugs, p.o. antikoagulancia, p.o. antidiabetika). Podávání takrolimu je někdy spojeno s hyperkalémií. Proto je vhodné předcházet zvýšenému příjmu draslíku a jen s rozvahou indikovat kalium šetřící diuretika.

▪ Klinické použití

Základní indikací takrolimu je profylaxe rejekce při transplantaci ledvin a jater a dále odhojování štěpů ledviny, jater a srdce. Existuje však mnoho údajů, které opravňují jeho použití i u jiných druhů alotransplantace, kdy je třeba potlačit odhojování transplantovaných orgánů., tkání či buněk imunitním systémem příjemce. Takrolimus se zpravidla podává s dalšími imunopresivními léčivy (*Saudek; 2007*).

Imunosuprese takrolimem je spojena s nižším počtem akutních rejekcí a menším počtem těžkých rejekčních epizod v porovnání s terapií CyA, nižší potřebou adjuvantní imunosuprese a celkově lepší prognózou přežívání pacientů (*Fireman; 2004*).

Kromě toho může být takrolimus použit v léčbě autoimunitních onemocnění tam, kde je ostatní medikamentózní léčba nedostačující a předpokládaný přínos léčby převažuje nad možnými nežádoucími efekty.

V současné době je k dispozici i preparát, který obsahuje takrolimus s prodlouženým uvolňováním. Použití přípravku s modifikovanou formou přináší především výhodu podávání v jedné denní dávce při zachování stejné imunopresivní účinnosti a stejném bezpečnostním profilu. To může přispět ke zlepšení kvality života pacienta a k dosažení lepší adherence k předepsané terapii (*Saudek; 2007*).

První studie, která řešila převod nemocných léčených takrolimem na léčbu takrolimem s prodlouženým uvolňováním, byla provedena již v roce 2002 a v současnosti jsou k dispozici výsledky z dvouletého sledování. Nemocní byli léčeni první týden takrolimem ve dvou denních dávkách a po sedmi dnech byli převedeni na léčbu takrolimem s prodlouženým uvolňováním, který užívali nemocní jednou denně.

Tato studie ukázala, že nemocní po transplantaci ledviny převedení na takrolimus s prodlouženým uvolňováním jedenkrát denně mohou být bezpečně sledováni podle stejných pravidel jako nemocní užívající původní formulaci léku.

Léčba takrolimem s prodlouženým uvolňováním je bezpečnou alternativou k léčbě původní formou FK-506, která může být spojena se zvýšením adherence s léčebným režimem, což by se mohlo projevit v dlouhodobých výsledcích transplantací ledvin a jater.

Je možno usuzovat, že takrolimus s prodlouženým uvolňováním pravděpodobně v blízké budoucnosti zcela nahradí původní formu takrolimu (*Alloway; 2007*).

5 INHIBITORY mTOR

5.1 Sirolimus

Sirolimus (rapamycin) je makrolidové antibiotikum produkované *Streptomyces hydroscopicus* s výrazně imunosupresivním účinkem. Toto makrolidové imunosupresivum má unikátní mechanismus působení, kterým se liší od ostatních dosud používaných imunosupresivních léčiv, z něho vyplývá i jeho odlišné spektrum vedlejších účinků (Fireman; 2004).

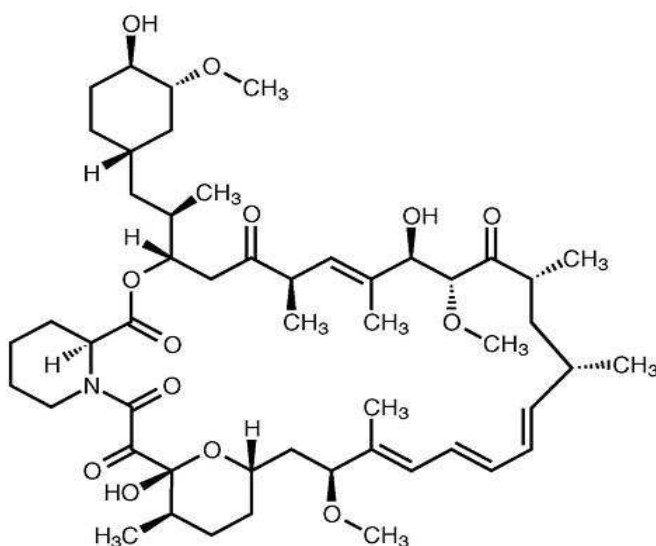
▪ Mechanismus účinku

Sirolimus (viz obr. 9) je lipofilní, a proto snadno přechází přes buněčnou membránu (Viklický²; 2001). Jeho molekula se po průniku do cytoplazmy váže na stejný imunofilin jako takrolimus, ale na rozdíl od takrolimu neinhibuje aktivitu kalcineurinu. Komplexy sirolimu s imunofilem jsou specifickými inhibitory serin-threonin kinázy mTOR (mammalian target of rapamycin). Inhibice mTOR má silný vliv na buněčnou signalizaci nutnou pro buněčný cyklus a buněčné šíření. Výsledkem je blokáda aktivace T-lymfocytů. Sirolimus brání progresi buněčného cyklu z G1 do S-fáze. Sirolimus působí v pozdější fázi imunitní reakce než CNI a blokuje proliferaci lymfocytů, která je indukována IL-2 (Taylor; 2005). Rapamycin je významně slabší inhibitor syntézy cytokinů, než jsou CyA a takrolimus (Viklický²; 2001).

Jak sirolimus, tak takrolimus kompetují o intracelulární vazebný protein FKBP12. V experimentech *in vitro* bylo navíc zjištěno, že molekulární koncentrace jednoho léku vytěsňuje z vazby ten druhý. Na základě tohoto zjištění se řada autorů domnívala, že tato dvě léčiva nemohou být podávána společně.

Ve většině buněk je však velké množství vazebného proteinu FKBP (FK binding protein), který má i zcela jiné funkce než vázat imunosupresiva, a účinné imunosupresivní dávky sirolimu a takrolimu vyvazují pouze 5-10% vazebných míst. To je zřejmě příčinou toho, proč sirolimus a takrolimus nepůsobí antagonisticky, nýbrž vykazují synergický účinek (Suchý; 2004).

Obr. 9: Chemický vzorec sirolimu



▪ Farmakokinetické vlastnosti

Po p.o. podání je sirolimus rychle absorbován z gastrointestinálního traktu a maximální plazmatické koncentrace v periferní krvi dosahuje do 2 hodin. Nízká biologická dostupnost (přibližně 14%) je způsobena extenzivní biotransformací jaterním a střevním enzymem CYP4503A4. V plazmě se sirolimus váže z 92% na plazmatické bílkoviny a je vylučován ve formě metabolitů, téměř výhradně žlučí, pouze zanedbatelná část je vylučována močí. Dlouhý eliminační poločas umožňuje podávání léku v jedné denní dávce. Strava s vysokým obsahem tuků snižuje o třetinu maximální plazmatickou koncentraci léčiva, a proto se doporučuje podávat sirolimus pravidelně vždy buď s jídlem, nebo nalačno (*Girman; 2002*).

▪ Nežádoucí účinky

Porucha metabolismu lipidů, která je způsobena zvýšením koncentrace inhibitoru lipoproteinové lipázy, zůstává nejzávažnějším z nepříznivých účinků léčby sirolimem a týká se zvýšení celkového, LDL a HDL cholesterolu, i triglyceridů. V klinické praxi je poruchou metabolismu tuků postiženo až 40% pacientů léčených sirolimem, ve většině případů jde o stavy úspěšně zvládnutelné podáváním hypolipidemik (*Kahan; 2000*).

Mezi další nežádoucími účinky patří nauzea, zvracení, bolesti břicha, zácpa nebo naopak průjem, nespavost, bolesti kloubů a kostí a periferní otoky. Rizikem je rovněž

rozvoj infekčních onemocnění. Vzácně se může rozvinout „capillary leak syndrome“, který je provázen horečkou, snížením krevního tlaku, otoky končetin a poklesem tělesné hmotnosti (Špinarová; 2006).

▪ Klinické použití

Sirolimus je indikován k prevenci rejekce štěpu u dospělých nemocných se středním až nízkým rizikem po transplantaci ledviny (Suchý; 2004). Přestože má rapamycin prokázanou účinnost v kombinaci s azathioprinem a prednisonem, zdá se, že mnohem silnější účinky vykazuje v kombinaci s CyA.

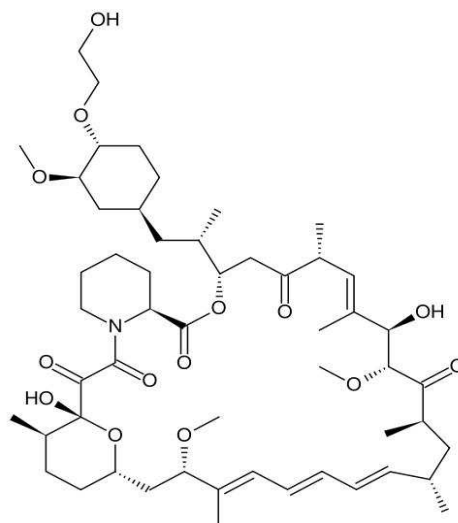
Řada imunosupresivních léčiv má diabetogenní účinek. U pacientů léčených rapamycinem je incidence potransplantačního diabetu nízká, okolo 4%, což svědčí o netoxických účincích sirolimu na B-buňky pankreatických ostrůvků a o vhodnosti použití této látky u pacientů po transplantaci pankreatu (Girman; 2002).

5.2 Everolimus

Mezi další inhibitory mTOR patří everolimus (viz obr. 10), který byl vyvinut s cílem zlepšit farmakokinetické vlastnosti molekuly rapamycinu. Mechanismus účinku zůstává stejný, úpravy molekuly vedly k zvýšené biologické dostupnosti po p.o. podání. Perorálně podaný everolimus je rychle absorbován a dosahuje maximální plazmatické koncentrace zhruba za 1,5 hodiny. Ustálených plazmatických koncentrací dosaženo za 7 dní.

Z dostupných údajů vyplývá, že everolimus má nižší nefrotoxicitu v porovnání s CyA. Mezi nežádoucí účinky patří hyperlipidémie, vznik oportunních infekcí a trombocytopenie (Kirchner; 2004).

Obr. 10:
Strukturní vzorec everolimu



6 POLYKLONÁLNÍ PROTILÁTKY

Polyklonální protilátky se v transplantologii používají od roku 1960. Připravují imunizací některých zvířat (králík, kůň) lidskými lymfoidními buňkami. Jejich séra se separují a opakovaně purifikují s cílem získat čistou γ -globulinovou frakci. Získané protilátky jsou polyklonální a představují heterogenní skupinu protilátek, ze kterých jenom menšina je specifická proti T-lymfocytům (*Kirk; 2006*).

▪ Mechanismus účinku

Polyklonální protilátky mají široké spektrum imunologických vlastností. Váží se na povrch T-lymfocytů v cirkulaci a vedou k lymfopenii a porušení imunitní odpovědi. Po dvou týdnech podávání ATG (antithymocytární globulin) dochází až k 85% depleci T-lymfocytů. Po vysazení léčby se počet lymfocytů postupně zvyšuje, avšak jejich proliferace je stále snižena (*Beiras-Fernandez; 2003*). Deplece může být dlouhotrvající, a to zejména u $CD4^+$ podskupiny (*Hale; 2004*).

Polyklonální protilátky nejsou však specifické pouze k T-lymfocytům. Obsahují protilátky, které se váží i na jiné cirkulující buňky, včetně granulocytů, B-lymfocytů a trombocytů. Mohou modulovat i expresi adhezivních molekul (*Beiras-Fernandez; 2003*).

▪ Nežádoucí účinky

Po aplikaci látky parenterální cestou může dojít v důsledku přítomnosti cizorodých proteinů k sérové nemoci a nefritidě. Dalšími cytotoxickými symptomy bývají zimnice, horečka, leukopenie, trombocytopenie, zřídka se vyskytují i kožní vyrážky a anafylaktická reakce (*Lincová; 2007*).

▪ Klinické použití

Polyklonální antithymocytární globuliny jsou imunosupresiva používaná k prevenci a léčbě akutních rejekcí po transplantaci orgánů. Indukční terapie ATG snižuje výskyt časných rejekčních epizod a pomáhá zabránit selhávání transplantovaných orgánů. Nicméně nebyly prokázány výrazně lepší výsledky ve srovnání ATG s takrolimem či GK. Používá se hlavně u nemocných s vysokým imunologickým rizikem, jako jsou děti, pacienti s vysokou hladinou protilátek, atd. (*Beiras-Fernandez; 2003*).

Králičí ATG býval v minulosti podáván jako indukční preparát v denních infuzích po dobu 7–14 dní. Pokud byla tato léčba zahájena intraoperačně, byla spojena se signifikantním snížením výskytu akutních rejekcí a opožděného rozvoje funkce štěpu.

Prospektivní, randomizovaná, mezinárodní studie (*Brennan; 2006*) si kladla za cíl porovnat bezpečnost a účinnost ATG a monoklonální protilátky basiliximabu u nemocných s vysokým rizikem akutní rejekce nebo opožděného rozvoje funkce transplantované ledviny odebrané od dárců se smrtí mozku. Obě skupiny byly navíc léčeny udržovací imunosupresí založenou na CyA, MMF a prednisonu.

Po 12 měsících byly výsledky v obou skupinách podobné. Ve skupině s indukcí ATG mělo o něco méně nemocných akutní rejekce (15,6 vs. 25,5 %). Podobně se těžké rejekce vyžadující léčbu antithymocytárními globuliny vyskytly častěji ve skupině s basilixabem (1,4 vs. 8,0%). Výskyt opožděného rozvoje funkce štěpu byl v obou skupinách podobný, stejně jako pomalý rozvoj funkce štěpu. Podobné byly i počty ztracených štěpů a úmrtí nemocných.

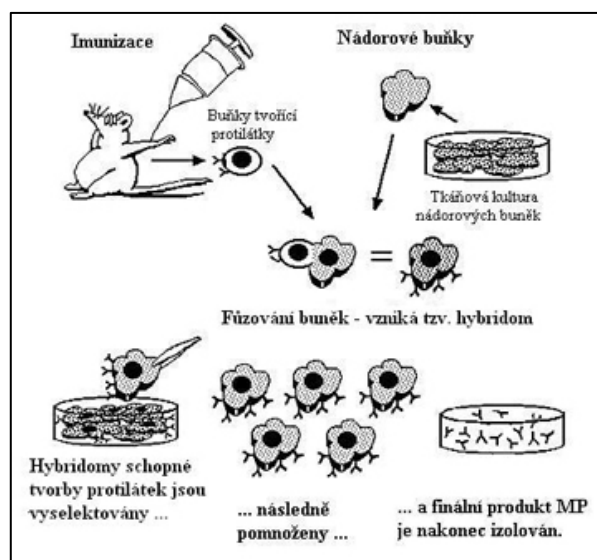
Ve skupině ATG se častěji vyskytovala trombocytopenie a leukopenie, dále také infekční onemocnění, především infekce močových cest. Výskyt cytomegalových infekcí byl naopak vyšší ve skupině s basilixabem. Malignity se během sledování vyskytly minimálně.

Použití ATG nemělo žádný vliv na riziko vzniku opožděného rozvoje funkce štěpu, ale výrazně se snížil výskyt akutních rejekcí včetně závažných, které vyžadovaly léčbu antilymfocytárními preparáty (*Brennan; 2006*).

7 MONOKLONÁLNÍ PROTILÁTKY A DALŠÍ BIOLOGICKÁ LÉČIVA

Monoklonální protilátky jsou protilátky produkované jen jedním klonem B-lymfocytů a vykazující shodnou antigenní specifitu. Tyto protilátky si našly své místo v diagnostice a mají i obrovský terapeutický potenciál. Široké použití našly zejména v onkologii, ale lze je s velkým úspěchem použít i tam, kde je třeba tlumit nežádoucí zánětlivou reakci (transplantologie, autoimunitní a infekční choroby) (Sobotková; 2008).

Obr. 11: Metoda produkce monoklonálních protilátek



www.inovace.cz

První experimentálně používané monoklonální protilátky byly produkovány hybridomovou technologií a jednalo se o cizorodé myší proteiny. Po jejich podání pacientům docházelo k imunitní reakci a k produkci protilátek označovaných jako HAMA (human anti-mouse antibodies). Tyto protilátky nejen že znemožňují navázání monoklonální protilátky na cílový antigen, ale mohou také vést k sérové nemoci nebo anafylaxi. Z tohoto důvodu bylo věnováno velké úsilí rozvoji technologií, které by umožnily snížit imunogenicitu monoklonálních protilátek. Výsledkem byly protilátky

chimérické nebo humanizované, v nichž je část molekuly, která nekóduje oblasti vázající antigen, nahrazena úsekem lidského imunoglobulinu.

Při jejich přípravě je nejprve získána hybridomová linie produkující myší protilátky dané specifiky. Z této linie je připravena RNA a reverzní transkripcí pak cDNA. Pomocí polymerázové řetězové reakce je namnožen úsek kódující vazebné místo pro antigen. Touto částí genetické informace je nahrazen odpovídající úsek v genu pro lidský imunoglobulin. Vzniklý gen je vložen do vhodné savčí buňky, která tak syntetizuje chimérickou nebo humanizovanou protilátku (viz obr. 11).

▪ Mechanismus účinku

Monoklonální protilátky mají schopnost reagovat s konkrétním antigenem, proti němuž jsou namířeny. Tato reakce může vést k celé řadě dalších dějů, které mohou být terapeuticky využity. Pokud je jejich cílovým antigenem solubilní molekula, dochází k neutralizaci tohoto antigenu. Jestliže je cílová struktura receptorem na buněčném povrchu, dochází k zablokování signální cesty, která je s touto molekulou spojena.

Častěji je však cílem léčby likvidace určité skupiny buněk (depleční mechanismus). Za efektorový mechanismus, kterým k likvidaci dochází pak zodpovídá Fc fragment monoklonální protilátky. Likvidace buňky probíhá prostřednictvím fagocytózy, ADCC (antibody dependent cellular cytotoxicity) nebo aktivací komplementu. Třetím zvažovaným cytotoxickým mechanismem, který může monoklonální protilátka navodit, je rozvoj vlastní imunitní reakce tvorbou antiidiotypových protilátek. Vazba monoklonální protilátky na buněčný povrch však může indukovat i její apoptózu.

▪ Imunosupresivní léčba

V léčbě autoimunitních chorob a při prevenci rejekce v transplantologii se uplatňuje velké množství imunosupresiv, která mají celou řadu nežádoucích účinků. Monoklonální protilátky a další biologická léčiva představují výhodnou alternativu tradičních imunosupresiv a zpravidla jsou dobře tolerovány. Cílovými strukturami, které

chceme jejich pomocí zpravidla ovlivnit, jsou diferenciační antigeny lymfocytů, cytokiny, buněčné adhezni molekuly a receptory pro cytokiny. Prvním takto použitým imunosupresivem byl muromonab (OKT3), cílený proti CD3 znaku T-lymfocytů a užívaný zejména v transplantologii, ale byl s úspěchem používán i v léčbě autoimunitních onemocnění, jako je např. aplastická anémie. Po něm následovala řada dalších. Z velkého počtu protilátek, které byly dosud vyrobeny a teoreticky by bylo možné je použít v léčbě, však své klinické uplatnění našla jen nepatrná část (viz tab. 1) (Sobotková; 2008). V současné době je schváleno pro používání v klinické praxi více než 20 monoklonálních protilátek a okolo 100 jich je ve vývoji (Gea-Banacloche; 2007).

Tab. 1: Monoklonální protilátky užívané v imunosupresivní terapii

generický název	Typ protilátky	cílový antigen
<i>adalimumab</i>	humánní	TNF- α
<i>alemtuzumab</i>	humanizovaná	CD52
<i>basiliximab</i>	chimérická	CD25
<i>daclizumab</i>	humanizovaná	CD25
<i>efalizumab</i>	humanizovaná	CD11a, LTA-1
<i>infliximab</i>	chimérická	TNF- α
<i>natalizumab</i>	humanizovaná	α_4 - integrin
<i>rituximab</i>	chimérická	CD20

(Sobotková; 2008)

Cílem monoklonálních protilátek je odstranění buněk, které se podílejí na rejekci a zároveň ponechání zbývajícího imunitního systému neporušeného. Monoklonální protilátky nabízejí mnoho teoretických výhod nad polyklonálními antiséry. U monoklonálních protilátek je méně pravděpodobné, že způsobí sérovou nemoc, jako je tomu u polyklonálních antisér. Monoklonální protilátky způsobují zrušení nebo blokádu

funkce buněk nezbytných pro rozvoj rejekce. Mohou také inhibovat buněčné funkce blokadou funkčního antigenu nebo způsobovat depleci antigenu z povrchu buňky (Hanaway; 2000).

7.1 Monoklonální protilátky proti T-lymfocytům

7.1.1 Muromonab

Muromonab (OKT3) byl první terapeuticky používanou monoklonální protilátkou. Do klinické praxe byl zaveden již v roce 1987. OKT3 je monoklonální protilátka myšního původu. Váže se na podjednotku komplexu CD3, která tvoří vnitřní část receptoru T-lymfocytů (TCR). Tato vazba má za následek endocytózu TCR a do jedné hodiny jsou tyto buňky opsonisovány a odstraněny z oběhu v retikuloendotelovém systému (Suchý; 2004). Spolu s úvodní deplecí CD3 lymfocytů dochází ke snížení počtu ostatních T-lymfocytů nesoucích ostatní povrchové znaky jako jsou $CD4^+$, $CD8^+$. Když se znovu objeví T-lymfocyty, CD3 a komplex rozpoznávající antigeny chybějí. Právě tyto účinky zabraňují rejekci orgánových štěpů (Lincová; 2007).

CD3 pozitivní buňky se mohou objevit v pozdějších fázích léčby s OKT3 nebo při opakovaném podání a jsou důsledkem vzniku neutralizačních protilátek, které vznikají imunizací cizím (myším) imunoglobulinem. Proto se doporučuje sledování počtu CD3 lymfocytů v periferní krvi nemocných při opakované léčbě s OKT3. Obvykle v případě prvního použití OKT3 počet CD3 lymfocytů klesá během 48 hodin z 60 % na méně než 5 %. Měření hladiny samotného OKT3 v periferní krvi není dostupné, stanovení titru neutralizačních protilátek je sice technicky možné (metodou ELISA), avšak interpretace výsledků zůstává nejasná (Hale; 2004).

▪ Nežádoucí účinky

Léčba s OKT3 je spojena s celou řadou vedlejších účinků, z nichž některé se projevují prakticky bezprostředně po podání této monoklonální protilátky. Většina z nich je spojena s tzv. syndromem z uvolnění cytokinů (cytokine release syndrome). Ten je způsoben velkým množstvím IL-2, IFN- γ a TNF- α , které se uvolní z rozpadlých T-lymfocytů. Teplota a třesavka se tak objeví většinou po 45 minutách od injekce, ale

mohou se objevit i později. Teploty u většiny nemocných po dvou nebo třech dnech podávání OKT3 ustoupí, i když výjimky samozřejmě existují.

Protože při léčbě s OKT3 dochází k aktivaci komplementu i koagulační kaskády, mohou se výjimečně vyskytnout trombózy. Po prvních dávkách OKT3 může přechodně dojít ke zhoršení renálních funkcí. Toto přechodné zhoršení renálních funkcí bývá vysvětlováno prerenálními mechanismy spojenými se syndromem z uvolnění cytokinů (hypotenze). Neurologické komplikace léčby s OKT3 mají široké spektrum, od benigní bolesti hlavy až po závažnou encefalopatii a aseptickou meningitidu s poruchou vědomí.

S cílem zabránit vzniku vedlejších účinků léčby OKT3 je používána celá řada preventivních opatření. Před 1. dávkou jsou s hodinovým předstihem podávána antihistaminika a dále metylprednisolon. Preventivní podání pentoxyfyllinu, který snižuje hladiny TNF- α nebylo shledáno účinným. Jako zcela nezbytné se jeví sledování vitálních funkcí nemocného v průběhu prvních 3 dní léčby, v případě dobré snášenlivosti a stabilizovaného stavu je možné pokračovat v další léčbě ambulantně (zejména v zemích, kde je nemocniční léčba velmi nákladná).

Léčba OKT3 má i dvě významné pozdní komplikace. Byl dokumentován vyšší počet oportunních infekcí (především cytomegalovirových) a rovněž v delším odstupu od léčby byla pozorována vyšší incidence malignit, především různých typů lymfoproliferací (*Meier-Kriesche; 2002*).

▪ Klinické použití

OKT3 se používá v léčbě akutních rejekcí, které jsou rezistentní na kortikosteroidy nebo profylakticky u nemocných, kteří mají vysoké riziko vzniku rejekce po transplantaci: nemocní po opakovaných transplantacích nebo s anamnézou těžké rejekce při předchozí transplantaci. Používá se převážně k ochraně před akutní rejekcí ledvinných, jaterních a srdečních transplantátů (*Taylor; 2005*). Bylo prokázáno snížení výskytu akutní rejekce po podání OKT3 v porovnání s cyklosporinem A, azathioprinem nebo mykofenolátem mofetilem, aniž by se změnilo přežívání štěpů či pacientů. Přesto však jeho používání v posledních letech dramaticky pokleslo, zejména kvůli jeho závažným nežádoucím účinkům (*Kirk; 2006*).

7.2 Léčiva namířená proti aktivačním markerům T-lymfocytů

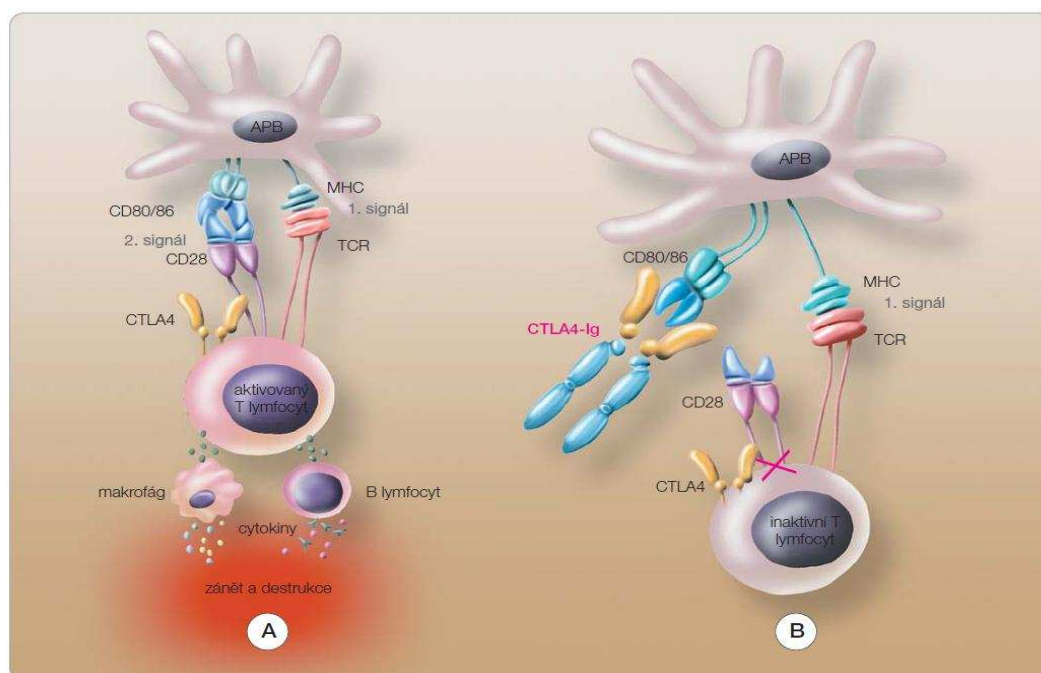
Léčiva této skupiny jsou namířena jen na určitou část T-lymfocytů, které mají aktivační znaky, a lze tudíž předpokládat jejich aktuální angažovanost v imunitní reakci. Po jejich podání nedochází tedy k eliminaci všech T-lymfocytů, jako je tomu např. po podání anti-CD3 protilátky (muromonab), ale jen těch, které nesou aktivační markery (*Sobotková; 2008*).

7.2.1 Abatacept

Abatacept je fúzní protein skládající se z extracelulární domény molekuly CTLA4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4) a z modifikované Fc části lidského IgG1.

Abatacept způsobuje tzv. kostimulační blokádu. Pro aktivaci T-lymfocytů je nezbytná interakce mezi membránovými proteiny na povrchu APC (CD80 a CD86) a membránového proteinu na povrchu T-lymfocytu CD28. Abatacept brání interakcím mezi molekulami CD80 a CD28, a inhibuje tak proliferaci a aktivaci T-lymfocytů (viz obr. 12).

Obr. 12: Mechanismus účinku abataceptu



(*Vencovský; 2007*)

Úroveň zásahu abataceptu na tyto buňky je zde zcela jiná než úroveň zásahu anti-TNF terapie či léčby cílené na B-lymfocyty, a postihuje tedy jinou část patogenetického řetězce. Je schválen pro léčbu středně těžké až těžké revmatoidní artritidy v kombinaci s methotrexátem, která nereaguje na chorobu modifikující léky (*Gea-Banacloche; 2007*).

▪ Nežádoucí účinky a kontraindikace

V kontrolovaných klinických studiích s abataceptem byly nežádoucí účinky hlášeny u 52,2 % pacientů léčených abataceptem. Mezi nejčastější nežádoucí reakce patřily bolesti hlavy a nevolnost. V důsledku nežádoucích reakcí přerušilo léčbu 3,4 % pacientů ve skupinu léčené abataceptem a 2,2 % ve skupinu dostávající placebo.

Léčbu abataceptem doprovázely mírná, ale i závažná infekční onemocnění. Vážné infekce hlášené alespoň u jednoho pacienta léčeného abataceptem byly: pneumonie, bronchitida, akutní pyelonefritida, infekce močových cest, divertikulitida, intestinální absces, lokalizovaná infekce, kožní absces, muskuloskeletální infekce, sepse, hepatitida E a tuberkulóza. V zásadě nebyl při léčbě abataceptem pozorován zvýšený výskyt tuberkulózy, nicméně před zahájením léčby se doporučuje vyšetřit pacienty kvůli latentní tuberkulóze. Jako u jiné imunosupresivní terapie hrozí možnost reaktivace hepatitidy B, a proto je nutné před zahájením léčby abataceptem provést adekvátní vyšetření.

V klinických studiích kontrolovaných placebem byl výskyt malignit ve skupině s abataceptem 1,4 % a ve skupině s placebem 1,1 %. Mezi nejčastěji hlášené solidní nádory orgánů patřila rakovina plic (11 případů). Je zapotřebí zdůraznit skutečnost, že u revmatoidní artritidy je obecně znám zvýšený výskyt lymfomů, který souvisí se zánětlivou aktivitou onemocnění (*Baecklund; 2006*).

7.3 Léčiva proti TNF α

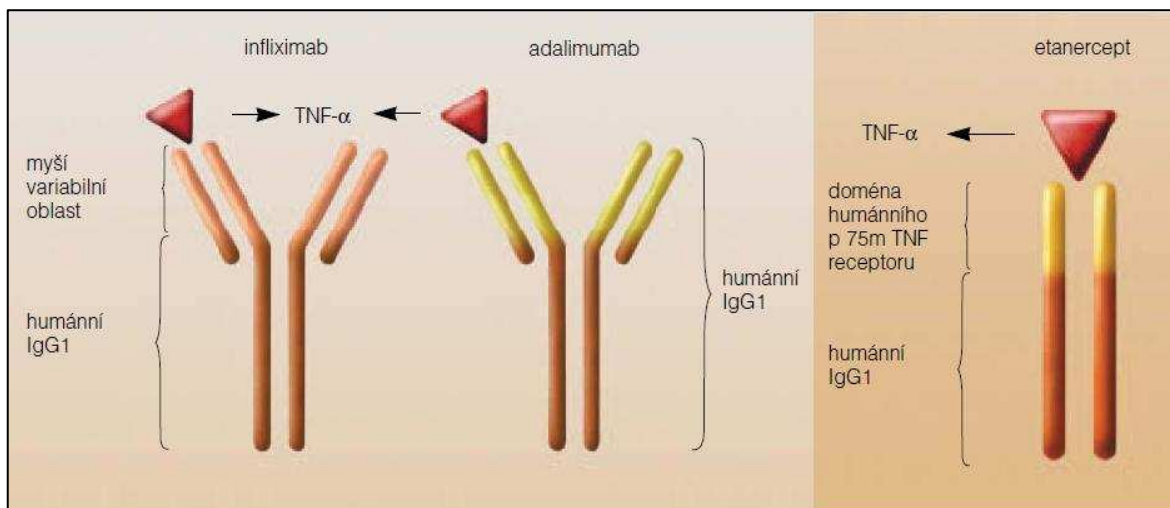
V praxi se začalo široce využívat specifických monoklonálních protilátek proti TNF- α (tumor nekrotizující faktor α), který je produkován hlavně aktivovanými makrofágy a má celou řadu biologických účinků zejména v zánětlivé reakci organismu. Problematické je jeho působení zejména u chronických zánětlivých procesů, kde se stává jedním z faktorů, které udržují zánět ve stavu aktivity, a brání tak jeho ukončení a vyhojení (*Sobotková; 2008*).

Pro TNF- α jsou v lidském organismu připraveny dva typy receptorů. Ty jsou pevně zabudovány do plazmatických membrán bílých krvinek (ale i celé řady jiných buněk), které na vazbu TNF- α odpovídají uvolněním dalších příslušných cytokinů. Tyto receptory slouží víceméně jako falešné zámky, na které se může cirkulující TNF- α navázat a být tak deaktivován. Dojde tím k přerušení imunitní odpovědi.

TNF- α indukuje především expresi těchto cytokinů: interleukin IL-8, interferon- γ , IL-1 či IL-6. Kromě toho také zesiluje expresi adhezivních molekul endotelu (ICAM-1, VCAM-1). Tyto působky jsou nezbytné pro chemotaxi leukocytů do místa zánětu, jejich aktivaci a rovněž pro produkci proteinů akutní fáze (C-reaktivní protein aj.). Mimo jiné se podílí na stimulaci resorpce kosti osteoklasty, která je hlavním patofyziologickým procesem probíhajícím u revmatoidní artritidy. Působí též proliferačně na fibroblasty a hladké svalové buňky střevní stěny, což v konečném důsledku vede k její fibrotizaci (*Oshima; 1999*).

Poznání role TNF- α při rozvoji zánětu inspirovalo ke konstrukci látek antagonistických nežádoucím účinkům tohoto cytokinu. Do klinické praxe byly uvedeny protilátky, které se vážou na TNF- α a tím brzdí poškozující zánět. Jde především o adalimumab a infliximab (viz obr. 13), což jsou biotechnologicky připravené monoklonální protilátky proti TNF- α , které se podobají lidským protilátkám (*Norambuena; 2007*). Druhou možností je vazba TNF- α solubilním receptorem pro TNF- α , příkladem je etanercept, který kromě TNF- α váže i TNF- β . Po vazbě na TNF- α se etanercept stává neaktivním (*Fleischmann; 2004*).

Obr. 13: Léčiva proti TNF- α



(Mayer; 2005)

Terapeuticky se používají v případech, kdy selhává standardní terapie, především u revmatoidní artritidy (Norambuena; 2007). Dále byla prokázána účinnost u spondyloartritidy, lupénky a zánětlivého onemocnění stěv (Gea-Banacloche; 2007).

Adalimumab společně infliximabem a etanerceptem představuje moderní a účinnou léčbu zánětlivých artropatií, jako jsou revmatoidní artritida a skupina spondylartritid, která zahrnuje ankylozující spondylitidu, psoritickou artritidu, enteropatické artritidy, reaktivní artritidu a nediferencované spondyloartritidy. Společným rysem všech těchto onemocnění je mimo jiné nepřiměřená a nekontrolovaná produkce cytokinu TNF- α buňkami v místě zánětu (Štolfa; 2005).

▪ Nežádoucí účinky

Na prvním místě je třeba zmínit zejména alergickou reakci po i.v. podání, způsobenou protilátkami namířenými proti infliximabu. V případě adalimumabu je problém imunogenicity omezen, přesto však může docházet k tvorbě antiidiotypových protilátek, které mohou snižovat jeho účinnost (Sobotková; 2008).

Léčbu blokátory TNF- α často doprovázejí infekce. Jsou většinou mírné, nicméně mohou se vyskytnout i závažné bakteriální, virové či mykotické infekce (Gea-Banacloche; 2007). Mezi infekční komplikace se řadí hlavně infekce horních cest

dýchacích a sinusitidy. Jako méně častá infekční komplikace se objevuje pyelonefritida, pneumonie a sepse.

Nejzávažnější infekční komplikací, která je současně i nejzávažnějším nežádoucím účinkem terapie anti-TNF- α , a to zejména terapie infliximabem, je výskyt tuberkulózy. TNF- α se podílí na normální protizánětlivé imunitní reakci na infekci TBC, což vede k aktivaci makrofágů a vzniku granulomu. Blokádou účinku TNF- α při léčbě infliximabem dojde tudíž i k blokádě zmíněného fyziologického obranného účinku TNF- α , a tím i ke zvýšení rizika manifestace latentní infekce TBC. Tuberkulóza se v takovém případě obvykle projeví do tří měsíců po iniciálním podání léčiva, a je proto předem nezbytné vyloučit byť i latentně probíhající onemocnění. V případě dodržení doporučeného screeningu je však možné předem vytipovat pacienty vhodné pro léčbu, a významně tak předejít riziku TBC (*Keating; 2002*).

U několika pacientů s revmatoidní artritidou léčených léky blokujícími TNF- α bylo popsáno onemocnění podobné SLE. U všech těchto nemocných byly prokázány anti-dsDNA protilátky. Léčba by měla být u takovýchto nemocných přerušena. Neexistuje však důkaz, že by nemocní, kteří mají před začátkem terapie či se u nich objeví během léčby antinukleární protilátky, antikardiolipidové protilátky nebo anti-dsDNA protilátky, měli zvýšené riziko léky indukovaného SLE. Léčba u takovýchto nemocných může být zahájena nebo může pokračovat (*Braun; 2003*).

Mezi závažné neurologické komplikace terapie lze zařadit výskyt demyelinizačních chorob typu roztroušené sklerózy a záchvatovitých onemocnění. Proto je doporučováno neaplikovat terapii anti-TNF- α nemocným s anamnézou demyelinizačního onemocnění, zejména roztroušené sklerózy. Pokud se taková komplikace vyskytne, je nutné léčbu blokující TNF ukončit. Bylo popsáno několik případů pancytopenie a aplastické anémie. Vztah k léčbě anti-TNF je nejasný, nicméně dokud nebudou přesně známy souvislosti mezi těmito stavy a blokádou TNF, doporučuje se léčbu blokující TNF při výskytu cytopenie raději ukončit.

Zvláštní situace se týká městnavého srdečního selhání. Při těchto stavech byly nalezeny vyšší hladiny TNF- α , které přispívají k celkové i srdeční kachexii, únavě, dysfunkci kardiomyocytů a změnám základních myokardiálních bílkovin. Vysoké dávky infliximabu (nad 10 mg/kg) byly asociovány se zvýšeným rizikem zhoršení městnavého srdečního selhání a se zvýšenou mortalitou u takovýchto nemocných.

V souvislosti s anti-TNF léčbou bývá často zmiňováno i riziko vzniku nádorového onemocnění, zejména pak non-hodgkinských lymfomů (*Keating; 2002*).

▪ Klinické použití anti-TNF protilátek

Revmatoidní artritida

Revmatoidní artritida je chronické systémové zánětlivé onemocnění na autoimunitním podkladě s charakteristickým symetrickým postižením drobných kloubů ruky a možným postižením dalších systémů. Postupně dochází k destrukci kloubů, deformitám, invaliditě nemocného se snížením kvality života a k předčasné smrti. Revmatoidní artritidou je postiženo asi 1 % dospělé populace, onemocnění je až třikrát častější u žen než u mužů. K manifestaci dochází nejčastěji mezi 25.–50. rokem života (*Laiko; 2001*). Aktivita zánětu v průběhu onemocnění kolísá a lze ji ovlivnit různými chorobu modifikujícími léky (disease modifying anti-rheumatoid drugs – DMARDs) dle doporučených terapeutických postupů. Novou terapeutickou strategií je za použití monoklonálních protilátek vyřadit prozánětlivé cytokiny z řetězce patofyziologických dějů, a zastavit tak proces vedoucí k destrukci chrupavky a kosti (*Mayer; 2005*).

Infliximab je indikován k léčbě u nemocných aktivní revmatoidní artritidou, u nichž odpověď na dosavadní terapii včetně methotrexátu byla nedostačující, rovněž tak u nemocných s těžkou, aktivní a progresivní nemocí, dosud neléčených methotrexátem. Infliximab je obvykle podáván současně s methotrexátem, přičemž klinickou odpověď lze očekávat v průběhu prvních tří měsíců léčby. V této indikaci bylo provedeno několik randomizovaných dvojitě zaslepených klinických studií, přičemž k nejdůležitějším se řadí studie ATTRACT (*Zbořil; 2005*).

Studie ATTRACT (Anti-TNF Trial in Rheumatoid Arthritis with Concomitant Therapy) hodnotila účinnost léčby u 428 nemocných, kteří byli léčeni infliximabem, nebo placebem, obojí v kombinaci s methotrexátem. Dávka 10 mg/kg vedla ke zlepšení u 58% při 4 týdenní aplikaci a u 52% pacientů při 8 týdenní aplikaci. Při podávání samotného methotrexátu v kombinaci s placebem bylo zlepšení patrné pouze u 20% nemocných.

Výskyt nežádoucích účinků či závažných infekcí byl mezi skupinou léčenou infliximabem i placebem v kombinaci s methotrexátem srovnatelný. Autoři rovněž popisují významnější zlepšení dílčích projevů onemocnění, jakými jsou např. otoky a bolesti kloubů či plazmatická hladina C-reaktivního proteinu.

Počínaje 54. týdnem studie bylo možné všech skupin nemocných léčených infliximabem pozorovat signifikantně menší rentgenovou progresi oproti placebo v porovnání se stavem před léčbou (eroze a zúžení kloubní štěrbin). Současně se

ukázalo, že z tohoto pohledu měli z léčby největší prospěch nemocní s nejvyšším stupněm poškození kloubů před zahájením terapie (Maini; 1999).

Psoriatická artritida

Psoriatická artritida je chronické zánětlivé kloubní onemocnění charakterizované přítomností artritidy a psoriázy.

Neúčinnost chorobu modifikujících farmak u části pacientů s psoriatickou artritidou a nepřesvědčivé výsledky studií sledujících radiologickou progresi urychlily snahu o vývoj nových účinnějších farmak s cílem ovlivnit nejen klinickou aktivitu, ale i radiologickou progresi. Vývoj těchto nových farmak vychází ze znalosti klíčové role T-lymfocytů a cytokinů produkovaných aktivovanými imunokompetentními buňkami v patogenezi psoriatické artritidy. Mezi nejvýznamnější cytokiny patří TNF- α IL-1. Tyto poznatky vedly k vývoji látek specificky zaměřených na antagonizování těchto cytokinů, v prvé řadě TNF- α . Léčba inhibicí TNF- α se ukázala být vysoce účinná u revmatoidní artritidy rezistentní na léčbu standardními chorobu modifikujícími farmaky, a to při sledování prakticky všech dostupných parametrů.

Léčba zaměřená proti TNF- α může příznivě ovlivnit jak periferní kloubní, tak axiální syndrom u spondylartritid, což se nepodařilo žádnému z tradičních chorobu modifikujících farmak. Tento předpoklad byl později potvrzen v řadě otevřených i randomizovaných kontrolovaných studií.

V současné době je nejvíce zkušenosti s antic cytokinovou léčbou zaměřenou proti TNF- α , s infliximabem, s etanerceptem a s adalimumabem. Všechny tyto látky vykazují intenzivní protizánětlivý účinek tím, že vážou a inaktivují volný, resp. vázaný TNF- α (Štolfa²; 2005).

Infliximab byl rovněž účinný ve dvouleté otevřené studii, která ho hodnotila z hlediska bezpečnosti i účinnosti u pacientů s psoriatickou spondylartritidou. Jeho aplikace nejen poskytovala účinnou léčbu pro postižené klouby, ale současně i významně snižovala aktivitu psoriatických ložisek na kůži, a to bez závažných nežádoucích účinků (Scali; 2005).

Crohnova nemoc

Zavedení terapie infliximabem do léčby Crohnovy choroby znamenalo výrazný pokrok, ačkoliv blokáda TNF- α postihuje pouze jeden z faktorů zodpovědných za vznik zánětu. Například nemocní s Crohnovou chorobou a s tzv. fenotypem ulcerózní kolitidy (tzn. pozitivitou P-ANCA protilátek) reagují na terapii podstatně hůře (*Suchý; 2004*).

Od adalimumabu lze naopak očekávat dobrou účinnost u tohoto onemocnění, což bylo potvrzeno v krátkodobé randomizované dvojité slepé studii s pacienty se středně těžkou a těžkou formou Crohnovy choroby (*Štofla¹; 2005*).

V západní Evropě je 60 % pacientů s Crohnovou nemocí léčeno imunomodulátory a 30 % biologickou léčbou. Léčba v ČR je, s ohledem na ekonomickou náročnost, soustředěna do center biologické léčby (*Gabalec; 2009*).

7.3.1 Adalimumab

Adalimumab je plně humánní monoklonální protilátka třídy IgG1, produkovaná ovariálními buňkami čínských křečků (*Sobotková; 2008*).

▪ Mechanismus účinku

Adalimumab váže solubilní formu TNF- α a inhibuje tak jeho vazbu na oba buněčné receptory (p55 a p75). Mimoto se váže i na membránově vázanou formu a interferuje tak s účinkem TNF- α na více úrovních. Vazba na TNF- α (solubilní i membránově vázaný) se odehrává s vysokou vazebnou afinitou a specificitou (*Mayer; 2005*).

Volný TNF- α se ve své aktivní formě vyskytuje jako trimer. Každý trimer TNF- α může vázat až tři molekuly adalimumabu. Důsledkem tvorby komplexů TNF-protilátka a vazby i na transmembránovou formu TNF- α může být aktivace komplementu s následnou cytolýzou závislou na komplementu. Adalimumab váže kromě aktivní trimerické i neaktivní (di- a monomerickou) formu TNF- α . Důsledkem je větší deplece TNF- α (*Saliu; 2006*).

7.3.2 Infliximab

Monoklonální protilátka infliximab proti TNF- α (chimérická protilátka která obsahuje 75 % lidského a 25 % myšního proteinu) byla prvním klinicky hodnoceným typem (Suchý; 2004).

▪ Mechanismus účinku

Infliximab se váže na solubilní i v plazmatických membránách vázané molekuly TNF- α , čímž vstupuje do kaskády zánětlivých působků. Zmiňován je rovněž možný nepříznivý vliv na buňky produkující TNF- α prostřednictvím cytotoxicity zprostředkované komplementem či protilátkami.

Vedle ovlivnění řady prozánětlivých mediátorů je během léčby infliximabem poukazováno rovněž na pokles CD4⁺ a CD8⁺ T-lymfocytů. U pacientů s Crohnovou nemocí byl popsán významně nižší stupeň zánětlivé infiltrace střevní stěny. Analogicky byl zjištěn nižší stupeň migrace granulocytů do kloubů či T-lymfocytů do synoviální tkáně u pacientů s revmatoidní artritidou. Především prostřednictvím inhibičního účinku na interleukin IL-6 je indukován pokles syntézy proteinů akutní fáze (C-reaktivního proteinu či fibrinogenu) (Ohshima; 1999).

7.3.3 Etanercept

Jinou cestou blokády TNF je jeho neutralizace solubilním receptorem. Etanercept je takový geneticky manipulovaný solubilní receptor pro TNF- α . Jedná se o molekulu, která obsahuje dvě extracelulární domény TNF receptoru (TNF-R p75), připojené na Fc část lidského IgG1 (Suchý; 2004).

▪ Nežádoucí účinky

Léčba je kontraindikována při známé přecitlivělosti na účinnou látku a při aktivní infekci. Při terapii etanerceptem je nejčastěji udáván vznik lokální reakce v místě aplikace. Vzácně byl popsán vývoj akutní difúzní erytematózní reakce kůže s vývojem papulárních lézí po podání několika dávek etanerceptu. Dále bylo popsáno několik případů nekrotizující vaskulitidy, která se objevila na kůži pacientů v místech, kde dosud nebyl etanercept aplikován. Vyskytují se hlavně komplikace infekční

(zejména možnost TBC a reaktivace viru hepatitidy B), alergické reakce a možný rozvoj malignit. Hrozí rovněž riziko zhoršení demyelinizačního onemocnění CNS nebo jeho rozvoje.

▪ Klinické použití

Je určen k léčbě středně těžkých a těžkých forem revmatoidní artritidy tehdy, jestliže odpověď na léky modifikující chorobu je nedostatečná. Lze ho podávat společně s methotrexátem nebo samostatně, je-li léčba methotrexátem kontraindikována. Další indikací je léčba polyradikulární juvenilní revmatoidní artritidy s nedostatečnou odpovědí na methotrexát, léčba aktivní formy psoritické artritidy a ankylozující spondyloartritidy. Nadějně je i jeho použití u myasthenia gravis (*Pavelka; 2005*).

Efekt etanerceptu u pacientů s časnou revmatoidní artritidou porovnávala studie ERA (Early Rheumatoid Arthritis Trial; *Martin; 2000*). Tato studie zahrnovala 632 pacientů, kteří nikdy nebyli léčeni methotrexátem. Použity byly dávky v rozmezí 10–25 mg etanerceptu 2×týdně, průměrná dávka methotrexátu byla 19 mg. Průměrná délka léčby byla 17,3 měsíce.

Ve skupině etanerceptem léčených pacientů se jejich odpověď na léčbu, ve srovnání s pacienty léčenými methotrexátem rychleji zlepšovala. Signifikantně více pacientů dosáhlo během prvních 6 měsíců zlepšení klinického skóre o 20%, 50%, případně 70% indexu HAQ (Health Quality Assessment). Ovlivněna byla i rtg progresse onemocnění – 72% pacientů léčených dávkou 25 mg etanerceptu proti 60% léčených methotrexátem nevykázalo žádnou progresi kloubního poškození. Ve skupině léčené etanerceptem bylo zaznamenáno méně nežádoucích účinků (*Martin; 2000*).

7.4 Léčiva proti B-lymfocytům

Původně byly tyto monoklonální protilátky vyvinuty k léčbě maligních lymfoproliferací B-lymfocytů. Z úvah o možné účasti B-buněk při produkci autoprotilátek a prezentaci autoantigenů vyplynulo také jejich indikační rozšíření na autoimunitní choroby (*Sobotková; 2008*).

7.4.1 Rituximab

Rituximab je genetickým inženýrstvím připravená chimérická monoklonální protilátka proti antigenu CD20, která je složena z variabilních částí myších antihumánních protilátek CD20 B-buněčného hybridomu a lidské IgG1 konstantní oblasti.

CD20 je téměř ideální cílovou terapeutickou strukturou. Jde o hydrofobní transmembránový protein, který je skoro výlučně a vysoce exprimován na B-lymfocytech. Nenachází se na všech vývojových stádiích B-buněk. CD20 není přítomen na kmenových buňkách, dále na dendritických a plazmatických buňkách. Tento fakt spolu s vysokou expresí na povrchu B-lymfocytů činí antigen CD20 obzvláště atraktivním pro terapeutickou intervenci. Na jedné straně ani dlouhotrvající deplece B-buněk nevedla k významnému poklesu produkce imunoglobuliny, jelikož plazmatické buňky přežívají, na druhé straně kmenové buňky zajistí po určité době návrat periferních buněk. Volný CD20 není přítomen v cirkulaci, a proto léčiva, která reagují s CD20, by neměla být neutralizována před vazbou na cílovou strukturu (*Pescovitz; 2006*).

▪ Mechanismus účinku

Rituximab se váže svou Fab částí na molekuly CD20 a jeho Fc fragment pak zodpovídá za efektorovou imunitní reakci (*Sobotková; 2008*). Deplece B-lymfocytů je vyvolávána jejich lýzou na základě komplement-dependentní cytotoxicity, buněčné toxicity závislé na protilátkách nebo signálem zprostředkované apoptózy (*Pescovitz; 2006*). Deplece B-lymfocytů není doprovázena zřejmým snížením počtu i dalších krevních elementů.

Účinek rituximabu na produkci protilátek je méně přesvědčivý. Sérové hladiny IgG, IgA a IgE se snižují jen málo. O něco více se snižují hladiny IgM. U revmatoidní artritidy ovšem bylo pozorováno snížení revmatoidního faktoru ve všech izotopech. Nejzřejmější snížení tvorby autoprotilátek bylo pozorováno u pacientů léčených rituximabem pro Wegenerovu granulomatózu, i když ke snížení autoprotilátek dochází velmi pomalu, řádově v měsících. Pravděpodobně však snížení tvorby protilátek není hlavním mechanismem působení rituximabu u autoimunitních chorob. Hlavně se zde nejspíše uplatňuje jejich deplece v prozánětlivých a imunoregulačních dějích, na kterých se podílejí dendritické buňky a T-lymfocyty (*Sobotková; 2008*).

▪ Nežádoucí účinky

Většina nežádoucích účinků při léčbě rituximabem je asociována s aplikací rituximabu ve formě intravenózních infuzí. Nejčastěji se vyskytují po první infuzi a dále jejich výskyt klesá. Vznikají pravděpodobně v důsledku uvolnění cytokinů (IL-6 a TNF α). Projevují se jako nauzea, zvracení, bolest hlavy, horečka či hypotenze. Jsou většinou mírné až střední intenzity a dobře reagují na zpomalení či zastavení infuze. Výskyt těchto infuzních reakcí je nižší u autoimunitních než u onkologických onemocnění (*Shaw; 2003*). Předchází-li infuzi podání antipyretik, antihistaminik a eventuálně i podání kortikosteroidů, lze tyto nežádoucí účinky minimalizovat.

Mnohem závažnější, ale naštěstí vzácný, je rozvoj hypoxie a kardiovaskulárního kolapsu, těžké mukokutánní reakce a rozvoj syndromu z rozpadu tumoru. Tyto komplikace však jsou popisovány pouze u pacientů s lymfomy. Výskyt infekčních komplikací není přesvědčivě zvýšen (*Sobotková; 2008*).

▪ Klinické použití

Rituximab byl první monoklonální protilátkou oficiálně schválenou pro léčbu onkologických onemocnění, konkrétně pro léčbu nehodgkinských maligních lymfomů. V této indikaci je registrován v téměř 100 státech světa a počet léčených pacientů se blíží milionu. Rituximab efektivně snižuje množství B-lymfocytů periferní krvi i v kostní dřeni po dobu 9–12 měsíců po aplikaci jedné léčebné série (*Shaw; 2003*).

Obecně povzbudivých výsledků pak bylo dosaženo i v léčbě dalších malignit spojených s přítomností CD20 pozitivních B-lymfocytů, jako je chronická lymfatická leukémie, Hodgkinova nemoc a Waldenströмова makroglobulinémie. Kromě nehodgkinských lymfomů je druhou jednoznačnou indikací revmatoidní artritida. Zde je v kombinaci s methotrexátem indikován u pacientů s těžkou aktivní formou nemoci, kteří netolerovali jiné prorevmatoidní léky včetně anti-TNF léčby. Z terapie rituximabem však mají významný prospěch i pacienti s dalšími autoimunitními chorobami, jako je např. idiopatická trombocytopenická purpura, autoimunitní hemolytická anémie, SLE, Wegenerova granulomatóza (*Sobotková; 2008*).

Zkušenosti s použitím rituximabu při orgánových transplantacích jsou omezené. Stal se však součástí léčby potransplantační lymfoproliferativní poruchy (*Mueller; 2008*). Dále se používá u refrakterní revmatoidní artritidy a autoimunitní trombocytopenie (*Gea-Banacloche; 2007*). U revmatoidní artritidy myšlenka využití

rituximabu nepramenila jen ze snahy odstranit prekurzory tvorby autoprotilátek, ale také ze snahy odstranit paměťové B-lymfocyty a navodit tak určitý nový stav imunitního systému. U SLE a dalších autoimunitních onemocnění převládá dosud názor, že nejdůležitějším mechanismem účinku rituximabu je eliminace schopnosti tvorby autoprotilátek (*Vencovský; 2008*).

V léčbě revmatoidní artritidy představuje rituximab nový terapeutický princip. Je zatím indikován v kombinaci s methotrexátem u nemocných, kde selhala léčba minimálně jedním anti-TNF léčivem (infiximabem, adalimumabem, etanerceptem). Jako ostatní léčiva ani rituximab zcela nevyлéčí revmatoidní artritidu. Po ukončení léčby rituximabem nastává u většiny nemocných relaps, který vyžaduje aplikaci další série. Přesný časový režim pro dlouhodobou léčbu zatím vypracován nebyl. Kromě klinické účinnosti byla potvrzena i účinnost rituximabu ve zpomalení rentgenové progresy RA a zlepšení kvality života. Otevřená kohortová studie naznačuje i větší účinnost změny léčby na rituximab než na druhé anti-TNF léčivo v případě selhání první anti-TNF terapie (*Shaw; 2003*).

7.5 Protilátky proti receptoru pro interleukin 2

Biologická imunosupresiva, jako ATG a OKT-3, byly používány pro léčbu rejekce nebo byly součástí indukční terapie u pacientů s vysokým rizikem selhání štěpu. Pokroky v technologii monoklonálních protilátek umožnily vývoj biologických imunosupresiv, které poškozují nebo selektivně blokují a aktivaci a proliferaci T-lymfocytů bez významných nežádoucích účinků (*Hanaway; 2000*).

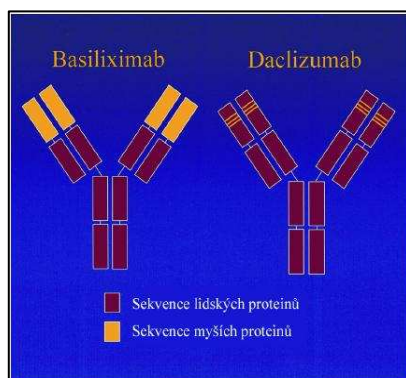
IL-2 je produkován aktivovanými CD4⁺ T-lymfocyty a je schopen aktivovat řadu klíčových buněk imunitního systému včetně T- a B-lymfocytů, NK buněk a buněk monocyto-makrofágového systému. Současné možnosti molekulární biologie nám nabídly rekombinantní IL-2 inhibitory jeho receptoru. V roce 1981 byla vyvinuta první myší monoklonální protilátka proti receptoru pro IL-2, která byla navázána na anti-Tac (vázala se jen na aktivované T-lymfocyty). Dnes už víme, že se jednalo o podjednotku α receptoru pro IL-2, kterou dnes označujeme CD25 (*Sobotková; 2008*).

IL-2 receptor se skládá ze tří transmembránových proteinových řetězců: α (CD25), β (CD122) a γ (CD132). CD25 je vyjádřen pouze na aktivovaných T-lymfocytech, nikoli na klidových. Navázání IL-2 na IL-2R je nezbytná pro klonální

expanzi a proliferaci T-lymfocytů (*Hanaway; 2000*). Na klidových T-lymfocytech je receptor pro IL-2 tvořen dvěma řetězci β a γ . Po aktivaci lymfocytů se rychle dotváří další glykoproteinový řetězec α . Celý komplex pak s vysokou afinitou váže IL-2 a následně stimuluje proliferaci T-lymfocytů (*Breedveld; 2000*).

Obsazení α řetězce protilátkou znemožňuje stimulaci aktivovaného lymfocytu k proliferaci a klonální expenzi. Na rozdíl od dosud užívaných protilátek anti-CD3 s deplečním účinkem na všechny typy T-lymfocytů je účinek těchto protilátek selektivně omezen na aktivované T-lymfocyty a nevede k hlubokému poklesu lymfocytů. Proto je tento typ protilátek někdy označován jako non-depleční. Jejich podání nevede k rozvoji cytokinového syndromu, významnému nežádoucímu provázejícímu podání anti-CD3 protilátek. Anti-IL2 protilátky mají další výhodu v tom, že imunogenní část myšního imunoglobulinu je nahrazena lidským imunoglobulinem IgG, což redukuje tvorbu neutralizačních protilátek schopných protilátky inaktivovat (*Matl; 2000*).

Obr. 14: Basiliximab a daclizumab



(*Warrens; 2002*)

V současné době máme k dispozici dvě látky se specifitou proti IL-2 receptoru – daclizumab a basiliximab (viz obr. 14). Obě látky si našly své místo zejména v transplantologii. Hlavním způsobem využití těchto protilátek je profylaktické podání v časném potransplantačním období k potlačení rejekcí (*Matl; 2000*).

Ve srovnání s předchozími protilátkami představují svojí malou imunogenicitou a prakticky žádnými vedlejšími účinky novou generaci monoklonální protilátek.

Používají se buď v profylaxi akutní rejekce, jako sekvenční imunosupresivum při oddáleném nasazení kalcineurinových inhibitorů nebo za účelem překrytí období, kdy jsou vysazovány kortikoidy nebo kalcineurinové inhibitory. Tyto monoklonální protilátky vhodně doplňují účinek kalcineurinových inhibitorů, které blokují produkci IL-2.

Na rozdíl od anti-CD3 protilátek nevyvolávají tvorbu protilátek a mají minimum nežádoucích účinků (*Suchý; 2004*).

7.5.1 Basiliximab

Basiliximab je chimérická monoklonální protilátka, produkovaná rekombinantní DNA technologií, s humánním konstantním fragmentem a myšími variabilními fragmenty. Lidského původu je 75 % protilátky, myšího 25%. Protilátka je cílena proti α řetězci receptoru pro IL-2, který se objevuje na povrchu T-lymfocytů po jejich aktivaci antigenem. (*Suchý; 2004*) Basiliximab účinně blokuje IL-2 receptor po 40 až 50 dní po jejím podání (*Hanaway; 2000*). Basiliximab snížil výskyt rejekcí v prvních 6 měsících po transplantaci oproti placebo ve dvou kontrolovaných studiích o 14,2% (*Matl; 2000*).

Je určen k prevenci akutní rejekce po alogenních transplantacích ledvin. Užívá se v kombinaci s dalšími imunosupresivy, mezi kterými nechybí cyclosporin a glukokortikoidy. S úspěchem byla tato protilátka podána také pacientům, kteří trpí onemocněním myasthenia gravis a sclerosis multiplex.

Indikací je profylaxe akutní rejekce v indukčních režimech u nemocných po transplantaci ledviny v kombinaci s cyklosporinem a kortikoidy. Basiliximab v prvních šesti měsících po transplantaci ledviny snižuje incidenci akutních rejekcí asi na 34 %. Jednoroční přežívání nemocných a štěpů však léčbou basiliximabem ovlivněno nebylo. Po podání basiliximab nevyvolává příznaky cytokinového syndromu, nebyl zaznamenán zvýšený výskyt infekcí ani lymfoproliferativních onemocnění. Nejsou uváděny ani žádné lékové interakce (*Suchý; 2004*). V průběhu aplikace se může vyskytnout anafylaktická reakce doprovázená bronchospasmem, tachykardií, hypotenzí, kopřivkou s možným selháním dechu. Nejčastěji jsou však hlášeny bolesti hlavy, anémie, hypertenze, obstipace, průjmy, nauzea a infekce horních cest dýchacích a močových (*Sobotková; 2008*).

Výsledky časných studií prokázaly podobnou účinnost basiliximabu ve srovnání s daclizumabem. Pozdější multicentrické studie uvádějí nižší výsky rejekce a zlepšení funkce ledvin u pacientů ve srovnání s placebem. V žádné studii nejsou zmínky o zvýšeném výskytu nežádoucích účinků v porovnání s placebem (*Hanaway; 2000*).

7.5.2 Daclizumab

Daclizumab je humanizovaná IgG1 monoklonální protilátka namířená proti podjednotce α receptoru pro IL-2. V případě daclizumabu je myší pouze část imunoglobulinu vázající antigen, lidského původu je 90 % protilátky a myšího pouze 10% protilátky. Obě protilátky mají dlouhý eliminační poločas a zaručí obsazení α -receptoru v případě basiliximabu po dobu 45 dní a v případě daclizumabu je tato doba až 12 týdnů.

Přípravek je indikován v kombinaci s další imunosupresivní léčbou v indukčních režimech. V prvních šesti měsících po transplantaci ledviny snižuje incidenci akutních rejekcí na 28%, resp. na 22 %, v závislosti na použité kombinaci ostatních imunosupresiv. Při trojkombinaci s MMF se procento akutních rejekcí pohybovalo okolo 12 % (*Viklický; 2001*). S úspěchem byl zkoušen i u pacientů s neinfekční uveitidou a psoriázou (*Sobotková; 2008*).

7.6 Antagonista receptoru pro interleukin 1

Inhibice cytokinových receptorů je kromě již zmíněného receptoru pro IL-2 také cílem léčiva nazývaného antagonistou receptoru pro IL-1. Receptor pro IL-1 byl pro svoji důležitou úlohu v rozvoji zánětu jedním z prvních cílů výzkumu v oblasti imunomodulační terapie.

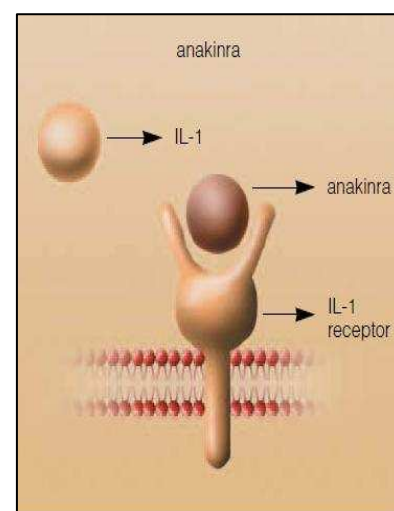
7.6.1 Anakinra

Anakinra je rekombinantní neglykosylovaná forma nativního IL-1, která funguje jako antagonistu receptoru pro IL-1 (viz obr. 15) (*Sobotková; 2008*). IL-1 je prozánětový cytokin podobných účinků jako TNF- α . Bylo zjištěno, že má v lidském organizmu svého přirozeného antagonistu IL-1RA. Jde o látku, která se váže na receptory pro IL-1, aniž by je aktivovala. Naopak, receptor obsazený IL-1RA není schopen přijímat IL-1, a nemůže tudíž buňku ovlivnit. Uměle připravený (produkuje *E*.

coli s vneseným genem) IL-1RA dokáže účinně tlumit působení IL-1 v rozvoji zánětu, pokud je ovšem zablokována naprostá většina (95 %) receptorů pro IL-1 aktuálně dostupných. To vyžaduje pravidelné (denní) podávání léku. Dostupný IL-1RA se nazývá anakinra a je indikován k léčbě případů revmatoidní artritidy vzdorujících standardní terapii buď v monoterapii, nebo v kombinaci s methotrexátem (Jílek; 2008).

Léčba anakinrou je v zásadě velmi dobře tolerována. Ve studii zaměřené na sledování bezpečnosti tohoto léku se popisuje vyšší výskyt závažných infekcí u skupiny nemocných léčených anakinrou oproti skupině léčené placebem, přičemž ale výskyt ostatních závažných nežádoucích účinků byl u obou skupin stejný (Fleischmann; 2003). Nežádoucí je současná aplikace s etanerceptem, protože bylo pozorováno zvýšená výskytu závažných infekcí (Sobotková; 2008).

Obr. 15: Anakinra



(Mayer; 2005)

7.7 Léčiva namířená proti adhezním molekulám

Předpokladem pro interakci buněk při imunitních reakcích jsou vzájemné mezibuněčné kontakty zprostředkované adhezivními molekulami.

7.7.1 Efalizumab

Efalizumab je humanizovaná monoklonální protilátka, která se váže na CD11a podjednotku adhezivní molekuly LFA-1 na T-lymfocyty, a interaguje tak s jeho vazbou na ICAM-1 na antigen prezentující buňce. Důsledkem je zábrana aktivace a migrace T-lymfocytů (Štolfa²; 2005). Mimořádně zvýšená exprese ICAM-1 je obzvláště pozorována v psoritických ložiscích (Sobotková; 2008).

▪ Bezpečnost a snášenlivost

Subkutánně aplikovaný efalizumab je u pacientů se středně závažnou až těžkou formou psoriázy dobře snášen. Během 12ti týdenního kontrolovaného sledování byly nejčastějšími nežádoucími účinky nespecifické projevy, které je možné dát do přímé souvislosti se způsobem aplikace (bolest hlavy, třesavka, bolesti svalů a horečka). Tyto projevy ve většině případů vymizely po opakované aplikaci již po druhé dávce efalizumabu. Terapie efalizumabem ve srovnání s placebem nezvyšuje riziko infekce (Wellington; 2005).

▪ Klinické použití

Léčivo je určeno k terapii těžkých a středně těžkých forem psoriáz, které jsou rezistentní ke standardní léčbě, včetně léčby cyklosporinem, methotrexátem, nebo k terapii pacientů, kteří tuto léčbu netolerují (Sobotková; 2008).

Efalizumab významně zlepšuje kvalitu života pacientů se středně závažnou až těžkou psoriázou. Na základě specifické dermatologické škály DLQI (Dermatology Life Quality Index) bylo zlepšení kvality života ve skupině léčené 47 % a ve skupině placeba jen 14 %. Tato kvalita života byla zachována po celých 24 týdnů sledování (Menter; 2005).

7.7.2 Alemtuzumab

Alemtuzumab je humanizovaná monoklonální protilátka proti molekule CD52, která je přítomná na všech krevních mononukleárních buňkách a také na buňkách lemujících mužské semenotvorné kanálky. Používá se k léčbě autoimunitních onemocnění a při orgánové transplantaci. Poprvé byl použit v roce 1998 s cílem zabránit vzniku akutní rejekce a je používán stále častěji jako součást indukční terapie.

CD52 je antigen vyjádřený na T- i B-lymfocytech, monocytech, makrofázích a eozinofilech. Jeho funkce je v současné době neznámá. Jedná se glykoprotein obsahující pouze 12 aminokyselin, který je připojen k vnější straně buněčné membrány. CD52 je jedním z nejčastějších antigenů na povrchu lymfocytů, tvoří přibližně 5% povrchových antigenů (Morris; 2006). Po vazbě na buňky exprimující antigen CD52 dochází k cytolýze buněk a jejich následné apoptóze (Suchý; 2004). Důsledkem je dlouhodobá lymfopenie vyvolaná podáním jedné nebo dvou látek protilátky.

Trvá měsíce až roky než se hladiny lymfocytů vrátí do normálu. Např. dvě dávky alemtuzumabu po 20mg podané v průběhu dvou dní u pacientů po transplantaci ledviny, způsobily vážnou lymfopenii. Zatím co hladiny B-lymfocytů se vrátily do normálu za 3 – 12 měsíců, počet T-lymfocytů zůstal výrazně snížený až 3 roky (Morris; 2006).

▪ Nežádoucí účinky

Nežádoucí účinky zahrnují iniciální chřipkové příznaky, které jsou často pozorovány po první infuzi. Tyto lze zvládat premedikací perorálním antihistaminikem a paracetamolem. Kortikosteroidy lze použít k prevenci i léčbě těžkých příhod spojených s podáváním alemtuzumabu. Ke snížení nebezpečí těžkých oportunních infekcí je třeba podávat profylaktickou protiinfekční léčbu. Léčba alemtuzumabem se musí v případě těžké infekce dočasně přerušit (Suchý; 2004).

▪ Klinické použití

Mezi schválené indikace patří léčba chronické lymfocytární leukémie z B-lymfocytů (Gea-Banacloche; 2007). Dlouho je používán v transplantologii, ojedinělé jsou studie u autoimunitních onemocnění, např. Wegenerovy granulomatózy (Sobotková; 2008) a aplastické anémie (Gea-Banacloche; 2007).

7.7.3 Natalizumab

Natalizumab je humanizovaná monoklonální protilátka namířená proti další ze skupiny adhezních molekul, a to proti α_4 -integrinu. Tento integrin je vysoce exprimován na povrchích leukocytů. Natalizumab vstupuje do interakce mezi $\alpha_4\beta_1$ - a $\alpha_4\beta_7$ - integriny a jejich receptory VCAM-1 a mukozální adhesinovou buněčnou adhezivní molekulou 1 (MAdCAM-1) (Sobotková; 2008). Interakce mezi $\alpha_4\beta_1$ a VCAM-1 je důležitá pro přestup leukocytů do CNS, interakce $\alpha_4\beta_7$ -MAdCAM-1 jsou důležité pro udržování střevní slizniční imunity.

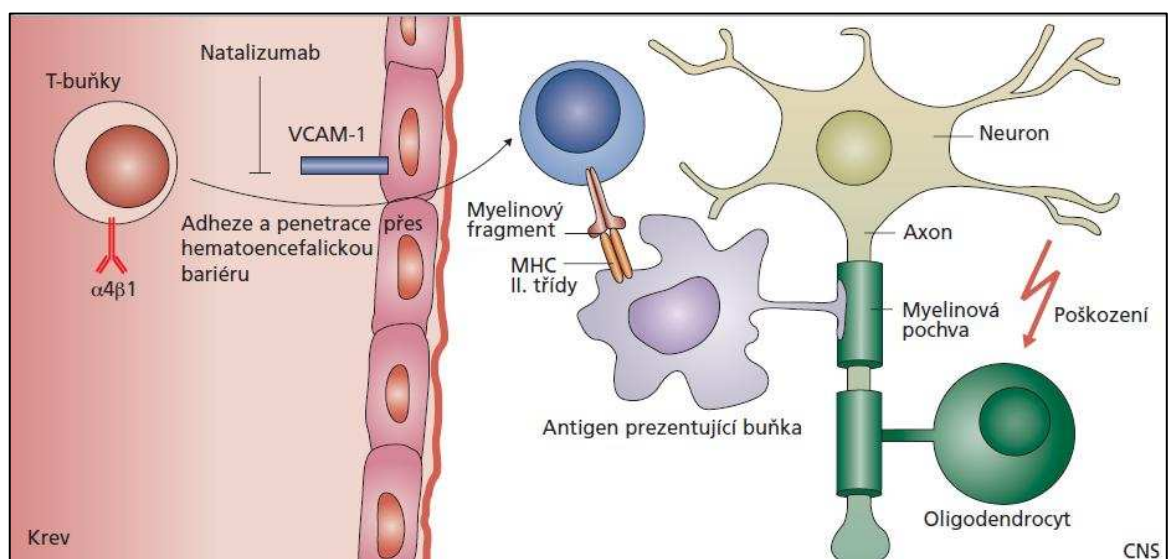
Kromě těchto fyziologických funkcí jedním z patogenních mechanismů α_4 -integrinů u člověka je migrace cirkulujících aktivovaných T-lymfocytů, monocytů a makrofágů do CNS. Aktivované T-buňky tak mohou pronikat do CNS bez přítomnosti

zánětu, protože hladiny VCAM-1 v cévách CNS jsou konstitučně nízké. Mikrovaskulární exprese VCAM-1 je významně zvýšená v okolí demyelinizačních lézí a přispívá k jejich zvýšenému hromadění v tomto místě. U Crohnovy choroby se patogenní T-lymfocyty přednostně dostávají do střeva prostřednictvím $\alpha 4\beta 7$ -MAdCAM-1, ale mohou se zde uplatňovat také $\alpha 4\beta 1$ -VACAM-1 (Hutchinson; 2007).

▪ Mechanismus účinku

Natalizumab má schopnost blokovat $\alpha 4\beta 1$ a $\alpha 4\beta 7$ vazbu, resp. jejich endoteliální vazebné receptory, VCAM-1 a MAdCAM-1 (viz obr. 16). Bylo prokázáno, že záchyt leukocytů z krve do tkáně je regulován následným spojením adhezivních signálních molekul na leukocyty a endoteliální buňky. Iniciální kontakt leukocytů s adhezivními molekulami jim dovoluje pomalý pokles a posun podél cévní stěny. Tento krok je lehce reverzibilní a může být zprostředkován selektiny, $\alpha 4$ -integriny nebo oběma. K zástavě a vazbě leukocytů je nutný aktivační signál, např. chemokiny, který dostává integriny do stavu vysoké afinity a dovoluje buňce se zastavit. Leukocyty se dostávají do tkáně pouze tehdy, když je naplněn tento krok. Tyto dva $\alpha 4$ -integriny a jejich vazebné receptory mají unikátní roli v této víceúrovňové kaskádě, protože jsou to jediné molekuly, které jsou schopny obou vlastností změnou své afinity ke stěně cévní nebo sliznici střeva (Taláb; 2007).

Obr. 16: Mechanismus účinku natalizumabu



(Taláb; 2007)

▪ Klinické použití

Natalizumab je určen k léčbě pacientů s vysoce aktivní relaxující-remitující roztroušenou sklerózou tehdy, jestliže se tato forma choroby rozvíjí velmi rychle nebo selhala léčba INF- β . Podává se v monoterapii. Preparát byl zkoušen i v léčbě pacientů s Crohnovou chorobou, ale výsledky zde zdaleka nebyly tak přesvědčivé (*Sobotková; 2008*).

Je indikován u pacientů, kteří mají nedostatečnou odpověď na ostatní imunomodulační, imunosupresivní a kombinovanou léčbu, včetně léčby interferonem beta a glatiramer acetátem (*Taláb; 2007*).

Výsledky multicentrické, placebem kontrolované klinické studie fáze 3 byly extrémně úspěšné (*Polman; 2006*) za první rok studie došlo ke snížení počtu relapsů o 68% u pacientů léčených natalizumabem ve srovnání s placebem. Lék byl v roce 2004 registrován americkou FDA. Bohužel však došlo u dvou pacientů k rozvoji závažné oportunní infekce CNS – progresivní multifokální encefalopatii (PML) – a veškeré pokusy s natalizumabem byly zastaveny v únoru 2005. Byly pečlivě přezkoumány případy PML. Třetí případ PML byl diagnostikován u pacienta s Crohnovou chorobou, u které se natalizumab rovněž s velkým úspěchem zkoušel. U všech tří pacientů (2 na tuto komplikaci zemřeli, u třetího zůstalo závažné reziduum) došlo zřejmě k nadměrné imunosupresi kombinací léčiv.

Jednoznačně vyplynulo, že natalizumab může být podáván pouze v monoterapii, a to se zřetelem na dosavadní imunosupresivní a cytostatickou léčbu pacienta i celkový stav jeho imunitního systému. Je určen pro pacienty s relaps-remitentní formou roztroušené sklerózy (2 a více závažných relapsů za 1 rok) – první volba, nebo s nedostatečným efektem či nevladatelnými nežádoucími účinky dosavadních léků první volby (druhá volba) (*Polman; 2006*).

V ČR je natalizumab registrován v indikaci druhé volby, bohužel je kategorizace preparátu i jeho úhrada s vysokým doplatkem pro pacienta v současné době nastavena tak, že natalizumab není v praxi u nás pro indikované pacienty k dispozici. Lze však předpokládat, že situace nedostupnosti doposud nejefektivnějšího léku v terapii roztroušené sklerózy, která je zcela výjimečná ve srovnání s ostatními státy Evropské Unie, nebude dlouhodobě v ČR udržitelná. Pokud pokračuje aktivita choroby a není na místě nebo se nepodaří z ekonomických důvodů zavést léčbu natalizumabem, máme k dispozici cytostatické a imunosupresivní režimy (*Krasulová; 2008*).

Čtyři velké randomizované studie potvrdily příznivý vliv natalizumabu podávaného ve formě infuze na snížení zánětlivé aktivity středně a vysoce aktivní Crohnovy nemoci. Natalizumab byl po bezpečnostním šetření FDA i EMEA (evropská agentura pro léčivé přípravky) schválen k podání pacientům s roztroušenou sklerózou. Podání u pacientů s Crohnovou nemocí doposud schváleno nebylo a je předmětem dalšího klinického hodnocení (*Lukáš; 2007*).

ZÁVĚR

Na počátku imunosupresivní terapie stály kortikosteroidy. Imunosupresivní léčba byla založena na kombinaci prednisonu a azathioprinu. Tato kombinace s sebou přinášela závažné komplikace a ani klinické výsledky nebyly dostačující. Od té doby se imunosupresivní skupina léčiv rozrostla o mnoho dalších látek. Zavedení cyklosporinu A výrazně zlepšilo přežívání štěpů i pacientů a široké uplatnění našel i v léčbě autoimunitních onemocnění. Nevýhodou jsou jeho nežádoucí účinky, zejména nefrotoxicita a arteriální hypertenze. Tyto nežádoucí účinky zcela postrádá sirolimus, inhibitor mTOR, který však nepříznivě ovlivňuje metabolismus lipidů.

Velkého rozvoje bylo dosaženo zavedením monoklonálních protilátek, které spolu s dalšími biologickými léčivy představují výhodnou alternativu tradičních imunosupresiv a zpravidla jsou dobře tolerovány.

Myší monoklonální protilátky proti CD3 znakům na lymfocytech se již 16 let používají jako profylaxe a léčba akutních rejekcí. Ačkoliv jsou tyto protilátky velmi účinné, jsou spojeny s celou řadou vedlejších účinků. Novou generaci představují monoklonální protilátky humanizované a chimérické. Tyto protilátky nejsou téměř imunogenní, jejich podání není prakticky spojeno s vedlejšími účinky. Novější monoklonální protilátky jsou namířené proti ko-stimulačnímu signálu v aktivaci T-lymfocytů nebo proti adhezivním molekulám. Protilátky proti B-lymfocytům byly původně vyvinuty k léčbě maligních lymfoproliferací B-lymfocytů. Z úvah o možné účasti B-buněk při produkci autoproti látek a prezentaci autoantigenů vyplynulo také jejich indikační rozšíření na autoimunitní choroby

Vývoj moderních imunosupresiv podstatně zlepšil autoimunitní onemocnění a přežívání transplantovaných orgánů i pacientů, ale neodstranil problém závažných nežádoucích účinků většiny užívaných léčiv při dlouhodobém podávání.

V současné době je k dispozici mnoho imunosupresivních léčiv, která se liší nejen mechanismem účinku, ale i spektrem účinků nežádoucích. Nové imunosupresivní strategie chtějí zlepšit hlavně bezpečnostní profily léčby, a proto se snaží imunosupresivní léčbu co nejvíce individualizovat. Snem transplantace imunologie zůstává navození imunologické tolerance vůči štěpu.

SEZNAM ZKRATEK

ADCC	antibody dependent cellular cytotoxicity
ALT	antilymfocytární globulin
APC	antigen prezentující buňka
ATG	antithymocytární globulin
CNI	kalcineurinové inhibitory
CTLA4	cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4
CyA	cyklosporin A
DLQI	Dermatology Life Quality Index
DMARDs	disease modifying anti-rheumatoid drugs
EMA	evropská agentura pro léčivé přípravky
FK-506	takrolimus
FKBP	FK binding protein
FSH	folikuly stimulující hormon
GK	glukokortikoidy
GnRH	gonadotropine-releasing hormone
GRE	glucocorticoid response elements
HAMA	human anti-mouse antibodies
HAQ	Health Quality Assessment
IMPDH	inosinmonofosfát dehydrogenáza
INF- γ	interferon γ
LH	luteinizační hormon
MMF	mykofenolát mofetil
MPA	mykofenolová kyselina
mTOR	mammalian target of rapamycin
NFAT	nukleární faktor aktivovaných T-lymfocytů
NF κ B	nuclear factor kappa B
NSAID	nonsteroid antiinflammatory drugs
OKT3	muromonab
PML	progresivní multifokální encefalopatie
SLE	systemový lupus erythematoses
TCR	receptor pro antigen na T-lymfocytu
TGF- β	transformující růstový faktor β
TNF- α	tumor nekrotizující faktor α
TNF- γ	tumor nekrotizující faktor γ

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Vztah mezi prvním, druhým a třetím imunologickým signálem

Obr. 2: Strukturní vzorec azathioprinu

Obr. 3: Cyklofosfamid

Obr. 4: Chemický strukturní vzorec MMF

Obr. 5: Mechanismus účinku methylprednisolonu

Obr. 6: Mechanismus účinku CNI

Obr. 7: Chemický strukturní vzorec CyA

Obr. 8: Chemický vzorec takrolimu

Obr. 9: Chemický vzorec sirolimu

Obr. 10: Strukturní vzorec everolimu

Obr. 11: Metoda produkce monoklonálních protilátek

Obr. 12: Mechanismus účinku abataceptu

Obr. 13: Léčiva proti TNF- α

Obr. 14: Basiliximab a daclizumab

Obr. 15: Anakinra

Obr. 16: Mechanismus účinku natalizumabu

POUŽITÁ LITERATURA

1. Akhavan, A.; Rudikoff, D.: *Atopic dermatitis: systemic immunosuppressive therapy*. Semin Cutan Med Surg 2008; 27(2):151-5
2. Allison, A.C.; Eugui, E. M.: *Mycophenolate mofetil and its mechanisms of action*. Immunopharmacology 2000; 47(2 – 3):85-118
3. Alloway, R.; Steinberg, S.; Khali, K. et al.: *Two years postconversion from a Prograf based regimen to a once daily tacrolimus extended release formulation in stable kidney transplant recipients*. Transplantation 2007; 83:1648–1651.
4. Baecklund, E.; Iliadou, A.; Askling, J. et al.: *Association of chronic inflammation, not its treatment, with increased lymphoma risk in rheumatoid arthritis*. Arthritis Rheum 2006; 54:692–701
5. Bamberger, C. M.; Amberger, A. M.; de Castro, M. et al.: *Glucocorticoid receptor beta, a potential endogenous inhibitor of glucocorticoid action in humans*. J Clin Invest 1995; 95:2435–41
6. Barshes, N.; Goodpastor, S.; Goss, J.: *Pharmacologic immunosuppression*. Front Biosci. 2004; 9: 411-420
7. Beiras-Fernandez, A.; Thein, E.; Hammer, C.: *Induction of immunosuppression with polyclonal antithymocyte globulins: an overview*. Exp Clin Transplant. 2003; 1(2): 79-84
8. Boletis, J.N.; Konstadinidou, I.; Chelioti H et al.: *Successful withdrawal of steroid after renal transplantation*. Transplant Proc 2001; 33(1-2):1231-3
9. Boumpas, D. T.; Chrousos, G. P. ; Wilder, R. L. et al.: *Glucocorticoid therapy for immune-mediated diseases: Basic and clinical correlates*. Ann Intern Med 1993; 199:1198–1208
10. Braun, J.; Sieper, J.; van der Heijde, D.: *Definition of discontinuation of anti-tumor necrosis factor therapy in rheumatoid arthritis: a preliminary proposal*. Ann Rheum Dis 2003; 62:1023–4
11. Breedveld, F. C.: *Therapeutic monoclonal antibodies*. Lancet. 2000;355(9205):735-40

12. Brennan, D. C.; Daller, J. A.; Lake, K. D.; Cibrik, D.; Del Castillo, D.: *Rabbit antithymocyte globulin versus basiliximab for induction in renal transplantation*. N Engl J Med 2006; 355:1967–77
13. Domhan, S.; Zeier, M.; Abdollahi, A.: *Immunosuppressive therapy and post-transplant malignancy*. Nephrol Dial Transplant. 2008; 31: 1-7
14. Dostál, C.; Doležal, T.: *Methylprednisolonum*. Remedia 2004; 14(1): 33-44
15. Dostál, C.; Pavelka, K.; Saudek, F.; Suchopár, J.; Ettler, K.: *Ciclosporinum*. Remedia 2005; 15: 33-52
16. Dunn, Ch. J.: *Cyclosporin. An Updated Review of the Pharmacokinetic Properties, Clinical Efficacy and Tolerability of a Microemulsion- Based Formulation in Organ Transplantation*. Drugs 2001; 61:1957–2016.
17. Fireman, M.; DiMartini, A.F.; Armstrong, S.C.; Cozza, K.L.: *Immunosuppressants*. Psychosomatics 2004; 45(4):354-60
18. Flechner, S. M.: *Reviewing the evidence for de novo immunosuppression with Sirolimus*. Transplant Proc. 2008; 40:25-8
19. Fleischmann, R. M.; Schechtman, J.; Bennett R. et al.: *Anakinra, a recombinant human interleukin-1 receptor antagonist (r-metHuIL-1ra), in patients with rheumatoid arthritis: A large, international, multicenter, placebo-controlled trial*. Arthritis Rheum. 2003; 48(4):927-34
20. Fleischmann, R.; Youcum, D.: *Does safety make a difference in selecting the right TNF antagonist?* Arthritis Res Ther. 2004; 6(2): 12-8
21. Gabalec, L.: *Crohnova nemoc – klasifikace, diagnostika, léčba a kvalita života*. Interni Med. 2009; 11(1): 16–20
22. Gea-Banacloche, J. C.; Weinberg, G. A.: *Monoclonal antibody therapeutics and risk for infection*. Pediatr Infect Dis J. 2007;26(11):1049-52
23. Girman, P.; Saudek, F.: *Sirolimus (rapamycin)*. Remedia 2005; 12 (5): 290-9
24. Hale, D. A.: *Biological effects of induction immunosuppression*. Curr Opin Immunol. 2004;16(5):565-70

25. Hanaway, M. J.; Sollinger, H. W.: *New trends in immunosuppression in transplant patients*. Saudi J Kidney Dis Transpl. 2000;11(2):137-44
26. Hawksworth, J. S.; Leeser, D.; Jindal, R. M.; Falta, E.; Tadaki, D.; Elster, E. A.: *New directions for induction immunosuppression strategy in solid organ transplantation*. Am J Surg. 2009; 26
27. <http://www.inovace.cz/for-high-tech/inovace-v-oborech/clanek/lidske-telo-si-vyrabi-idealni-vselek--budeme-jej-schopni-vyrabet/>
28. Humlová, Z.: *Alergie či autoimunita?* Alergie 2006; 2: 144
29. Hutchinson, M.: *Natalizumab: A new treatment for relapsing remitting multiple sclerosis*. Ther Clin Risk Manag. 2007; 3(2): 259–68
30. Jílek, P.: *Farmakoterapie poruch imunitního systému – tlumení nežádoucích reakcí*. Interní medicína pro praxi 2008; 10 (2): 80 – 83
31. Jílek, P.: *Základy imunologie*. Praha: Anyway, 2002
32. Kahan 2000= ramamycin 23
33. Keating, G.M.; Perry, C.M.: *Infliximab: an updated review of its use in Crohn's disease and rheumatoid arthritis*. BioDrugs 2002; 16:111–48.
34. Kiberd, B. A.; Lawen, J.; Fraser, A. D. et al.: *Early adequate mycophenolic acid exposure is associated with less rejection in kidney transplantation*. Am J Transplant 2004; 4:1079–1083.
35. Kirchner, G. I.; Meier-Wiedenbach, I.; Manns, M. P.: *Clinical pharmacokinetics of everolimus*. Clin Pharmacokinet 2004; 43(2): 83-5
36. Kirk, A. D.: *Induction therapy*. Transplantation 2006; 82: 593–602
37. Krasulová, E.; Havrdová, E.: *Současná léčba relaps-remitentní roztroušené sklerózy a perspektivy do budoucna*. Klin Farmakol Farm 2008; 22(1):23–9
38. Krejsek, J.; Kopecký, O.: *Klinická imunologie*. Pardubice: Nucleus HK, 2004
39. Kuypers, D. R.: *Influence of interactions between immunosuppressive drugs on therapeutic drug monitoring*. Ann Transplant 2008; 13(3): 11-8

40. Kuypers, D.; Vanrenterghem, Y. C.: *Tailoring immunosuppressive therapy*. Nephrol Dial Transplant 2002; 17: 2051–4
41. Laiko, K.; Tuomilehta, J.; Tilvis, R.: *Prevalence of rheumatoid arthritis and musculoskeletal diseases in the elderly population*. Rheumatol Int 2001; 20:85–87
42. Lincová, D.; Farghali H. et al.: *Základní a aplikovaná farmakologie*. Praha: Galén, 2007: 566 – 572
43. Lukáš, M.: *Biologická terapie idiopatických střevních zánětů*. Remedia 2007; 17: 348-55
44. Maini, R.; St Clair, E. W.; Breedveld, F. et al.: *Infliximab (chimeric anti-tumour necrosis factor alpha monoclonal antibody) versus placebo in rheumatoid arthritis patients receiving concomitant methotrexate: a randomised phase III trial. ATTRACT Study Group*. Lancet 1999; 354:1932–9
45. Marsi, M. A.: *The mosaic of immunosuppressive drugs*. Mol Immunol. 2003; 39(17-18):1073-7
46. Martin, R.; Ruderman, E.; Fleischmann, R. et al.: *A phase III trial of etanercept vs methotrexate (MTX) in early rheumatoid arthritis (Enbrel ERA trial)*. Ann Rheum Dis 2000; 59: 48.
47. Matl, I.: *Novější imunosupresiva a jejich současné postavení v praxi*. Čas Lek Česk. 2000; 139 (15):460-463
48. Matl², I.; Lácha, J.; Lodererová, A. et al.: *Vysazení prednisonu z trojkombinace imunosupresiv u nemocných po transplantaci ledviny*. Čas Lek Česk. 2000; 139(4): 155-9
49. Matsuda, S; Koyasu, S: *Mechanisms of action of cyclosporine*. Immunopharmacology 2000; 47:119–25
50. Mayer, O.; Suchý, D.; Brabcová, H.: *Adalimumabum*. Remedia 2005; 15(1): 3-9
51. Meier-Kriesche, H. U.; Arndorfer, J. A., Kaplan, B.: *Association of antibody induction with short- and long-term cause-specific mortality in renal transplant recipients*. J Am Soc Nephrol. 2002; 13(3):769-72

52. Menter, A.; Gordon, K.; Carey, W. et al.: *Efficacy and safety observed during 24 weeks of efalizumab therapy in patients with moderate to severe plaque psoriasis*. Arch Dermatol. 2005; 141(1):31-8
53. Miller, L. W.: *Cardiovascular toxicities of immunosuppressive agents*. Am J Transplant. 2002; 2(9):807-18
54. Morris, P. J.; Russel, N. K.: *Alemtuzumab (Campath-1H): a systematic review in organ transplantation*. Transplantation 2006; 81(10):1361-7
55. Mueller, N.J.: *New immunosuppressive strategies and the risk of infection*. Transpl Infect Dis. 2008;10(6):379-84
56. Norambuena, R. X.; Mallol, J.; Rios, M. G.; Quevedo R. F.; Quezada, L. A.: *Therapeutic effects of the anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody, infliximab, in four children with refractory juvenile idiopathic arthritis*. Allergol Immunopathol 2007; 35(2): 52-6
57. Ohshima, S.; Saeki, Y.; Mima; T. et al.: *Long-term follow-up of the changes in circulating cytokines, soluble cytokine receptors, and white blood cell subset counts in patients with rheumatoid arthritis (RA) after monoclonal anti-TNF alpha antibody therapy*. J Clin Immunol. 1999 ; 19(5):305-13
58. Pavelka, K.: *Biologická léčba revmatoidní artritidy a dalších revmatických onemocnění*. Remedia 2005; 15(1): 53-66
59. Perini, P; Calabrese, M; Rinaldi, L; Gallo, P: *Cyclophosphamide-based combination therapies for autoimmunity*. Neurol Sci 2008; 29:S233–S234
60. Pescovitz, M. D.: *Rituximab, an anti-CD20 monoclonal antibody: history and mechanism of action*. Am J Transplant 2006; 6:859-66
61. Polman, C. H.; O'Connor, P.W.; Havrdova, E. et al.: *A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis*. N Engl J Med. 2006; 354(9):899-910
62. Quiroz, Y.; Herrera-Acosta, J.; Johnson, R. J.; Rodriguez-Iturbe, B.: *Mycophenolate mofetil treatment in conditions different from organ transplantation*. Transplant Proc. 2002;34(7):2523-6

63. Ramsahoye, B.H.; Davies, S. V.; el Gaylani, N. et al.: *The mineralocorticoid effects of high dose hydrocortisone*. BMJ 1995; 310:656–7
64. Saliu, O. Y.; Sofer, C.; Stein, D.S. et al.: *Tumor-necrosis-factor blockers: differential effects on mycobacterial immunity*. J Infect Dis 2006; 194:486–92
65. Saudek, F.: *Tacrolimus s prodlouženým uvolňováním*. Remedia 2007; 17(5): 504-10
66. Saudek, F.: *Tacrolimusum*. Remedia 2006; 16(1): 61-79
67. Scali, J.J.; Kaminsky, A.; Salomon, J. et al.: *Open-label 24-month study evaluating infliximab therapy in patients with psoriatic spondyloarthritis*. Ann NY Acad Sci 2005; 1051:543–50
68. Shaw, T.; Quan, J.; Totoritis, M. C.: *B cell therapy for rheumatoid arthritis: the rituximab (anti CD 20) experience*. Ann Rheum Dis 2003; 62:55–9
69. Schlitt, H.J.; Barkmann, A., Böker, K.H. et al.: *Replacement of calcineurin inhibitors with mycophenolate mofetil in liver-transplant patients with renal dysfunction: a randomised controlled study*. Lancet 2001; 357(9256):587-91
70. Sobotková, M.; Bartůňková, J.: *Monoklonální protilátky a další biologická léčiva užívaná v imunosupresivní léčbě*. Remedia 2008; 18 (5):356-64
71. Squifflet, J. P.; Vanrenterghem, Y.; van Hooff, J. P.; Salmela, K.; Rigotti, P.: *Safe withdrawal of corticosteroids or mycophenolatemofetil: results of a large, prospective, multicenter, randomized study*. Transplant Proc 2002; 34:1584–86
72. Suchý, D.; Kozáková, I.; Grundmann, M.: *Základní charakteristiky vybraných imunosupresiv*. Klinická farmakologie a farmacie 2004; 18: 90 – 95
73. Surjushe, A.; Saple, D. G.: *Mycophenolate mofetil*. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2008; 74(2):180-4
74. Špinarová, L.; Vítovec, J.: *Kombinační léčba po transplantaci srdce*. Remedia 2006; 16(3): 268-73
75. Štolfa, J.: *Nové indikace pro adalimumab*. Remedia 2005; 15(3): 305-6
76. Štolfa², J.: *Biologická léčba psoriatické artritidy*. Remedia 2005; 15(3): 261-71
77. Taláb, R.: *Natalizumab*. Farmakoterapie 2007; 6:571-77

78. Taylor, A.L.; Watson, C.J.; Bradley, J.A.: *Immunosuppressive agents in solid organ transplantation: Mechanisms of action and therapeutic efficacy*. Crit Rev Oncol Hematol 2005; 56(1):23-46
79. Tegzová, D.; Vencovský, J.; Hrba, J.; Dostál, C; Zitko, T.: *Nežádoucí účinky léků používaných v revmatologii a základní principy sledování jejich bezpečnosti – II. biologické léky, kortikosteroidy, antiporotika*. Klin Farmakol Farm 2004; 18: 30–37
80. Vanrenterghem, Y.; Lebranchu, Y.; Hené, R.; Oppenheimer, F.; Ekberg, H.: *Double-blind comparison of two corticosteroid regimens plus mycophenolate mofetil and cyclosporine for prevention of acute renal allograft rejection*. Transplantation 2000; 70(9):1352-9
81. Vencovský, J.: *Použití rituximabu v léčbě revmatických onemocnění*. Interní. Med. 2008; 10 (2): 97–99
82. Venkataramanan R, et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. Clin Pharmacokinet 1995; 29: 404–430
83. Viklický, O.: *Chronická rejekce transplantované ledviny: Mechanismy vzniku a možnosti terapie*. Alergie 2001; 1:44-49
84. Viklický², O.; Matl, I.: Rapamycin: *Nové imunosupresivum schopné potlačit chronickou rejekci?* Čas Lek Česk. 2001; 140 (1): 22-5
85. Vítko, Š: *Perspektivy: Nová potransplantační imunosuprese*. Postgraduální nefrologie 2009; 7(1): 2-3
86. Warrens, A. N.: *Pharmacological control of the immune response in renal transplantation*. BJU Int 2002; 90(8):784-91
87. Wellington, K., Perry C.M.: *Efalizumab*. Am J Clin Dermatol 2005; 6:113–8
88. Zbořil, V.: *Infliximab v klinické léčebné praxi*. Klin Farmakol Farm 2005; 19: 67–71