

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

Katedra medicínské biologie



**Terapie nádorových onemocnění založená na selektivní a
přechodné inhibici imunitního systému**

Bakalářská práce

Petra Sváčková

Vedoucí práce: RNDr. Jan Ženka, CSc.

České Budějovice 2011

Sváčková P. (2011): Terapie nádorových onemocnění založená na selektivní a přechodné inhibici imunitního systému. [The Cancer Therapy Based on Selective and Transient Inhibition of the Immune System, Bc. Thesis, in Czech] - 56p., Faculty of Science, The University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic

Annotation: The aim of this study was to understand tumor immunology and its agents. We compared thirteen of the most important immunosuppressive drugs. Some immunosuppressive drugs may show a rebound effect in its mechanism of action. In immunology, rebound effect can be explained as a situation that occurs after withdrawal of immunosuppressive agents. After discontinuation of immunosuppressive drugs, the immune response will be restored and sometimes amplified.

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích 28. dubna 2011

.....

Petra Sváčková

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému školiteli RNDr. Janu Ženkovi, CSc. za vstřícný přístup, cenné rady, velkou trpělivost a věnovaný čas během mé práce. Mé velké díky patří mé rodině a blízkým přátelům, kteří mě vždy podpořili.

Obsah:

| | |
|---|----|
| 1. Úvod | |
| 1.1. Rakovina | |
| 1.1.1. Co je rakovina | 1 |
| 1.1.2. Vznik nádorů | 2 |
| 1.1.3. Typy nádorů | 2 |
| | |
| 2. Cíle práce | 10 |
| | |
| 3. Nádorová imunologie | 11 |
| 3.1. Činitelé protinádorové imunity | 11 |
| 3.1.1. T-lymfocyty | 11 |
| 3.1.2. NK buňky | 12 |
| 3.1.3. NC buňky | 13 |
| 3.1.4. NKT buňky | 13 |
| 3.1.5. Makrofágy | 14 |
| 3.2. Cytokiny, TH1/TH2 Rovnováha | 14 |
| 3.3. Rozpoznání nádorových buněk imunitním systémem | 15 |
| 3.4. Obrana nádorů před imunitní odpovědí | 16 |
| 3.5. Léčba rakoviny pomocí rebound efektu | 16 |
| 3.5.1. Co je rebound effect? | 16 |
| 3.5.2. Možnost použití rebound efektu pro nádorovou terapii | 17 |

| | |
|--|----|
| 4. Inhibitory | 18 |
| 4.1. Obecná charakteristika | 18 |
| 4.1.1. Použití | 18 |
| 4.1.2. Mechanismus účinku | 18 |
| 4.1.3. Rozdělení imunosupresivních látek dle mechanismu účinku | 19 |
| 4.2. Přehled základních imunosupresorů | 20 |
| 4.2.1. Azathioprin | 20 |
| 4.2.2. Cyklofosfamid | 21 |
| 4.2.3. Cyklosporin A | 22 |
| 4.2.4. Dexamethason | 24 |
| 4.2.5. Infliximab | 25 |
| 4.2.6. Leflunomide | 25 |
| 4.2.7. Methotrexát | 26 |
| 4.2.8. Methylprednisolon | 27 |
| 4.2.9. Mykofenolát mofetil | 28 |
| 4.2.10. Natalizumab | 29 |
| 4.2.11. Prednisolon | 30 |
| 4.2.12. Sirolimus | 32 |
| 4.2.13. Tacrolimus | 33 |

| | | |
|-----------|---|----|
| 5. | Rebound efekt u imunopresiv a rakovina | 34 |
| | 5.1. Imunomodulace | 34 |
| | 5.2. Výskyt rebound efektu, nenádorová onemocnění | 35 |
| | 5.3. Výskyt rebound efektu, nádorová onemocnění | 42 |
| 6. | Závěr | 46 |
| 7. | Seznam použité literatury | 47 |

1. Úvod

1.1. Rakovina

1.1.1. Co je rakovina

Rakovina je skupina onemocnění, při kterém dochází k nekontrolovanému dělení abnormálních buněk (nádorových buněk) (U. S. National Cancer Institute 2010).

Tuto chorobu můžeme charakterizovat vznikem zhoubných (maligních) buněk. Maligní buňky jsou schopné invadovat okolní tkáň, ve kterých se vytvářejí vzdálené nádory, nazývané metastázy. Jako nádorovou buňku můžeme chápat i takovou buňku, která nemusí být schopná invadovat okolní tkáň a tvořit metastáze, ale může vytvářet benigní nádory. V experimentální biologii je nádorovou buňkou označována buňka schopná vyvolávat nádory na imunologicky příslušných zvířecích hostitelích (Altaner 2008). Existuje více než 100 různých typů rakoviny. Většina případů nebo typů rakoviny je pojmenována po orgánech nebo po buňkách, ve kterých vznikne rakovinné bujení (U.S. National Cancer Institute 2010).

Rakovina je ve své podstatě chorobou postihující geny organismu. Pokud jsou geny daného organismu v pořádku, dochází k bezproblémovému fungování a vývoji těla. Jestliže ale dojde i k sebemenší změně v genu, někdy jen na úrovni jednoho nukleotidu, může to mít dramatické následky vedoucí ke vzniku nádorové choroby, ale i k jiným poruchám. V některých případech taková změna není slučitelná se životem. Většinou se jedná o monoklonální nádor, tzn. že nádor pochází z jedné buňky mající defekt v regulaci. Nádorové buňky jsou velice často aneuploidní, mohou vykazovat delece, duplikace i translokace genu (Altaner 2008).

1.1.2. Vznik nádorů

Nádory mohou vzniknout v jakékoliv proliferující tkáni. Jejich zvýšená glykolytická aktivita jim umožňuje růst při snížené dodávce kyslíku. Většina nádorových buněk je schopná sekretovat faktory indukující tvorbu cév uvnitř nádoru, a tím zajistit jeho dostatečné zásobení kyslíkem a živinami. Nejčastěji dochází k jejich vzniku v tkáních s nejvyšším množstvím množících se buněk a také v oblastech, kde jsou buňky stimulovány hormony.

Mutaci genů, kvůli které dochází k maligním transformacím, způsobují chemické nebo fyzikální mutageny anebo některé viry. Chemické mutageny mohou být pro organismus kancerogenní přímo, jako je to v případě alkylačních látek, nebo se stávají kancerogeny až po průchodu organismem a jejich enzymatické změně. K nejčastějším chemickým mutagenům řadíme: polycyklické aromatické uhlovodíky, aromatické aminy a azobarviva, produkty plísní a rostlin, alkylační a acetylační činidla. K hlavním fyzikálním mutagenům patří ultrafialové a ionizující záření. Ultrafialové záření indukuje tvorbu thyminových dimerů. Ionizující záření způsobuje chromozomové zlomy. K virům způsobující maligní transformace řadíme virus Rousova sarkomu, DNA viry polyomu a virus SV40 (U.S. National Cancer Institute 2010).

1.1.3. Typy nádorů

Nádory můžeme dělit podle jejich biologického chování na nádory nepravé a pravé. Nepravý nádor, neboli pseudotumor, je útvar, který svým vzhledem nádor připomíná, ale vznikl jiným způsobem (zánět, nahromadění tekutiny) než abnormálním dělením buněk. Mezi pseudotumory řadíme např. cysty (dutina vyplněná tekutinou, plynem nebo kašovitou hmotou), pseudocysty (dutina vzniklá po nekróze), hypertrofie (zvětšení orgánu v důsledku zvětšení buněk, které ten orgán tvoří), hyperplazie (zvětšení orgánu v důsledku zmnožení buněk, které ten orgán tvoří), zánětlivé pseudotumory nebo úložiště patologického materiálu (Petruželka et al. 2003).

Pravý nádor dělíme opět do dvou skupin, a to na nádor benigní (nezhoubný) a maligní (zhoubný).

Nádor benigní nevniká do zdravé okolní tkáně, ale může ji při svém růstu utlačovat. Benigní nádor je ve většině případů lépe opouzdřen, proto může být snadněji určena hranice místa jeho odstranění. Velice závažný je např. růst benigního nádoru v lebeční dutině nebo v páteřním kanálu (Stříteský 2001). Z některých benigních nádorů se mohou vyvinout i nádory maligní (prekancerózy). Maligní nádory jsou nádory s nekontrolovaným růstem, který je progresivně invazivní. Je schopen zakládat dceřiná ložiska nebo-li metastáze. Metastáze jsou shluky nádorových buněk, které se šíří krví nebo lymfatickými cévami do dalších tkání. V těchto tkáních později proliferují. Maligní nádory často prorůstají do okolí a hranice chirurgického výkonu je tedy obtížně určitelná (Petruželka L. et al. 2003).

Dalším typem rozdělení nádorového onemocnění je dělení podle původního umístění nádorové tkáně. (Stříteský 2001)

- Mezenchymové nádory

Mezenchymové nádory se vyskytují ve tkáních, které vznikají z embryonálního pojiva (mezenchymu). Mezenchym je původní výplň mezi zárodečnými listy- ektodermem a entodermem. Z mezenchymu se později diferencují buňky mezodermu. Tyto buňky vytvářejí hmotu, která plní vyplňovací, opornou a vyživovací funkci.

- a) Benigní mezenchymové nádory

Tento typ nádorů je poměrně častý a může se vyskytnout prakticky kdekoli, v důsledku všudypřítomnosti tkání odvozených z mezenchymu.

Např.: fibrom (z vaziva kůže a ve sliznicích), lipom (z tukového vaziva v podkoží), chondrom (z chrupavky), osteom (z kostní tkáně), hemangiom (z krevních cév), lymfangiom (z lymfatických cév),...

- b) Maligní mezenchymové nádory

Jedná se o poměrně vzácné typy nádorů. Vyskytují se na obdobných místech jako benigní mezenchymové nádory, často mohou být uloženy i hlouběji ve vnitřních orgánech,

v kosterních svalech a v retroperitoneu. Často metastazují do mozku, plic, jater a kostí.

Např.: fibrosarkom (z vaziva), chondrosarkom (z chrupavky), hemangiosarkom (z krevních cév), lymfangiosarkom (z lymfatických cév, vysoce maligní), leiomyosarkom (z hladké svaloviny), rhabdomyosarkom (z příčně pruhované svaloviny, vysoce maligní),...

c) Nádory z krvevorných a mízotvorných tkání

Tento typ nádorů nazýváme hematogenními nádory. Jsou tvořené změněnými krvinkami a jejich vývojově nezralými složkami. Zasahují orgány, ze kterých ve vývoji jedince nebo v dospělosti vznikají normální krvinky. Tyto nádory mohou vytvářet nádorové uzly, ale často se postižené orgány zvětšují celé, bez jasných nádorových ložisek. Hematogenní nádory můžeme rozdělit podle růstu a šíření nádoru na hemoblastomy a hemoblastózy.

Hemoblastomy tvoří nádorové uzly a metastazují bez charakteristických změn v krevním obrazu. Hemoblastomy jsou tvořeny buňkami lymfocytární řady. Nazývají se maligní lymfomy. Tyto nádory jsou od sebe odlišné po biologické i histologické stránce, a proto je dělíme ještě do dvou skupin. A to na Hodgkinův lymfom a non-Hodgkinův lymfom. Hodgkinův lymfom sice obsahuje nádorové buňky, ale jejich počet nepřevyšuje množství normálních buněk typu zánětlivého infiltrátu (lymfocyty, granulocyty, plazmatické buňky). Jako celek se chová jako maligní tumor. Hodgkinův lymfom je schopný metastazovat. Tento typ nádoru obvykle začíná v uzlinách, ale velice rychle se šíří do celého těla. Jeho výskyt je poměrně vzácný. Non-Hodgkinův lymfom se naopak vyskytuje ve všech tkáních, ve kterých jsou lymfocyty (tzn. nejen v uzlinách, ale i např. ve slezině, játrech, ledvinách atd.). Non-Hodgkinův lymfom se dělí na lymfom s vysokým nebo s nízkým stupněm malignity. Non-Hodgkinův lymfom s vysokým stupněm malignity je velmi agresivní. Pokud se kléčbě přistoupí s dostatečnou rasancí, je vyléčitelný. Průběh non-Hodgkinova lymfomu s nízkým stupněm malignity je pozvolný, člověk o něm nemusí vůbec vědět. Je poměrně snadno vyléčitelný, ale má sklony k recidivě.

Hemoblastózy mohou difúzně infiltrovat orgány a obsahují vysoké množství nádorových buněk v periferní krvi. K hemoblastózám řadíme leukémie a myeloproliferativní onemocnění. Průběh leukémie může být buď akutní, nebo chronický. Akutní leukémii rozpoznáme tak, že její nádorové buňky jsou velice málo

diferencované, nelze je dobře zařadit (např. akutní myeloidní leukémie), někdy zůstávají nezařazené (např. akutní blastická leukémie). Zvětšení orgánů je skoro neznatelné. Naopak chronické leukémie mají vysoký počet diferencovaných buněk v periferní krvi a v infiltrovaných orgánech. Při chronické granulocytární leukémii dojde k infiltraci buněk granulocytární řady především do kostní dřeně, sleziny a jater. Oproti tomu lymfatické uzliny nejsou infiltrovány skoro vůbec, nebo až v pozdních stádiích. Chronická lymfocytární leukémie zasahuje také kostní dřen, slezinu a játra, ale v tomto případě dochází k infiltraci buněk do lymfatických uzlin. U myeloproliferativních onemocnění dochází k nekontrolovatelnému růstu jedné z krvetvorných řad. Nejobvyklejší je tento jev u buněk granulocytární řady (chronická granulocytární leukémie).

- Eitelové nádory

Eitelové nádory obsahují nádorově nezměněné vazivo (stroma) protkané cévami, které zajišťují výživu nádorového epitelu.

- a) Nádory z povrchového epitelu

Nádory z povrchového epitelu jsou schopné růst různými způsoby. Jejich růst může být exofytický, tzn. nad úroveň okolního povrchu. Mohou růst ale i endofyticky, tzn. zanořují se pod úroveň okolního povrchu. Anebo může dojít ke kombinaci exofytického a endofytického růstu.

Benigní nádory z povrchového epitelu

Růst benigních nádorů z povrchového epitelu je obvykle exofytický. Vyskytují se nejčastěji na kůži, sliznicích a ve větších vývodech žláz. Tvarově jsou papilomy bradavčité, květákovité až keřovitě rozvětvené.

Maligní nádory z povrchového epitelu

Maligní nádory z povrchového epitelu nazýváme papilokarcinomy. Vyskytují se především ve vývodech mléčné žlázy a v močových cestách. Malignitina je celkem nízká. Růst nádorů je obvykle exofytický nebo endofytický.

b) Nádory ze žláзовého epitelu

Nádory ze žláзовého epitelu nalezneme jak ve větších žlázách, tak v menších žlázkách ve sliznicích a v kůži.

Benigní nádory ze žláзовého epitelu

Benigní nádory ze žláзовého epitelu nazýváme adenomy. Jejich růst je exofytický (adenomatózní polypy, nádorové polypy). Ve větších žlázách je rozeznáme jako ohraničené uzly nebo dutiny, které mohou být opouzdřené (vazivem) a naplněné tekutinou. Adenomy jsou obvykle označovány jako prekancerózy, tzn. že může vzniknout karcinom z adenomatózní polypózy tlustého střeva. Tento typ onemocnění se charakterizuje velkým výskytem adenomů v trávicím traktu.

Maligní nádory ze žláзовého epitelu

Maligní nádory ze žláзовého epitelu se označují jako karcinomy (adenokarcinomy). Adenokarcinomy jsou ve větších žlázách rozpoznatelné jako neostře ohraničené uzly nebo dutiny větších rozměrů. Jejich růst může být exofytický (na sliznicích dutých orgánů) a zároveň endofytický (prorůstá do hlubších vrstev), nebo jen endofytický. Často dochází k perforacím a ke zvrhodatění spojené s krvácením. Zvláštním typem maligního nádoru zeb žláзовého epitelu je Karinou. Jedná se o nádor odpovídající endokrinním buňkám ve sliznicích. Jeho růst je invazivní, ale metastazuje jen vzácně. Vyskytuje se většinou v trávicím traktu a plicích. Všude je označován jako maligní nádor, s výjimkou apendixu.

- Neuroektodermové nádory

Neuroektodermové nádory se tvoří ze společného embryonálního základu pro nervovou soustavu a jí vývojově příbuzné pigmentové buňky.

a) Nádory centrálního nervového systému (Nádory CNS)

Nádory centrálního nervového systému a jeho obalů způsobují různé typy poruch v činnosti nervové soustavy. Typ poruchy závisí na lokalizaci a růstu daného nádoru. Tím, jak nádor roste, tak tlačí na okolní orgány a může způsobovat otoky. Pokud nádor roste

agresivně a ještě se snaží infiltrovat do okolní tkáně, může nervovou tkáň poškozovat přímo. Tento typ nádorů je benigní nebo místně maligní, k metastazování dochází jen vzácně.

Jedním typem nádorů CNS je meningiom. Jedná se o benigní nádor mozkomíšních obalů. Dalším typem nádorů CNS je meduloblastom. Meduloblastom je maligní nádor, který vzniká napodobováním nezralých buněk CNS v průběhu embryonálního vývoje. Postihuje děti. Vyskytuje se poměrně vzácně. Jiným typem jsou gliomy. Gliom je nádor z gliových buněk CNS. Během invazivního růstu tvoří neostře ohraničená ložiska. Jeho maligní forma se nazývá glioblastom.

b) Nádory periferního nervového systému

Nádory periferního nervového systému vznikají na hlavových a míšních nervech nebo v orgánech vývojově odvozených z vegetativních ganglií. Postižené oblasti způsobují poruchy hybnosti, prokrvení a další problémy spojené s tlakem na CNS.

Neurinom je benigní nádor tvořen buňkami Schwannovy pochvy v periferních nervech. Jeho růst je sice pomalý, ale může způsobovat nejrůznější poruchy související s poruchami sluchu nebo závratěmi. Neurofibrom je také benigní nádor. Oproti neurinomu, je u neurofibromu přítomná navíc i vazivová složka. Z velkého množství neurofibrinomů na kůži a v nervovém systému může vzniknout neurofibromatóza. Neurofibromatóza může přejít do maligní formy onemocnění nazývaní se neurogenní sarkom. Dalším vysoce maligním nádorem je neuroblastom, který vzniká z vývojově nezralých neuronů.

c) Nádory z pigmentových buněk

Nádory z pigmentových buněk se nejčastěji tvoří v kůži a ve sliznicích např.: úst, zevních rodidel, očí atd. Tento typ nádorů je ve většině případů zbarven do hněda díky přítomnosti barviva melaninu. I v tomto případě mohou být nádory jak benigní, tak i maligní.

Jako benigní nádor můžeme označit různé pigmentové névy (mateřská znaménka). Jejich nebezpečí je v tom, že se mohou proměnit v maligní nádor. Maligní melanom (melanoblastom) je tedy pigmentovaný maligní nádor, který obvykle vzniká přeměnou pigmentové névy. Pigmentová néva změní svůj tvar, velikost, barvu, ostrost ohraničení, člověk může pociťovat bolest a svědění, často také krvácí. U toho typu nádorového onemocnění je velice důležitá prevence.

- Smíšené nádory

Smíšené nádory jsou takové nádory, které jsou tvořené alespoň dvěma nezměněnými tkáněmi. Např. karcinosarkom (je vytvořený ze tkáně karcinomové a sarkomové).

- Germinální nádory

Germinální nádory vznikají z buněk a tkání vyskytující se při vzniku a vývoji jedince. Např.: nezralé pohlavní buňky, nezralé tkáně embrya, ale i zralé tkáně dospělého jedince. Nejčastěji dochází k jejich růstu ve vaječnicích a varlatech.

Nádory vytvořené jen nezralými pohlavními buňkami se vyskytují především u dospělých mužů ve středním věku jako seminomy. Seminom je zhoubný nádor varlete, při kterém dojde ke vrůstání nádoru do obalů varlete, poté k šíření do nadvarlete a metastazování. U žen se tento typ nádoru nazývá dysgerminom, vyskytuje se ve vaječnicích a je velmi vzácný.

Druhým typem terminálních nádorů jsou teratomy. Zralý teratom je nádor ze zralých tkání dospělého typu. Teratomy jsou tvořeny různými tkáněmi kromě nezralých pohlavních buněk. Často se vyskytují ve vaječnicích dospělých žen, kde jsou benigní. Tento typ teratomů tvoří dutiny, jejichž mikroskopické uspořádání odpovídá vyvinutým orgánům. V dutině může nalézt např.: štítnou žlázu, střevo nebo i ústní sliznici se zuby. Ostatní teratomy obsahují nezralé tkáně. Tento typ teratomů může být i vysoce maligní, a to především u málo diferencovaných nádorů a u nádorů odpovídajících nižším stádiím embryonálního vývoje. Pokud dojde ke spojení tkání vysoce maligních terminálních nádorů s tkáněmi seminomu nebo zralějších teratomů, vzniká tzv. smíšeně maligní germinální nádor. Všechny typy maligních germinálních nádorů se tvoří převážně v nižším věku.

- Choriokarcinom (chorionepiteliom)

Choriokarcinom je velmi vzácný nádor. Vykazuje vysokou malignitu. Tento nádor odpovídá trofoblastu. Trofoblast je epiteliální tkáň, která pokrývá placentu. Trofoblast zajišťuje samotný vývoj placenty, výživu embrya a nidaci plodu do děložní sliznice. Nejčastěji

se tedy choriokarcinom vyskytuje v děloze, vzácně u žen i u mužů v pohlavních žlázách i jinde jako zvláštní typ teratomu (nádor složený z různých tkání, které v daném místě normálně nebývají).

- Mezioteliom

Mezioteliom je nádor, který se tvoří z výstelky tělních dutin. Vyskytují se v pleurální dutině, perikardu a v peritoneu. Mezioteliomy jsou vzácné typy nádorů. Např. difúzní maligní mezioteliom pohrudnice nebo pobřišnice vypadá jako, když dojde ke ztluštění blan vystylajících tělní dutiny, jejich vzájemnému srůstu a následnému zmizení dutiny. Tento nádor potom prorůstá do vnitřních orgánů a do tělní stěny. (Stříteský 2001)

2. Cíle práce

- Porozumění nádorové imunologii.
- Přehled imunologických supresorů, jejich užití a mechanismus působení.
- „Rebound efekt“ u imunosupresorů a možnost jeho využití v imunoterapii.
- Otázka zdánlivě kontraintuitivního užití imunosupresiv v nádorové terapii, zjištění možnosti použít „Rebound efekt“ vznikající po vysazení imunosupresiv pro nádorovou terapii.

3. Nádorová imunologie

3.1. Činitelé protinádorové imunity

3.1.1. T-lymfocyty

T-lymfocyty jsou základní buňky lymfatické tkáně, lymfy a krve. Jsou zodpovědné za specifickou buněčnou imunitu a schopné účinně regulovat imunitní systém. Tyto buňky vznikají v kostní dřeni z pluripotentní hematopoetické kmenové buňky. Poté migrují do brzlíku, ve kterém dozrávají a získávají imunokompetenci (typické morfologické a funkční vlastnosti). Na cytoplazmatické membráně T-lymfocytů je T-buněčný receptor (TCR), který je schopen rozpoznat cizorodé molekuly v komplexu s hlavním histokompatibilním komplexem.

Na povrchu všech T-buněk jsou různé diferenciatní znaky. Na základě těchto diferenciatních znaků jsme schopni rozlišit dva základní druhy T-lymfocytů, s to TH (pomocné) lymfocyty a TC (cytotoxické) lymfocyty. TH lymfocyty mají kromě CD2 a CD3 ještě CD4 znak, naopak TC lymfocyty charakterizuje CD8 povrchový antigen. (Ferenčík et al. 2002).

Pomocné T-lymfocyty nemají cytotoxickou funkci. Hlavní funkcí je pomoc B-lymfocytům při rozpoznávání většiny antigenů a jejich protilátkové odpovědi produkcí cytokinů. K aktivaci potřebují zprostředkovatele v podobě antigen prezentujících buněk (APC). Nejdůležitější antigen prezentující buňky jsou dendritické buňky. Antigen prezentující buňky exprimují antigeny v komplexu s MHC II, a tím pomáhají pomocné T-lymfocyty aktivovat.

Cytotoxické T-lymfocyty umí rozpoznávat nádorové buňky, které exprimují antigeny v komplexu s MHC I. K dalším jejich vlastnostem patří např. zničení buněk infikovaných virem nebo buněk s nevlastními histokompatibilními antigeny na jejich povrchu. Tato jejich specifická protinádorová reakce je způsobena fagocytováním vlastních nádorových buněk (nebo jejich antigenů) antigen prezentujícími buňkami a jejich následným exprimováním na povrch s MHC I. (Říhová 2007)

3.1.2. NK buňky

NK buňky (neboli Natural killer cells) jsou velké granulární lymfocyty (LGLs), z nichž většina má na svém povrchu CD56, CD57 a CD16 antigen. Naopak nemají TCR receptor a membránové Ig receptory. NK buňky jsou složkami vrozeného imunitního systému. Aktivované NK buňky se nazývají LAK buňky. (Brittenden et al. 1996)

K hlavním funkcím NK buněk se řadí cytotoxicita zprostředkovaná perforinem, produkce cytokinů (především IFN- γ , IL-5 a IL-13) a indukce kostimulačních molekul. Účastní se antivirové a protinádorové odpovědi (LaRosa et al. 2008). NK buňky mohou zprostředkovávat cytólýzu, aniž by musel být přítomen hlavní histokompatibilní komplex (MHC I a MHC II). In vitro mohou lyzovat alogenní nádorové buněčné linie a virem infikované buňky bez předchozí senzibilizace (Brittenden et al. 1996). Jsou schopné zabíjet nezralé buňky ve fetální kostní dřeni a v brzlíku (Hansson et al. 1981). NK buňky, které byly kultivovány s interferonem (IFN) nebo IL-2 mohou štěpit lidské monocyty (Einhorn et al. 1985).

NK buňky používají při rozpoznávání buněk, které mají napadnout, dva typy receptorů. Inhibiční receptory rozpoznávají MHC I antigeny. Pokud se na povrchu napadené buňky objevuje MHC I, buňka nebude likvidována. K lýze napadené buňky dochází jen když napadená buňka na svém povrchu nemá MHC I nebo je zde MHC I jen ve velmi malém množství. Druhým typem jsou aktivační receptory, které naopak cytotoxicitu aktivují. (Ferenčík et al. 2005)

NK buňky mají ve svých granulech dva typy cytotoxických látek, perforiny a granzimy. Perforin je protein, který je schopný vytvořit v cytoplazmatické membráně buňky póry. Těmito póry vstupují granzimy do napadené buňky a vyvolávají zde apoptózu. (Ferenčík et al. 2005)

Dvě hlavní podskupiny NK buněk se vyznačují nízkou nebo vysokou expresí CD56 (CD56bright a CD56dim). CD56dim tvoří většinu NK buněk a vynikají v cytotoxicitě. CD56bright jsou málo účinné v cytotoxicitě, ale jsou velmi aktivní v tvorbě cytokinů. (LaRosa et al. 2008)

Stimulaci jejich aktivity zajišťují některé cytokiny. Aktivita NK buněk je v periferní krvi

vyšší než v lymfatických uzlinách a uvnitř nádorů. Tato skutečnost je dána přítomností některých supresorických faktorů. Přirozená cytotoxicita se u pacientů s různými typy rakoviny liší. Nicméně je ale možné, že trend přirozené cytotoxicity může být snížen např. chirurgickým zákrokem, hormonální modulací organismu, radioterapií nebo chemoterapií.

(Brittenden et al. 1996)

3.1.3. NC buňky

NC buňky se správně nazývají Natural cytotoxic cell. Na svém povrchu mají $\alpha\beta$ nebo $\gamma\delta$ receptory. Tyto receptory mají schopnost nespecificky rozpoznávat a zabíjet nádorové buňky. (Lattime et al. 1982) NC buňky se převážně vyskytují ve slezině a v kostní dřeni, kde jsou přítomny od narození. Jsou odolné vůči protilátkám a jiné doplňkové léčbě. Tyto buňky jsou fenotypově heterogenní, proto se předpokládá, že přirozená cytotoxicita je vlastnost buněk pocházejících z různých linií krvetvorných buněk nacházejících se v jednotlivých fázích diference. (Brien et al. 1994)

3.1.4. NKT buňky

NKT buňky (Natural killer T cell) jsou podskupinu T buněk, které sdílejí vlastnosti obou T- buněk a NK buněk dohromady. Na svém povrchu nesou receptory shodné s NK buňkami a zároveň s TCR. Představují přechod mezi humorální a buněčnou imunitou. Po aktivaci jsou schopné rychle produkovat a uvolňovat IFN_γ , TNF_α , IL-2, IL-4, GM-CSF a mnoho jiných cytokinů. (Niemeyer et al. 2007). Tímto způsobem jsou schopny ovlivňovat imunitní odpověď na různé patogenní procesy. Paradoxní je, že aktivace NKT buněk může vést buď k potlačení, nebo ke stimulaci imunitní odpovědi. Většina z těchto buněk rozpoznává non-polymorfni CD1d molekulu. CD1d molekula je antigen-prezentující molekula, která váže vlastní a cizí lipidy a glykolipidy. NKT buňky jsou podmnožina T buněk, které společně vyjadřují $\alpha\beta$ T buněčný receptor (TCR), ale také řadu jiných molekulárních markerů, které jsou obvykle

spojeny jen s NK buňkami (např. NK1.1.). Nedostatek nebo nefunkčnost NKT buněk v organismu vede k rozvoji autoimunitních onemocnění a rakoviny. (Kronenberg et al. 2005)

3.1.5. Makrofágy

Makrofágy jsou součástí mononukleárního fagocytárního systému. Jsou důležitou částí přirozené buňkami zprostředkované imunity. Vznikají především po usazení monocytů v tkáních. V organismu se vyskytují ve třech stádiích vývoje: klidové, předaktivované a aktivované. Makrofágy se mohou aktivovat cytokiny nebo některými mikroorganismy. Aby byly cytotoxické pro nádorové buňky, tak se musí aktivovat MAF (makrofágy aktivující faktor) a IFN_γ . V jejich aktivované formě jsou plně funkční a mohou tak bránit organismus mimo jiné i před nádorovými buňkami. Makrofágy také nejsou závislé na MHC molekulách. Na svém povrchu mají Fc receptor, díky kterému jsou schopné se navázat na protilátky na nádorových buňkách. Tím, že se protilátka na nádorové buňce naváže na makrofág, může dojít k ADCC (antibody dependent cellular cytotoxicity) reakci. (Shih et al. 2006) ADCC reakce je vyvolána schopností některých buněk lyzovat nebo cytotoxicky působit na buňky označené protilátkou (Ferenčík et al. 2002).

3.2. Cytokiny, TH1/TH2 rovnováha

Cytokiny jsou základní regulátory imunitního systému. Mohou být klasifikovány jako látky bílkovinné povahy (peptidy, glykopeptidy). Uplatňují se v imunitním systému, množení buněk, aktivaci buněk, diferenciaci buněk, v regulaci buněčného růstu atd. Jsou produkovány buňkami imunitního systému (leukocyty a jinými buňkami). Cytokiny mají dvě formy: sekretovanou (pomocí specifických receptorů působí na buňky imunitního systému i mimo něj) a membránovou (zasazené v cytoplazmatické membráně, zajišťují lokální působení daného cytokinu, nedochází k jejich zředování). Cytokiny působí většinou na několik různých buněk, zároveň mohou být nahrazeny jinými cytokiny, nebo mohou působit společně. Často

jeden cytokin zahajuje tvorbu druhého cytokinu a takto kaskádovitě pokračují. Ve většině případů mají cytokiny receptory složené ze dvou nebo dokonce i ze tří podjednotek. Jedna podjednotka je zodpovědná za specifickou vazbu cytokinu, druhá (příp. třetí) za spojení se signalizačními intracelulárními molekulami. Cytokiny lze klasifikovat do několika podskupin: interleukiny, chemokiny, interferony, transformující růstové faktory, faktory stimulující kolonie, faktory nekrotizující nádory a jiné růstové faktory. (Hořejší et al. 2005)

V nádorové imunologii hrají cytokiny velmi důležitou roli. Pokud organismus zasáhne nějaký patogen, poruší se Th1/Th2 rovnováha. V případě zánětlivého onemocnění převažuje Th1 odpověď (vyšší produkce Th1 cytokinů), zatímco při nádorovém onemocnění se posouvá rovnováha k Th2 buněčné odpovědi. Cytokiny, které jsou v průběhu této reakce produkovány, nepůsobí jen lokálně, ale i systémově. Cílem léčby je nastolit rovnováhu mezi produkcí Th1 a Th2 cytokinů. (Shurin et al. 1999) TGF- β , IL-4, IL-6 a IL-10 jsou cytokiny, které v organismu navozují stav tolerance nádorů (Pawelec et al. 1999). Tyto cytokiny produkují nádorové buňky, ale i buňky imunitního systému, které infiltrují a obklopují nádorovou tkáň. Th1 lymfocyty produkují ještě IFN- γ , TNF, IL-2. Th2 lymfocyty navíc produkují IL-4, IL-5, IL-6, IL-10. Produkce těchto cytokinů je velmi úzce propojena se stavem a stupněm malignity v organismu (Onishi et al. 1999).

3.3. Rozpoznání nádorových buněk imunitním systémem

K tomu, aby byla rakovinná buňka vůbec rozpoznána imunitním systémem, je potřeba přítomnosti nádorově specifických antigenů na jejím povrchu. Tyto antigeny byly identifikovány a rozděleny do dvou kategorií. Antigeny specifické pro nádory (TSA), ty se vyskytují jen na nádorových buňkách a antigeny asociované s nádory (TAA), které nalezneme i na normálních buňkách, ale jen za podmínek, které indukují stav imunologické tolerance. (Eriksson 2008). Mezi antigeny specifické pro nádory řadíme např.: komplexy MHC I s abnormálními fragmenty buněčných proteinů (chemicky indukované nádory, některé leukemie), komplexy MHC s fragmenty proteinů onkogenních virů, abnormální formy glykoproteinů a idiotopy myelomů a lymfomů (Hořejší et al. 2005). Do skupiny antigenů asociovaných s nádory patří např.: onkofetální antigeny (v normálních fetálních buňkách)

(Hořejší et al. 2005), některé melanomové antigeny (Melan-A), HER2/Neu (receptor růstového faktoru epiteliálních buněk), PSA (prostatický specifický antigen) (Eriksson 2008).

3.4. Obrana nádorů před imunitní odpovědí

Mechanismů, kterými se mohou nádorové buňky bránit imunitní reakci, je několik. Různé typy nádorových buněk se liší způsoby úniku nádoru imunitnímu systému.

- variabilita nádorových buněk (některé mutantní formy mohou neexprimovat nádorové antigeny)
- nízká hustota exprese nádorových antigenů
- zamaskování některých epitopů nádorových antigenů
- nádorové buňky nefungují jako profesionální buňky předkládající antigen (APC) (na povrchu nádorových buněk se nevyskytují kostimulační molekuly)
- některé z protinádorových protilátek mohou mít stimulační účinek na růst nádoru
- produkce faktorů inaktivujících T-lymfocyty nebo jiných blokuujících faktorů (IL-10, TGF- β)
- exprimování FasL (indukce apoptózy v protinádorových T-lymfocytech)
- produkce faktorů inhibujících funkci nebo životnost dendritických buněk (NO, IL-10, TGF- β , vaskulární endoteliální růstový faktor)
- aktivita regulačních T-lymfocytů (ochrana nádorů před autoimunitními mechanismy)

(Hořejší et al. 2005)

3.5. Léčba rakoviny pomocí rebound efektu

3.5.1. Co je rebound effect?

Obecně je rebound effect stav, ke kterému dojde po přerušení léčby nebo v období, kdy již není dané léčivo efektivní. Tento vysazený lék způsobí návrat příznaků, které byly léčeny. Někdy dojde dokonce i k projevu příznaků ve vyšší míře než před podáním daného léčiva, tzn. že příznak bude ještě výraznější po stažení léku, než před jeho podáním. Kvůli

hrozícímu rebound efektu, je potřeba u některých látek tyto léky vysazovat postupně, popřípadě podpořit jejich vysazení nějakým jiným lékem, který rebound efekt nevykazuje. (Webster's Online Dictionary 2010)

3.5.2. Možnost použití rebound efektu pro nádorovou terapii

Po vysazení imunosupresiv dochází často k rebound efektu, tzn. že imunosupresivem potlačovaná imunita po jeho vysazení prudce vzroste. Tento efekt je nežádoucí u autoimunit, ale v případě nádorové terapie by to mohlo přinést prolomení nádorové tolerance a likvidaci nádorů. V dalších částech se tedy zaměříme jak na imunosupresiva a jejich vlastnosti, tak projdeme dostupnou literaturu a budeme hledat důkazy protinádorového působení rebound efektu související s vysazením imunosupresiv.

4. Inhibitory

4.1. Obecná charakteristika

4.1.1. Použití

Imunosupresivní látky se používají při léčbě alergií, různých autoimunitních onemocnění a především při orgánových transplantacích (potřeba potlačení imunitní reakce proti transplantátu) (Ferenčík et al. 2004). Jedná se o chemicky velmi různorodé látky, které účinněji inhibují primární než sekundární fáze imunitní odpovědi. Hlavní důvodem, proč se používá imunosupresivní terapie je přerušení nežádoucí aktivace T a B lymfocytů. T a B lymfocyty jsou hlavní nositelé imunitní odpovědi na cizí antigeny. Naopak co nejméně by měly být potlačeny buňky zodpovědné za nespecifickou imunitní odpověď (polymorfonukleáry, makrofágy, NK buňky) (Suchý et al. 2004).

4.1.2. Mechanismus účinku

Problémem v jejich mechanismu účinku je to, že imunosupresivní látky působí nespecificky na imunitní systém. Zasahují do metabolismu nežádoucích autoreaktivních nebo aloreaktivních lymfocytů, ale navíc ještě postihují i normální lymfocyty a jiné důležité složky imunitního systému. Tato jejich nespecifičnost má za následek snížení funkce antiinfekční i protinádorové imunity (Ferenčík et al. 2004).

4.1.3. Rozdělení imunosupresivních látek dle mechanismu účinku

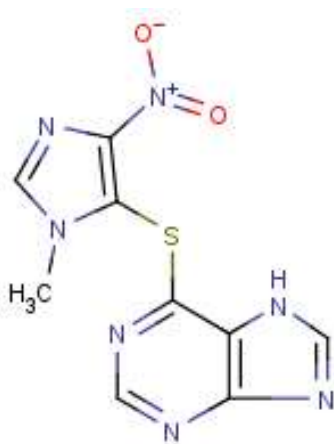
- Steroidní protizánětlivé látky – kortikosteroidy, glukokortikoidy (prednison, prednisolon aj.)
- Cytotoxické a antiproliferativní látky (azathioprin, metotrexát, cyklofosfamid, mykofenolát mofetil, leflunomid)
- Kalcineurinové blokátory a jiné inhibitory exprese IL-2 (cyklosporin A, takrolimus, sirolimus)
- Monoklonální a polyklonální protilátky proti složkám imunopatologické reakce
- Ostatní imunosupresiva (thalidomid)

(Suchý et al. 2004)

4.2. Přehled základních imunosupresorů

4.2.1. Azathioprin

Azathioprin je jedna z nejvíce používaných imunosupresivních látek vůbec. (Geiger et al. 2008) Jedná se o purinový analog, který inhibuje replikaci DNA (Han et al. 2009).



Obr. č. 1: Azathioprin (strukturní vzorec) (www.toxnet.nlm.nih.gov 2011)

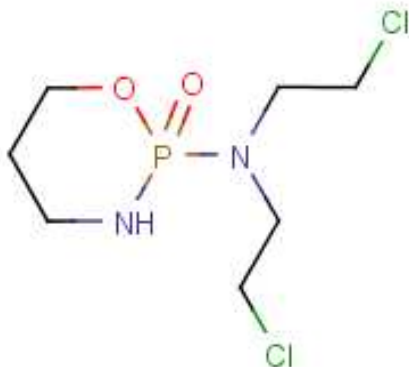
Mechanismus účinku: Nejdůležitější vlastností je schopnost ovlivnit funkci B lymfocytů a poté redukovat produkci γ globulinů a cytosinů (Suchý et al. 2004). U B lymfocytů snižuje jejich citlivost k T lymfocytům. Z tohoto důvodu dojde k omezení populace NK buněk. NK buňky mají sníženou aktivitu a cytotoxicitu závislou na protilátkách. (Redlichová et al. 2003) Metabolismus azathioprinu je zahájen v játrech jeho přeměněním na 6- mercaptopurin, který je následně převeden na 6- mercaptopurin ribonukleotid. 6- mercaptopurin ribonukleotid způsobuje zpětnou inhibici enzymů zahrnutých v syntéze nukleových kyselin. V proliferačním cyklu T a B lymfocytů zabraňuje tvorbě jejich efektorových buněk. Jedná se o silný inhibitor primární imunitní odpovědi. (Pathak et al. 2005) Azathioprin zasahuje do biosyntézy purinových drah. Výsledkem je deplece buněčných zásob purinů, které tlumí syntézu DNA a RNA. (Krejsek et al. 2004) Nejsilněji působí během S-fáze buněčného cyklu, inhibuje tvorbu nukleotidů adeninu a guaninu (Han et al. 2009).

Nežádoucí účinky: gastrointestinální toxicita, hepatotoxicita, alopecie, pankreatitida, lymfoproliferativní onemocnění, zvýšený výskyt infekce (Han et al. 2009), trombocytopenie, pneumonitida, suprese kostní dřeně, nauzea, zvracení (Suchý et al. 2004)

Použití: Dříve byl azathioprin často využíván v transplantologii, nyní je nahrazován mykofenolát mofetilem (Špinarová et al. 2000). I nadále je úspěšně používán při léčbě systémového lupusu, revmatoidní artritidy, vaskulitidy, trombocytopenie atd. (Suchý et al. 2004).

4.2.2. Cyklofosfamid

Cyklofosfamid je cytotoxická, alkylační látka, která se váže na DNA v průběhu buněčného cyklu (Han et al. 2009). Patří do skupiny oxazofosforinů (Halvová et al. 2010). Oxazofosforiny jsou alkylační látky vyrobené jako netoxické transportní formy alkylderivátu (Suchý et al. 2004).



Obr. č. 2: Cyklofosfamid (strukturní vzorec) (www.toxnet.nlm.nih.gov 2011)

Mechanismus účinku: Cyklofosfamid se váže na DNA a alkyluje ji v proliferujících i v neproliferujících buňkách. Utlumuje buněčnou i protilátkovou imunitu. Toxický je více k buňkám z B řady. (Suchý et al. 2004) Cyklofosfamid je aktivován jaterním systémem cytochromu P450 (Han et al. 2009). Cyklofosfamid je nejprve přeměněn v játrech na 4-hydroxycyklofosfamid (Suchý et al. 2009), který vstupuje do krve a je transportován

erythrocyty do nádorových buněk (Zhang et al. 1996). 4-hydroxycyklofosfamid je dále přeměněn na aldofosfamid. Aldofosfamid podstoupí nakonec hydroxylaci a vznikne tak konečný aktivní produkt fosfor-N-ypetit a vedlejší produkt akrolein (Suchý et al. 2009). Akrolein je pro organismus toxický, a proto musí být detoxikován konjugací s glutathionem (Zhang et al. 1996). Jde o fázově nespecifickou látku (Suchý et al. 2004).

Nežádoucí účinky: pancytopenie, hemoragická cystitida, akutní myelosuprese, slizniční vředy, alopecie, nefrotoxicita, kardiotoxicita, hepatotoxicita, intersticiální plicní fibróza, azoospermie (vzácně), hemoragické cystitidy (Han et al. 2009)

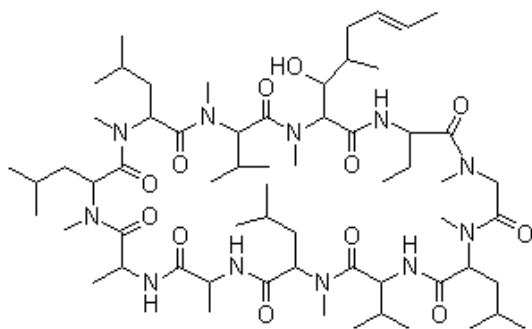
Použití: Ve vyšších dávkách se obvykle používá k supresi lymfoidní složky imunitního systému u pacientů, kteří podstoupí transplantaci kostní dřeně. V malých dávkách se podává pacientů s revmatickými chorobami, vaskulitidami nebo trombocytopenií. (Suchý et al. 2004) Jeho použití je také možné v hematologii u malignit a při léčbě lupus erytomatodes (Halvová et al. 2010).

Místo aktivace: játra (Suchý et al. 2004)

Cyklofosfamid je v našem budoucím pokusu prvním plánovaným supresorem, který chceme použít. Doufáme, že jeho vysazení by mohlo přinést rebound efekt, kterým by se nám poté podařilo vyléčit nádorové onemocnění v organismu.

4.2.3. Cyklosporin A

Cyklosporin A je cyklický peptid, který se získává izolováním z vláken houby *Tolypocladium inflatum* (Suchý et al. 2004). Nemá volnou karboxy ani amino skupiny, a proto je nerozpustný ve vodě, ale dobře se rozpouští v tucích (Halvová et al. 2010). Potlačuje T-proliferaci buněk tím, že tvoří komplex s cyklophilinem, který blokuje aktivace kalcineurinu (Han et al. 2009).



Obr. č. 3: Cyklosporin A (strukturní vzorec) (www.merck-chemicals.com 2011)

Mechanismus účinku: Cyklosporin A brání aktivaci T lymfocytů, tím inhibuje proliferaci T lymfocytů a blokuje transkripci IL-2 a dalších cytosinů v aktivovaných T lymfocytech. Po podání této látky dojde k inhibici antigen specifické klonální expanze T lymfocytů, snížení rejekčního potenciálu při alogenních transplantacích orgánů a kladné ovlivnění buňkami zprostředkovaných autoimunitních procesů. (Dostál et al. 2005) Cyklosporin A je metabolizován jaterním cytochromem P450. (Han et al. 2009) Navázáním cyklosporinu A na cyklofilín v cytoplazmě dojde k inhibici kalcineurinu a poté k inhibici transkripce genu pro IL2 a interferon γ (Mateička et al. 2004).

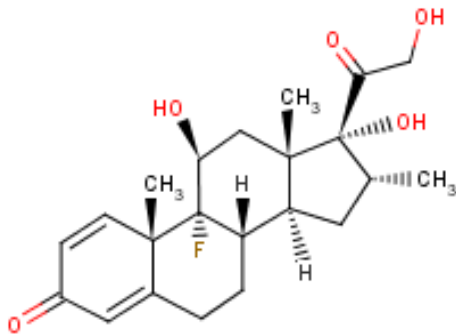
Nežádoucí účinky: abnormality elektrolytů (hyperkalcemie, hyperurikémie, hypomagnezémie), renální toxicita, třes, hirsutismus, hyperlipidemie, hypertenze, hyperplazie dásní (Han et al. 2009), častá hypertenze, nefrotoxicita (při vyšších dávkách), signifikantní zvýšení hladiny cholesterolu, poruchy metabolismu glukózy (Suchý et al. 2004)

Použití: Cyklosporin A se používá především v transplantační medicíně, při transplantacích srdce, jater nebo plic. Dále se může podávat při léčbě psoriázy, revmatoidní artritidy, polymyozitidy, nefritidy při systémovém lupusu (Fahr 1993).

Cyklosporin je nefrotoxický v závislosti na velikosti dávky. Může být zpočátku reverzibilní. Dlouhodobé užívání často vede k nevratným poškozením ledvin a k hypertenzi. (Han et al. 2004)

4.2.4. Dexamethason

Dexamethason zařazujeme do skupiny glukokortikoidů. Mezi jeho nejvýznamnější účinky patří protizánětlivost a imunosupresivita.



Obr. č. 4: Dexamethason (strukturní vzorec) (www.toxnet.nlm.nih.gov 2011)

Mechanismus účinku: Dexamethason se váže s vysokou afinitou na specifické receptory cytoplazmatických glukokortikoidů. Tento komplex se naváže na části DNA a dojde ke změně transkripce. Proteiny tedy podlehnou syntéze s cílem dosáhnout inhibice leukocytů infiltrovaných v místě zánětu, zasáhnout do funkce mediátorů zánětlivé reakce, potlačit humorální imunitní odpověď a snížit otok. (Drug Bank 2011)

Nežádoucí účinky: žaludeční nevolnost, podráždění žaludku, zvracení, bolest hlavy, závrať, nespavost, deprese, snadná tvorba modřin, náchylnost k infekcím (MedlinePlus 2011)

Použití: Dexamethason používáme k léčbě různých zánětlivých a autoimunitních onemocněních. Dexamethason zmírňuje zánět a jeho projevy jako je otok, teplota, zarudnutí a bolest. Používá se k léčbě některých forem artritidy, střevních potíží (např. kolitida), těžkých alergií, astmatu a některých typů rakoviny. (MedlinePlus 2011)

4.2.5. Infliximab

Infliximab je monoklonální protilátka proti TNF alfa (TNF α). Protože se jedná o kombinaci myší a lidské protilátky, je infliximab nazýván jako chimérická monoklonální protilátka. (Knight et al. 1993)

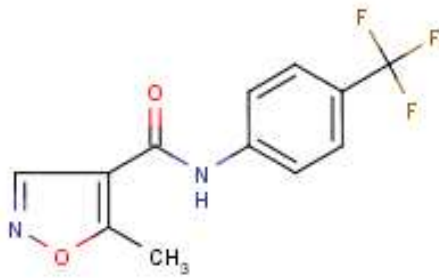
Mechanismus účinku: Předpokládá se, že infliximab blokuje působení TNF α tím způsobem, že brání TNF α se navázat na receptor v buňce. Tento děj způsobí apoptózu aktivovaných T lymfocytů, které exprimují TNF α receptor. TNF α je protein, který zprostředkovává zánět a buněčnou imunitní odpověď. (van den Brande et al. 2004)

Nežádoucí účinky: infekce horních cest dýchacích, bolesti hlavy, zánět vedlejších nosních dutin, vyrážka, kašel, leukopenie, neutropenie, trombocytopenie, pancytopenie (Remicade for Healthcare Professionals 2011)

Použití: Infliximab se používá k léčbě autoimunitních onemocněních, např.: lupénka, Crohnova choroba, ankylozující spondylitida, psoriatická artritida, revmatoidní artritida, ulcerózní kolitidy. (Suchý et al. 2004) Při léčbě revmatoidní aritidy se kombinuje infliximab společně s methotrexátem (Maini et al. 1999).

4.2.6. Leflunomide

Leflunomide je imunosupresivní látka zajišťující inhibici pyrimidinové syntézy (Pinto et al. 2006). V roce 1985 se zjistilo, že tento lék má protizánětlivý a imunomodulační účinek, který se ovšem značně odlišuje od běžných protizánětlivých nebo imunomodulačních léků (Gummert et al. 1999).



Obr. č. 6: Leflunomide (strukturní vzorec) (www.toxnet.nlm.nih.gov 2011)

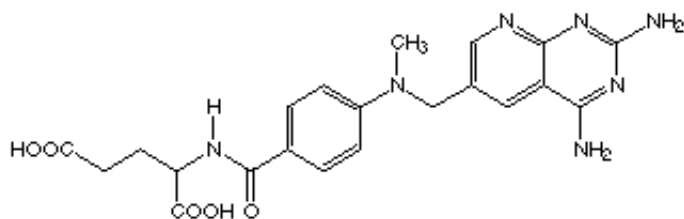
Mechanismus účinku: Leflunomid je syntetický derivát isoxazolu, který je metabolizován ve střevech a játrech na jeho hlavní metabolit malononitrolamid (A 77 1726). Biosyntézu pyrimidinových nukleotidů inhibuje blokováním enzymu dihydroorotát dehydrogenáza (DHODH). (Gummert et al. 1999) DHODH je hlavní enzym zajišťující syntézu uridinmonofosfátu, který je prekurzorem pyrimidinových nukleotidů v lymfocytech (Pavelka 2005). T buňky často využívají tohoto enzymu při syntéze DNA. Leflunomid je schopný potlačovat tumor nekrotizující faktor a IL-1. (Gummert et al. 1999)

Nežádoucí účinky: anémie, gastrointestinální symptomy, vyrážka, úbytek na váze, reverzibilní alopecie (Gummert et al. 1999)

Použití: U dospělých pacientů se využívá k léčbě středně těžké až těžké aktivní revmatoidní artritidy, psoriatické artritidy. Klinické a experimentální studie se pokouší prozkoumat použití leflunomid u těchto onemocnění: juvenilní idiopatická artritida, ankylozující spondylitida, Wegenerova granulomatóza, Crohnova nemoc a systémový lupus erythematoses. (Pavelka 2005)

4.2.7. Methotrexát

Methotrexát působí jako antagonist kyseliny listové (Halvová et al. 2010). Inhibuje dihydrofolátreduktázy nezbytné pro syntézu DNA (Han et al. 2009).



Obr. č. 7: Methotrexát (strukturní vzorec) (www.ped-onc.org 2011)

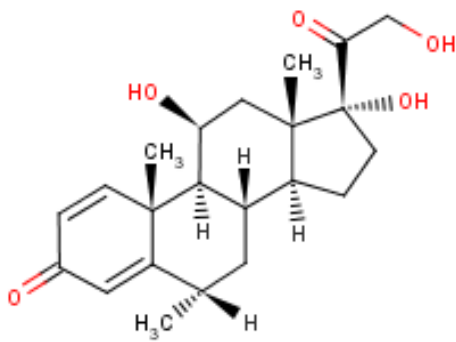
Mechanismus účinku: Methotrexát je antimetabolická látka, která potlačuje syntézu DNA a RNA během S-fáze buněčného cyklu. (Han et al. 2009) Toto imunosupresivum je schopné inhibovat syntézu purinů, podporovat ovlivňování adenosinu, inhibovat produkci protizánětlivých cytokinů, suprimovat proliferaci T lymfocytů, podporovat chemotaxický pohyb neutrofilů a snižovat sérové imunoglobuliny (Genestier et al. 1998). Metabolity methotrexátu kompetitivně inhibují enzym dihydrofolátreduktázu. Tato inhibice vede k nedostatku redukovaného folátu a tím pádem k následné inhibici proliferace buněk (Suchý et al. 2004).

Nežádoucí účinky: hepatotoxicita, suprese kostní dřeně, vředy, alopecie, intersticiální pneumonie a fibróza, nefrotoxicita (Han et al. 2009), nevolnost, vředy v ústech, snížení počtu krevních buněk v kostní dřeni (MedlinePlus 2011)

Použití: Methotrexát je jeden z nejvíce účinných léků používaných při léčbě těžké lupénky a jiných kožních onemocněních. Dále je možné ho použít u revmatoidní artritidy, psoriatické artritidy. (American Osteopathic College of Dermatology, 2011) Někdy se používá při léčbě některých typů rakoviny (rakovina prsu, rakovina plic, některé druhy rakoviny hlavy a krku, některé druhy lymfomů, leukémie) (MedlinePlus 2011).

4.2.8. Methylprednisolon

Methylovaným derivátem prednisolonu je methylprednisolon (Dostál et al. 2004). Hlavní schopností methotrexátu je inhibice protizánětlivých cytokinů (Han et al. 2009).



Obr. č. 8: Methylprednisolon (strukturní vzorec) (www.toxnet.nlm.nih.gov 2011)

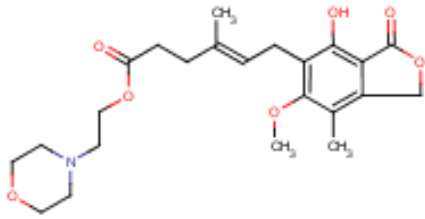
Mechanismus účinku: viz mechanismus účinku prednisolonu (kap. 4.2.5.)

Nežádoucí účinky: osteoporóza, vyšší náchylnost k infekcím, funkční nedostatečnost kůry nadledvin (Dostál et al. 2004), šedý zákal, Cushingův syndrom, hyperglykémie (Han et al. 2009)

Použití: Methylprednisolon je množné používat při léčbě systémových revmatických autoimunitních onemocněních, kam se řadí např. revmatoidní artritida, lupus erythematodes, systémová vaskulitida. Podává se při léčbě hematologických onemocněních typu trombocytopenie nebo hemolytické anemie. Dále také k léčbě roztroušené sklerózy, lymfatické leukemie, astmatu, alergické rinitidy atd. (Dostál et al. 2004)

4.2.9. Mykofenolát mofetil

Mykofenolát mofetil je imunosupresivní látka velice často používaná v transplantační medicíně, kde úspěšně nahradila azathioprin (Gummert et al. 1999). Inhibuje purinovou syntézu během replikace DNA (Han et al. 2009).



Obr. č. 9: Mykofenolát mofetil (strukturní vzorec) (www.toxnet.nlm.nih.gov 2011)

Mechanismus účinku: Mykofenolát mofetil je v játrech rychle přeměněn na aktivní kyselinu mykofenolovou. Cílem působení kyseliny mykofenolové je látka inosin monofosfát dehydrogenáza. Tento enzym je velmi důležitý při syntéze guanosinových nukleotidů, které jsou nepostradatelné pro syntézu DNA. (Halvová et al. 2010) Aktivovaná kyselina mykofenolová snižuje proliferaci T lymfocytů nekompetitivní inhibicí izomeru inosin monofosfát dehydrogenázy (Masri 2003).

Nežádoucí účinky: gastrointestinální obtíže, anémie, leukopenie, trombocytopenie, zvýšené riziko infekce (Han et al. 2009)

Použití: Mykofenolát mofetil se převážně používá v transplantační medicíně, kde úspěšně nahradil azathioprin. Účinný je i při léčbě těžkých forem lupus erytematózus. Dále se používá při léčbě vaskulitidy, (Halvová et al. 2010).

4.2.10. Natalizumab

Natalizumab zařazujeme do skupiny selektivních imunosupresivních látek. Jedná se o monoklonální protilátku, která byla poprvé identifikována v roce 1975 Kohlerem a Milsteinem. (Taláb 2007)

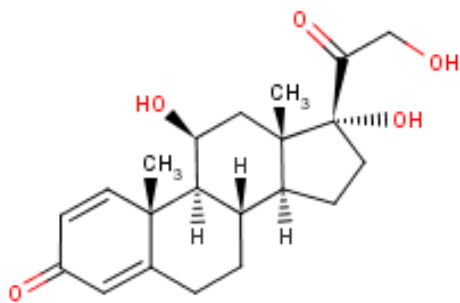
Mechanismus účinku: Natalizumab označujeme jako specifickou rekombinantní humanizovanou monoklonální protilátku proti α_4 -integrinům (Taláb 2007). α_4 -integriny se vyskytují na povrchu cirkulujících aktivovaných T buněk, monocytů a makrofágů. Jedním z jejich patogenních mechanismů je navádění již zmiňovaných buněk do centrální nervové soustavy. Hladiny VCAM-1 (adhezivní molekuly 1 vaskulárního endotelu) jsou v cévách ventrální nervové soustavy nízké, a proto je možné vniknutí aktivovaných T buněk bez přítomnosti zánětu. Natalizumab má schopnost zablokovat α_4 -integriny a jejich vazbu na vazebné receptory VCAM-1, a tímto způsobem redukuje buněčnou infiltraci. Je možné, že natalizumab navíc ještě blokuje odchod T buněk do nezasazených oblastí centrální nervové soustavy. Tato domněnka tak může vysvětlit, proč je natalizumab účinný v prevenci vzniku nových lézí u pacientů s roztroušenou sklerózou. (Ranshoff 2007)

Nežádoucí účinky: sekundární infekční onemocnění, únava, nauzea, hypersenzitivní kožní reakce (Taláb 2007), progresivní multifokální leukoencefalopatie (Stuve et al. 2007), někdy až anafylaktický šok (Philips et al. 2006), u 6% pacientů objevení protilátek proti natalizumabu (Krumbholz et al. 2007)

Použití: Natalizumab se od roku 2006 používá k monoterapii vysoce aktivní a rychle se rozvíjející relaps-remitentní formy roztroušené sklerózy. Dále se používá také při léčbě Crohnovy choroby. (Taláb 2007)

4.2.11. Prednisolon

Prednisolon je aktivní metabolit prednisonu, který řadíme do skupiny glukokortikoidů (Davis et al. 1978).



Obr. č. 10: Prednisolon (strukturní vzorec) (www.toxnet.nlm.nih.gov 2011)

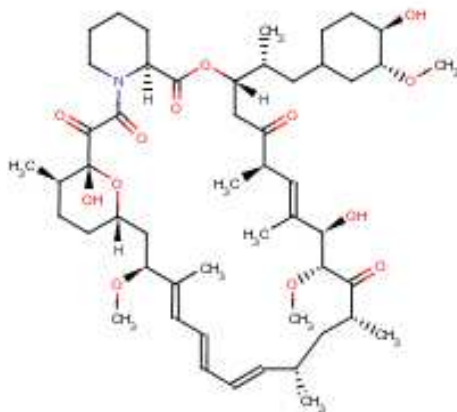
Mechanismus účinku: Prednisolon je schopný inhibovat infiltraci leukocytů v místě zánětu a potlačovat humorální imunitní odpověď. Prednisolon redukuje zánětlivé reakce tím, že omezuje kapilární dilatace a propustnost cévní struktury. (Drug Bank 2011) Toto imunosupresivum se nevratně váže s α a β receptory glukokortikoidů (GR). α a β receptory glukokortikoidů se vyskytují prakticky ve všech tkáních v organismu, a proto je možné biochemicky ovlivňovat většinu buněk v organismu. (Krejsek et al. 2004) α typ receptoru zprostředkovává klasické protizánětlivé aktivity glukokortikoidového receptoru. Zatím co β typ receptoru zajišťuje potlačení glukokortikoidové aktivity. (Dostál et al. 2004) Hlavním účinkem glukokortikoidů je tedy indukce tvorby lipokortinu. Lipokortin je látka, která inhibuje enzymatickou aktivitu fosfolypázy A2. Tato fosfolypáza urychluje přeměnu membránových fosfolipidů na kyselinu arachidonovou. Tímto způsobem je blokována tvorba prozánětlivých mediátorů (prostaglandiny, leukotrieny, tromboxany). (Krejsek et al. 2004)

Nežádoucí účinky: svalové křeče, bolesti svalů, žaludeční vředy, zadržování tekutin v obličeji, osteoporóza, zvýšená hladina cukru v krvi u diabetiků, hypertenze (Suchý et al. 2004)

Použití: Pomocí prednisolonu je možné léčit zánětlivá a různá autoimunitní onemocnění, jako je např.: astma, uveitida, pyodermie gangrenosum, revmatoidní artritida, ulcerózní kolitida, Crohnova choroba, roztroušená skleróza, vaskulitida (Czock et al. 2005), akutní lymfoblastickou leukémií, autoimunitní hepatitida, systémový lupus erythematoses atd. (Lambrou et al. 2009). Prednisolon se také používá v transplantační medicíně (Masri et al. 2003).

4.2.12. Sirolimus

Imunosupresivní účinky sirolimu byly objeveny až v roce 1991 na zvířecích modelech. Sirolimus byl izolován jako přirozený fermentační produkt aktinomycety *Streptomyces hygroscopicus*. (Girmann et al. 2002)



Obr. č. 11: Sirolimus (strukturní vzorec) (www.toxnet.nlm.nih.gov 2011)

Mechanismus účinku: Sirolimus je imunosupresivum působící v pozdější fázi imunitního procesu. Důležitou funkcí je schopnost blokáce proliferace lymfocytů, která je indikována IL-2. (Suchý et al. 2004) Molekula sirolimu se v cytoplasmě naváže na makrofilin. Působením komplexu sirolimus-makrofilin dochází k inhibici mTOR1 a mTOR2 (mammalian target of rapamycin) kináz. Následuje zpomalení až zastavení přechodu T buněk z G1 do S fáze buněčného cyklu. (Girman et al. 2002)

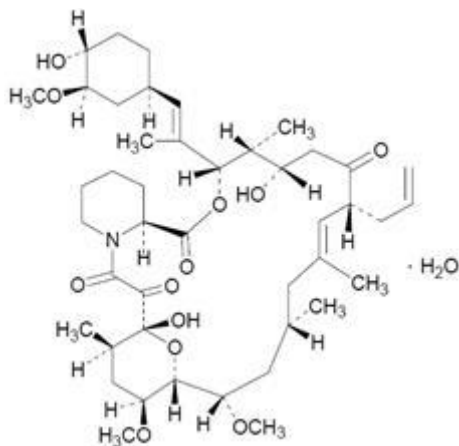
Nežádoucí účinky: nárůst sérového cholesterolu a triglyceridů, suprese všech tří krevních elementů, kožní vyrážky, zhoršení hojení ran, tvorba vředů v ústech, intersticiální pneumonie (Halvová et al. 2010)

Použití: V současné době se používá sirolimus v prevenci rejekce (nepřijetí transplantátu organismem) u dospělých pacientů s nízkým až středním imunologickým rizikem po transplantaci ledviny. Nicméně některé klinické i experimentální práce naznačují, že v budoucnosti bude možné využít sirolimus i v jiném odvětví medicíny. Např. jsou zde jisté úvahy použití sirolimu při autoimunitní artritidě (Warner et al. 1994). Jinou příznivou

vlastností sirolimu je jeho antiproliferativní účinek na maligní buňky některých nádorů, čehož by se dalo v budoucnosti velmi dobře využít (Hidalgo et al. 2000).

4.2.13. Tacrolimus

Tacrolimus je makrolidovým metabolitem aktinomycety *Streptomyces tsukubaensis*. (Gummert et al. 1999)



Obr. č. 12: Tacrolimus (strukturní vzorec) (www. dailymed.nlm.nih.gov 2011)

Mechanismus účinku: Tacrolimus působí jak na humorální tak i na buněčnou imunitu. Tacrolimus způsobuje inhibici kalcineurinu. Kalcineurin umožňuje translokaci řady transkripčních faktorů v jádře, které jsou nezbytné pro aktivaci T lymfocytů a pro produkci IL-2. (Saudek 2006)

Nežádoucí účinky: nefrotoxicita, neurotoxicita, průjem a gastrointestinální problémy, hypertenze, poruchy glycidového metabolismu (Saudek 2006)

Použití: Nejvíce se tacrolimus používá v transplantační medicíně např. ledvin a jater. Dále i při léčbě některých autoimunitních onemocněních jako je revmatoidní artritida, psoriáza a endogenní uveitida. (Saudek 2006)

5. Rebound efekt u imunosupresiv a rakovina

5. 1. Imunomodulace

Imunomodulace je proces, při kterém ovlivňujeme imunitní odpověď (Ferenčík 2004). Do imunitní odpovědi zasahujeme proto, že potřebujeme ovlivnit nedostatečné nebo nevhodné a někdy i škodlivé imunitní reakce organismu (Fučíková 1995). Imunomodulaci rozlišujeme podle jejího účelu působení na imunopotenciaci (imunostimulaci), imunosupresi, imunooptimalizaci a imunostatituci (Krejsek 2004).

Imunopotenciací jsme schopni nescificky zvýšit přirozenou nebo získanou imunitu a tím i její účinnost. Během toho procesu dochází ke zvýšení rychlosti a intenzity imunitní odpovědi na různé antigeny. (Ferenčík 2004) Imunopotenciace je obvykle vyvolána aktivací makrofágů, stimulací fagocytózy, stimulací fibroblastů a také zvýšením buněčné respirace a mobility leukocytů (Végh et al. 2008). Používáme hlavně při léčbě onemocnění způsobených infekčními agens nebo při léčbě spontánních nádorů (Ferenčík 2004).

Imunosuprese nám naopak umožňuje utlumit projev imunitní odpovědi vnějšími zásahy do organismu. Imunosupresi můžeme způsobit záměrně, pomocí imunosupresivních látek podávaných v průběhu imunosupresivní léčby, nebo náhodně a to např. ozáření ionizujícím zářením, působením některých léků, bakteriálních toxinů a celkově xenobiotik. Imunosupresi využíváme především při transplantacích a onemocněních s imunologickou patogenezi (Ferenčík 2004).

Imunooptimalizace je proces, během kterého modulujeme imunitní reaktivitu jedince, ve které se vyskytují poškozující prvky (Krejsek 2004).

Imunostatituce zajišťuje organismu nahrazení nedostatečně tvořených imunoglobulinů (Krejsek 2004).

V souvislosti s imunomodulací organismu může dojít k již zmiňovanému rebound efektu. Rebound efekt může nastat po vysazení imunosupresivních léků patřící např. do kortikosteroidů, glukokortikoidů, antimetabolitů atd.

5.2. Výskyt rebound efektu, nenádorová onemocnění

K velmi silnému rebound efektu dochází po vysazení imunosupresivních léčiv z řady glukokortikoidů u pacientů léčených na sepse. Glukokortikoidy nyní považujeme za jedny z nejdůležitějších imunosupresivních látek vůbec, protože tlumí zánětlivé reakce. Jejich pozitivní účinky jsou velice často doprovázeny i vážnými vedlejšími účinky (Krejsek et al. 2004).

Využíváme je jak při léčbě chronických zánětlivých onemocnění, tak i v transplantační medicíně (Bornstein et al. 2003). Glukokortikoidy se používají i při léčbě akutních zánětlivých onemocnění, jako je např. léčba sepse a septického šoku. Pokud se pro léčbu akutního zánětlivého onemocnění použije vysoká dávka kortikosteroidů, nedojde ke zvýšení počtu přeživších pacientů, ale může dokonce nastat i sekundární infekce (Sprung et al. 1984). A z tohoto důvodu se od této léčebné metody ustoupilo a zkusila se terapie pomocí nízké dávky kortikosteroidů, resp. hydrokortizonu.

Po podání nízké dávky došlo ke zlepšení hemodynamické stability (Buckingham et al. 1996), k inhibici systémového zánětu, zabránění protizánětlivé reakce (Meduri 1999) a byla zachována Th1 imunitní odpověď (Lefering et al. 1995). Většina imunosupresivních i hemodynamických účinků byla následována rebound efektem po vysazení hydrocortisonu (Keh et al. 2003).

Další látkou z řady glukokortikoidů způsobující rebound efekt je dexamethason. Bylo provedeno několik in vivo studií, které dokázaly, že dexamethason je schopný po ozáření mozku daného organismu snížit hladiny TNF α , IL-1 β a ICAM1 reakce akutní fáze na úrovni mRNA (Hong et al. 1995 in Yuan et al. 2005), při zápalu plic snížit ICAM1 a VCAM1 (Ito et al. 2003) a zabránit škodlivému působení LPS na mezenterické cévy (Mori et al. 1999).

V současnosti se dexamethason používá ve snaze omezit vedlejší zánětlivé účinky radioterapie. Tato studie ukázala, že dexamethason u ozářených zvířat skutečně snižuje přilnavost leukocytů na cévní stěny, a zároveň také výrazně snižuje výskyt ICAM1, E-selektinu a P-selektinu v ozářených mozkových cévách. Průzkum dokázal, že jeho mechanismus účinku redukce akutních zánětlivých onemocnění při radioterapii může zahrnovat modulaci adhezivních molekul. (Yuan et al. 2005) Rebound efekt byl zpozorován u ozářených zvířat léčených dexamethasonem (Hempfen et al. 2002). U těchto zvířat došlo

k potlačení zánětu ihned po podání dexamethasonu. Po několika dnech po vysazení léku došlo k druhé vlně imunitní odpovědi v podobě cytokinové exprese. V tomto případě nebyl rebound efekt žádoucí, a proto se mu snažili předejít podáváním postupně snižovaných dávek dexamethasonu v určitém časovém rozpisu (Weissman et al. 1991).

V druhém případě je možné použít dexamethason při léčbě srpkovité anemie. Hlavní úlohu ve vazo okluzi (ucpání cév srpkovitými červenými krvinkami) při srpkovité anémii má aktivování cévního endotelu. Dexamethason a protilátky blokující adhezivní molekuly byly aplikovány, aby potlačily aktivaci endoteliálních buněk a hypoxii vyvolanou vazo okluzí. (Belcher et al. 2005) Bylo prokázáno, že vysoká dávka podaného glukokortikoidu výrazně zkracuje dobu hospitalizace dětských pacientů trpících vazo okluzí a pacientů s mírným až středně těžkým akutním hrudním syndromem (vazo okluze plicních cév) (Bernini et al. 1998). Glukokortikoidy obecně jsou schopné zabránit zánětu, a jak již bylo zmíněno, aktivaci endotelových buněk díky interakci mezi receptorem na glukokortikoidech a subjednotkou NF- κ B (p65) (De Boscher et al. 2003). NF- κ B je transkripční faktor, který se váže na promotory RNA polymerázy II a ovlivňuje tak expresi genů podstatných např. v imunitní odpovědi na zánět (Cammack et al. 2006).

I v tomto případě došlo tři dny po vysazení dexamethasonu k rebound efektu. Rebound efekt se projevil zvýšením VCAM-1, ICAM-1 a vazo okluzí. Vazo okluze je vyvolaná rebound efektem při aktivaci endotelových buněk. Rebound efekt může být také způsoben po imunosupresi dexamethasonem tak, že dojde k přestřelení exprese adhezivních zánětlivých molekul. (Belcher et al. 2005) Při podávání dexamethasonu u pacientů trpících srpkovitou anémií se musí na průběh terapie důsledně dohlížet. Steroidy mohou ohrozit obranyschopnost hostitele (Griffin et al. 1994). Tyto údaje jen potvrdily to, že rebound efekt je vyvolán odskočením v aktivaci endoteliálních buněk a při cévním městnání po přerušení dávek glukokortikoidů (Belcher et al. 2005).

Kortikosteroidy se mohou použít i při léčbě onemocnění způsobené virem hepatitidy C (HCV). Chronická HCV infekce způsobuje mimo postižení jater i glomerulonefritidu (zánět ledvin, resp. glomerulů) a onemocnění polyarteritis nodosa (zánět malých a středně velkých tepen). Tato onemocnění představují poruchy imunitního systému zprostředkované protilátkami. K těmto protilátkám řadíme imunitní komplexy v kryoprecipitátech a v cévních stěnách (kde jsou HCV proteiny), virus specifické protilátky a revmatoidní faktor (Lunel

1994). Kortikoidy zmírňují projevy hepatity C a zvyšují hladiny plazmatické virémie (vstup viru do organismu) a zároveň snižuje hladiny jaterních enzymů. Po vysazení léku došlo k rebound efektu. Tento rebound efekt ukazuje, že buněčná imunitní odpověď zahrnuje poškození jaterních buněk při HCV infekci. (Rice et al. 1995)

Do skupiny kortikosteroidů se řadí i imunosupresivum prednison. Prednison byl podáván pacientům s lymfoproliferativním maligním onemocněním a s chronickou hepatitidou B. Prednison byl ve vysokých dávkách podán společně s jinými imunosupresivními léky (methotrexát, cyklofosfamid, dexamethason) při chemoterapeutické léčbě.

U pacientů došlo po vysazení léků k těžkému akutnímu poškození jater, které bylo ve čtyřech případech z pěti smrtelné. Tři z těchto pacientů byli léčeni chemoterapií obsahující kortikosteroidy. Pinto et al. se domnívali, že k poškození jater došlo kvůli cytolyze hepatocytů zasažených virem hepatitidy B, která byla způsobena podáním imunosupresivních léčiv a zvýšením virové replikace. Tato domněnka byla potvrzena (Pinto et al. 1990). Jak již bylo zmíněno, k prednisonu se přidaly ještě další imunosupresivní látky. Methotrexát může způsobovat jaterní cirhózu, ale není schopen akutního poškození jater kvůli tomu, že jeho dávka obsahovala velké množství transamináz. Dalším použitým imunosupresivem společně s prednisolem byl cyklofosfamid, který naopak může zapříčinit vážné rozsáhlé poškození jater. (Aubery 1970). Asi měsíc po vysazení prednisonu skutečně došlo k rebound efektu u ALT (alanin transamináza) a to tak, že hladina ALT byla vyšší než před podáním prednisonu (Sagnelli et al. 1980). Zároveň došlo ke snížení hladiny HBsAg (povrchový antigen viru hepatitidy B), HBV-DNA a snížení aktivity HBV-DNA polymerázy. Všechny tyto jevy jsou pravděpodobně následkem lýzy jaterních buněk (Pinto et al. 1990).

Aktivním metabolitem prednisonu je prednisolon. Prednisolon je glukokortikoid, ze kterého jeho methylováním (na šestém uhlíku z kruhu B) vznikne methylprednisolon. Methylprednisolon je syntetický glukokortikoid. V tomto případě byl methylprednisolon použit společně s interferonem β v rámci pulzní terapie (krátká a intenzivní farmakoterapie, podávaná obvykle v týdenních nebo měsíčních intervalech) při léčbě recidivující roztroušené sklerózy.

V průběhu léčby roztroušené sklerózy pacientka onemocněla akutní autoimunitní hepatitidou způsobenou virem Epstein a Baarové. Tato jaterní disfunkce není způsobena

jen samotnou roztroušenou sklerózou. U pacientů s roztroušenou sklerózou je většinou způsobena podáním určitých léků. (Takahashi et al. 2008) Byly zvažovány dvě příčiny onemocnění. V prvním případě bylo bráno v potaz podání interferonu β , protože tento interferon je úzce spojován s hepatotoxicitou. Duchini zjistil, že po vysazení interferonu β , který byl v průběhu terapie použit, dochází u pacientů často k rozvinutí autoimunitní hepatitidy (Duchini 2002). V druhém případě se zkoumal vliv methylprednisolonu.

Výsledkem bylo, že pouze v jednom případě po intravenózní methylprednisolonové pulzní terapii došlo k výskytu autoimunitní hepatitidy (Reuß et al. 2007). Reuß a kol. zvažovali možnost, že po vysazení imunosupresivní látky methylprednisolon může dojít k rebound efektu (Reuß et al. 2007). Takahashi a kol. došli k závěru, že příčinou autoimunitní hepatitidy u jejich pacienta byl skutečně rebound efekt, který nastal po vysazení glukokortikoidů při pulzní methylprednisolonové terapii. Rebound efektu se dá dle jejich teorie předejít tak, že pokud dojde k náznačce vývoje autoimunitní hepatitidy, má se okamžitě podat pacientovi léčivo obsahující kortikoidy nebo azathioprin. Možnost, jak předejít vzniku autoimunitní hepatitidy je tedy podání kortikoidů nebo azathioprinu těsně po vysazení pulzní methylprednisolonové terapie (Takahashi et al. 2008).

Methotrexat je imunosupresivum ze skupiny tzv. antimetabolitů (látky, které jsou schopné blokovat metabolismus buněk (Cammack et al. 2006)). Řadíme je k antifolátům, tzn. látkám schopných zhoršovat funkci kyseliny listové. Methotrexat působí inhibicí metabolismu kyseliny listové. V nízkých dávkách je používán k léčbě nejrůznějších chronických zánětlivých onemocnění, mimo jiné zahrnující i astma. Má i cytostatické účinky (schopnost tlumit rozmnožování a růst buněk). (Corrigan et al. 2003)

Při léčbě astmatu se obvykle využívá kortikosteroidní terapie. Marin ve své studii založené na statistické analýze většího počtu dat týkajících se léčby astmatu zjistil, že methotrexat umožňuje snížení dosavadní kortikosteroidní terapie bez jakéhokoliv zhoršení příznaků onemocnění plic a jejich funkcí (Marin 1997). Pouze v 60% případů je možné pacientům kortikosteroidní terapii vysadit úplně nebo její množství výrazně omezit. Kortikosteroidy mají schopnost inhibovat T buňky. Předpokládalo se, že při snížení dávky kortikosteroidů (v tomto případě prednisolonu) a přidání methotrexatu dojde ke zvýšení náchylnosti astmatiků k inhibici T buněk pomocí kortikosteroidů.

Pacienti byli ve věku 18-70 let, a po dobu nejméně jednoho roku užívali kromě

inhalačních kortikosteroidů ještě perorálně podávanou prednisolonovou terapii v minimální denní dávce 7,5 mg/den. Pacienti byli sledováni po dobu 12 týdnů. V tomto období užívali nejnižší dávku prednisolonu, aby se zabránilo rozvoji různých nežádoucích účinků prednisolonu a zhoršení funkce plic. Potom, co byli pacienti čtyři týdny bez zhoršení astmatu, podával se jim muskulárně ještě methotrexat v dávce 15mg/týden po dobu 12 týdnů. Methotrexatová terapie pokračovala 16 týdnů, kdy perorální dávka prednisolonu byla snížena na minimum. Následovalo vysazení methotrexatu a 12-ti týdenní pozorování pacientů za stálého podávání prednisolonu.

Měřila se citlivost T buněk v periferní krvi. Studie vedla k závěru, že terapie obsahující kortikosteroidy společně s methotrexatem zvyšuje citlivost T buněk v periferní krvi k inhibici látkami z řad kortikosteroidů. Pro každou koncentraci kortikosteroidu bylo typické kolísání náchylnosti k inhibici. Od 1. do 28. týdne docházelo ke zvyšování schopnosti inhibice. Po dosažení 40. týdne došlo k rebound efektu po vysazení methotrexatu. Skutečně se tedy přišlo na to, že methotrexat zvyšuje citlivost T buněk v periferní krvi po prednisolonové inhibici. Výsledkem této studie je, že je možné používat methotrexat s nižší dávkou kortikosteroidů při léčbě těžkých astmatiků aniž by došlo ke zhoršení průběhu onemocnění. (Corrigan et al. 2003)

Methotrexat se používá společně s infliximabem k léčbě lupénky (psoriázy). Lupénka je chronické, autoimunitní, kožní onemocnění. Při tomto onemocnění dochází k aktivaci a migraci T lymfocytů do bazálních vrstev kůže. Zde dochází k uvolňování cytokinů, vytvoří se kožní zánět, kožní buňky se zmnoží, rychleji rostou (až 7x rychleji) a nedokonale rohovějí. (Lowe et al. 2007).

Infliximab je chimerická monoklonální protilátka, mající také imunosupresivní účinek. Infliximab se váže a blokuje TNF α , tzn. že organismus není schopný ubránit se např. vzniku nádoru, replikaci viru, zánětu nebo apoptóze. Hlavním problémem při podávání infliximabu je možnost reakce na tuto infuzi, která může být okamžitá nebo opožděná, ale obvykle není anafylaktická (tzn., není zprostředkována IgE). Výskyt těchto reakcí úzce souvisí s imunogenicitou této monoklonální protilátky, což vede k produkci protilátky anti-infliximab. Bezpečnost a účinnost infliximabu byla prokázána při léčbě řady onemocnění, např.: Crohnova choroba, revmatoidní artritida, pyoderma gangrenosum a středně těžká až

těžká lupénka

Celkem bylo testováno 43 pacientů. Pěti pacientům byly podány dvě léčebné kúry za sebou. U devíti pacientů (20,9 %) byla zaznamenána reakce na tuto infuzi. Pouze jeden z těchto devíti pacientů užíval infuzi obsahující infliximab společně s methotrexatem. U dvou z těchto pacientů došlo k rozvoji závažné akutní infuzní reakce, které předcházela ztráta imunitní odpovědi. I v tomto případě tedy došlo k rebound efektu, a to tak, že se po vysazení infliximabu prudce zvedla vlna imunitní odpovědi. U pěti z devíti pacientů byla akutní infuzní reakce opravdu závažná a musela být léčba vysazena. U jednoho pacienta se rozvinula artritida v kotníku, s tím, že její nástup souvisel s rebound efektem, a to tak, že byl imunitní systém organismu natolik oslaben, že pacient onemocněl artritidou, které se ale následně dovedl bránit obnovením imunitní odpovědi. Ačkoli v předchozích klinických studiích léčby lupénky nebylo posuzováno použití infliximabu společně s jinými imunosupresivy, existují důkazy, že kombinovaná léčba infliximabu s 6-merkaptopurinem, azathioprinem, methotrexatem nebo s některým z kortikosteroidů, snižuje tvorbu protilátek proti infliximabu. (Puig et al. 2009)

Další monoklonální protilátkou mající imunosupresivní účinky je natalizumab. V tomto případě se natalizumab běžně používá při léčbě roztroušené sklerózy. Skupina pacientů byla vyšetřena pomocí magnetické rezonance (MRI). Byly porovnány MRI skeny pacientů před podáním terapie obsahující natalizumab a přibližně po roce od poslední infuze. Ukázalo se, že se zvýšil počet lézí až trojnásobně oproti výchozím. I v tomto případě došlo po vysazení imunosupresivní látky k rebound efektu. Rebound efekt byl nejvíce zřetelný u pacientů, kterým byla infuze s natalizumabem podávána dvakrát do měsíce. U těchto pacientů se po vysazení terapie objevil až pětkrát vyšší počet lézí. V roce 2005 se u třech pacientů po vysazení natalizumabu rozvinula progresivní multifokální luekoencefalopatie (PML). PML je virové onemocnění mozku, které se vyznačuje progresivním poškozením nebo zánětem bílé hmoty mozku na různých místech. Dva z případů byly fatální. Po vysazení léku došlo ke zvýšení aktivity onemocnění. Natalizumab byl znovu podáván s určitým omezením v roce 2006, poté, co nedošlo k výskytu další PML. (Vellinga et al. 2008)

Imunosupresiva je možné různě nakombinovat. Nagai et al. použili při terapii azathioprin, cyclosporin A a prednisolone.

Pacientkou byla 45ti letá Japonská žena, která v letech 1986 a 1988 podstoupila transplantaci ledviny od živého dárce. V druhém případě se transplantace podařila. V roce 1987 byla této pacientce diagnostikována ulcerózní kolitida (zánětlivé onemocnění střev). V tomto období pacientka stále přijímala imunosupresivní léčbu. V listopadu roku 1990 se u pacientky objevil pozitivní výsledek testu na virus hepatitidy C (HCV), i přes to, že hladiny aminotransferáz v séru byly v normě. V červu 2001 došlo ke zhoršení ulcerativní kolitidy, které bylo způsobeno častým gastrointestinálním krvácením. V červenci téhož roku byla převezena do nemocnice. Do této doby pacientka užívala pouze prednisolon v denní dávce 40 mg, která byla zvýšena na 80 mg. Po dvou týdnech podávání vysokých dávek prednisolonu došlo k výraznému zvýšení aminotransferáz v séru (HCV-RNA). Proto, že výsledky testů na ulcerativní kolitidu nebyly dobré, byl přidán k prednisolonu cyklosporin A, který je schopný zachovat vysokou koncentraci aminotransferáz. Podáváním cyklosporinu A bylo možné snížit dávku prednisolonu. Leukaferéza (mimotělní separace a sběr leukocytů) byla prováděna 3x týdně. Hladina aminotransferáz klesla do normálního rozmezí. Bohužel bylo nutné provést koloktomii a kolostomii, protože dosud podávaná terapie neměla žádný vliv na ulcerativní kolitidu. Dva měsíce po ukončení imunosupresivní terapie (prednisolon, azathioprin, cyclosporin A) se přechodně zvýšila hladina aminotrasferáz v séru. Následoval výrazný pokles sérových aminotransferáz pod hranici normálních hodnot. V dubnu 2002 byla z kliniky propuštěna. Pacientka byla nadále léčena ambulantně. Sérové HCV-RNA bylo po sedm měsíců negativní. Pomocí jaterní biopsie bylo potvrzeno, že byla pacientka vyléčena z virové hepatitidy typu C. RT-PCR prokázalo, že v jaterní tkáni se nevyskytuje HCV-RNA. V této studii bylo potvrzeno, že díky rebound efektu, který se projevil po vysazení imunosupresivní terapie obsahující především prednisolon, došlo k úspěšnému vyléčení pacientky s virovou hepatidou C. Po ukončení imunosupresivní terapie došlo k náhlé imunoaktivaci organismu, který způsobil převratné navýšení alanin transamináz a vymizení HCV. (Nagai et al. 2005)

5.3. Výskyt rebound efektu, nádorová onemocnění

Tyto případy bylo obtížné najít, neboť samozřejmě nikdo záměrně nepoužívá imunosupresivum proti nádorům. Imunosupresivum bylo v následujících příkladech použito z úplně jiných příčin a z jiných příčin bylo vysazeno, podařilo se však, jak je dokumentováno, potlačit přítomný nádor.

Než přejdeme k jednotlivým kazuistikám, je třeba zmínit práci Vanucci et al. (2007). Tento tým použil imunosupresiva s úspěchem proti nádorům. Nebyl však vyvolán rebound efekt, vše vycházelo z faktu, že zánětlivé prostředí podporuje růst nádoru a jeho potlačení může mít protinádorový účín. Domníváme se tedy, že naše strategie založená na přechodném použití imunosupresiv s jejich následným vysazením a vyvoláním rebound efektu, může být touto prací jen podpořena. Samotné nasazení imunosupresiv nemusí mít imunostimulační efekt ale dokonce naopak a jejich vysazení a rebound efekt by mohl být rovněž prospěšný. Samozřejmě bude vždy záviset na typu nádoru, jeho zánětlivé infiltraci a typu imunosupresiva.

Dillon et al. (2010) se pokusili léčit onemocnění myasthenia gravis podáním imunosupresivní látky azathioprin. Jedná se o protilátkou zprostředkované autoimunitní onemocnění způsobené selháním nervosvalového přenosu, který vyplývá z vazby protilátek na proteiny zapojené do signalizace u neuromuskulární křížovatky (NMJ= synapse mezi motorickým neuronem a svalovou buňkou) (Conti-Fine et al. 2006). Dva z pacientů měli přitom čtvrté stádium maligního melanomu. V obou případech po vysazení imunosupresivní léčby ustoupily melanomové metastáze. Autoři této studie předpokládají, že snížení dávky nebo úplné vysazení imunosupresiv může být velmi přínosné pro pacienty s pokročilým stádiem melanomu a vyžaduje další testování této metody u pacientů s raným stádiem melanomu.

V prvním případě byl pacientem 62 let starý muž trpící Guillain-Barrého syndromem (GBS) (akutní zánětlivá demyelinizační polyneuropatie, autoimunitní onemocnění postihující periferní nervovou soustavu (U. S. National Library of Medicine 2011)). V roce 1998 bylo u tohoto pacienta diagnostikováno onemocnění myasthenia gravis společně s melanomem pokožky na hlavě. Melanom byl 4mm hluboký dle Breslowa měření, zvředovatělý (hnisavý)

a s negativním nálezem ulcerativní lymfatické uzliny (Dillon et al. 2010). Ulcerativní lymfatická uzlina je čistě hypoteticky první uzlina (skupina uzlin), která je metastaticky postižena nádorovými buňkami z primárního tumoru, tzn., že je to tzv. první splavná regionální uzlina (Veronesi et al. 1999). Deset let byla pacientovi přerušovaně podávána terapie obsahující prednison a azathioprin. V době, kdy mu byl diagnostikován melanom, užíval jen azathioprin. Osm měsíců po primární resekci byl vyšetřen pomocí pozitronové emisní tomografie (PET). Výsledkem vyšetření byl nález 5mm velké zanícené léze v brzlíku a zanícené plicní uzlíky. Pacient musel podstoupit chirurgické odstranění části brzlíku a jednoho plicního uzlíku. Patologické vyšetření odhalilo metastazující melanom v brzlíku a plicích. Následovala thymektomie a tříměsíční imunosupresivní terapie azathioprinem. Po odoperování brzlíku již neměl pacient žádné příznaky myasthenia gravis, onemocnění se již nevrátilo. Tento případ tedy naznačuje, že thymektomie a následné vysazení azathioprinu může odléčit myasthenii gravis. Co je však pro nás nejdůležitější je, že metastáze v plicích kompletně vymizely do šesti měsíců. (Dillon et al. 2010)

Druhým pacientem byl 65 let starý muž mající také onemocnění myasthenia gravis. Jedenáct let mu byl podáván azathioprin. V roce 2006 mu byl diagnostikován také melanom. Nádor byl 3,45 mm hluboký dle Breslowa měření, zjistil se pozitivní výskyt sentinelové uzliny. Pět měsíců po stanovení diagnózy se metastazovaly rakovinné buňky v krku a na pokožce hlavy. Muselo tedy dojít k chirurgickému odstranění. O tři měsíce později došlo k druhé lokální recidivě. V tomto případě nebylo možné nález odoperovat, protože do tohoto místa zasahovalo nervové vlákno vedoucí do krku. Pacient musel podstoupit radioterapii. Ohlas na radioterapii byl velice kladný. Čtyři týdny po ukončení radioterapie se objevila na zádech nová kožní ložiska melanomu. V průběhu léčby byla postupně snižována dávka azathioprinu. Pacient dobře snášel vysazení imunosupresivní léčby. Myasthenia gravis byla léčena pomocí mestinonu (inhibitor cholinesterázy, zabraňuje rozdělení acetylcholinu). Většina nádorů úplně vymizela osm týdnů po vysazení azathioprinu. Zbývající melanom na zádech se výrazně zmenšil. Následující PET a CT vyšetření nenašlo žádná ložiska. 18 měsíců neměl pacient žádné potíže. Při kontrolním vyšetření byla nalezena nádorová ložiska v kostní dřeni. Pacient odmítl pokračovat v léčbě. Po roce onemocnění podlehl. I v druhém případě bylo prokázáno, že po vysazení imunosupresivní terapie azathioprinem většina nádorů úplně vymizela. (Dillon et al. 2010)

Ukončení imunosupresivní terapie má dobré účinky na léčbu lymfoproliferativních onemocnění, které se často objevují u pacientů po transplantacích. Hodi et al. 2005 ve své práci popisuje případ pacienta s melanomem, který byl po vysazení imunosupresiv vyléčen.

Od roku 1997 do roku 2001 byl léčen muž s aplastickou anémií. Nejprve užíval cyklosporin. V roce 2001 byl cyklosporin vyměněn za imunosupresivum sirolimus a tacrolimus. Změna v léčivu byla kvůli možné toxicitě cyklosporinu na ledviny. Po přetrvávající krvácení a nehojících se lézích na pokožce lebky musel pacient v roce 2003 podstoupit biopsii. Biopsie potvrdila výskyt maligního melanomu na pokožce hlavy. Melanom byl 2,3mm hluboký dle Breslowa měření, byl ve čtvrtém stadiu, zvrhedovatěný a v 1mm^2 se vyskytovalo 10 mitotických buněk. Pacientovi musela být odstraněna povrchová léze, podstoupil transplantaci kůže a poté biopsii sentinelové uzliny na levé straně v místě ušní lymfatické uzliny. Biopsie odhalila Lentigo maligní melanom, který byl 5,5 mm hluboký dle Breslowa měření, v pátém stadiu pokročilosti onemocnění se 14 mitotickými buňkami na mm^2 (Hodi et al. 2005). Lentigo maligní melanom je melanom vznikající poškozením kůže slunečním zářením, častěji u starších lidí (Flotte et al. 1999). Tento melanom invadoval nervový a vaskulární systém. Vyšel pozitivní výsledek na přítomnost metastáz v lymfatických uzlinách. Následovala opět radioterapie, odstranění lézí na pokožce hlavy a transplantace kůže. V únoru 2004 byla přerušena imunosupresivní léčba. Přerušeni imunosupresivní léčby i v tomto případě vedlo k částečné potlačení melanomu. V březnu 2004 proběhla nová zánětlivá reakce s rozsáhlým erytémem. Po vyšetření CT bylo rozhodnuto pacientovi podávat chemoterapii se sníženou dávkou dakarbazinu (350 mg/m^2 denně po dobu dvou dnů, $250\text{ }\mu\text{g/m}^2$ GM-CSF denně po dobu 14 dnů). Hodi et al. 2005 se pokusili vysvětlit možnou roli anti-tumor imunitní odpovědi v této klinické reakci. Analyzovali biopsii zánětlivých lézí z pokožky hlavy po vysazení imunosupresiv a před podáním chemoterapie. Histologické vyšetření odhalilo ústřední oblasti melanomu infiltrované lymfocyty. Imunohistochemické testy prokázaly, že do této buněčné imunitní odpovědi byly zahrnuty CD4 + a CD8 + T lymfocyty. Po ukončení imunosuprese se vrátilo množství periferních bílých krvinek do normálu (z $4\ 100/\mu\text{l}$ na $12\ 700/\mu\text{l}$). Po podání chemoterapie počet bílých krvinek zůstal mezi $7\ 000/\text{ml}$ – $10\ 000/\text{ml}$. I přes to, že pacient dostával chemoterapii s dakarbazinem, je více než nepravděpodobné, že toto samo o sobě je zodpovědné za trvalou odpověď organismu na melanom. Hodi et al. 2005 zjistili, že ukončení imunosupresivní léčby umožňuje výrazně

obnovit imunitní systém, který je poté schopný dobře rozpoznat přítomnost metastatických buněk melanomu a bojovat proti nim (Hodi et al. 2005).

6. Závěr

- Byla podána základní charakteristika interakce imunitního systému s nádorem.
- Byl podán přehled hlavních imunosupresiv a dokumentován rebound efekt související s jejich vysazením u nenádorových onemocnění.
- Bylo dokumentováno, že rebound efekt, který souvisí s vysazením některých imunosupresiv, dokáže působit výrazně protinádorově.
- Domníváme se, že je možné u nádorových onemocnění krátkodobě nasadit imunosupresiva bez vážnějších následků a po jejich vysazení na základě rebound efektu vyvolat výraznou protinádorovou reakci. Toto je však nutné experimentálně ověřit.

7. Seznam použité literatury

- **Altaner Č. (2008):** Buněčná a molekulární biologie rakoviny. nakl. Radix spol. s.r.o.: 11- 22.
- **American Osteopathic College of Dermatology**, www.aocd.org [cit. 2011-10-04].
- **Aubrey D. A. (1970):** Massive hepatic necrosis after cyclophosphamide. British Medical Journal. 3: 588.
- **Belcher J. D., Mahaseth H., Welch T. E., Vilback A. E., Sonbol K. M., Kalambur V. S., Bowlin P. R., Bischof J. C., Hebbel R. P., Vercellotti G. M. (2005):** Critical role of endothelial cell activation in hypoxia-induced vasoocclusion in transgenic sickle mice. American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology. 288: 2715-2725.
- **Bernini J. C., Rogers Z. R., Sandler E. S., Reisch J. S., Quinn C. T., Buchanan G. R. (1998):** Beneficial effect of intravenous dexamethasone in children with mild to moderately severe acute chest syndrome complicating sickle cell disease. Blood. 92: 3082-3089.
- **Brittenden J., Heys S. D., ROSS J., Eremin O. (1996):** Natural Killer Cells and Cancer. American Cancer Society. 77: 1226-1243.
- **Bornstein S. R., Briegel J. (2003):** A New Role of Glucocorticoids in Septic Shock. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 167: 485-489.
- **Buckingham J. C. (1996):** Stress and the Neuroendocrine-Immune Axis: The Pivotal Role of Gluco- Corticoids and Lipocortin 1. British Journal of Pharmacology. 118: 1–19.
- **Buckingham J. C (1996):** Corticoids and lipocortin 1. British Journal of Pharmacology. 118: 1–19.
- **Cammack R., Atwood T., Campbell P., Parish H., Smith T., Stirling J., Vella F., (2006):** Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology. Oxford University Press: 46, 459.
- **Conti-Fine B. M., Milani M., Kaminski H. J. (2006):** Myasthenia Gravis: Past, Present, and Future. The Journal of Clinical Investigation. 116: 2843–2854.

- **Corrigan C. J., Shiner R., Shakur B. H., Ind P. W. (2003):** Methotrexate therapy in asthma increases T cell susceptibility to corticosteroid inhibition. *Clinical and Experimental Allergy*. 33: 1090- 1096.
- **Czock D., Keller F., Rasche F. M., Häussler U. (2005):** Pharmacokinetics and pharmacodynamics of systemically administered glucocorticoids. *Clinical Pharmacokinetics*. 44: 61-98.
- **Davis M., Williams R., Chakraborty J., English J., Marks V., Ideo G., Tempini S. (1978):** Prednisone or prednisolone for the treatment of chronic active hepatitis? A comparison of plasma availability. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 5: 501–5.
- **De Boscher K., Vanden Berghe W., Haegemann G. (2003):** The interplay between the glucocorticoid receptor and nuclear factor- κ B or activator protein-1: molecular mechanisms for gene expression. *Endocrine Review*. 24: 488-522.
- **Dillon P., Thomas N., Sharpless N., Collichio F. (2010):** Regression of advanced melanoma upon withdrawal of immunosuppression: case series and literature review. *Medical Oncology*. 27: 1127-1132.
- **Dostál C., Doležal T. (2004):** Methylprednisolonum (Lékové profily). *Remedia*. 14: 33-44.
- **Dostál C., Pavelka K., Saudek F., Suchopár J., Ettler K. (2005):** Ciclosporinum (lékové profily). *Remedia*. 15: 33- 52.
- **Drug Bank, www.drugbank.ca [cit. 2011-04-04].**
- **Duchini A. (2002):** Autoimmune hepatitis and interferon beta-1a for multiple sclerosis. *The American Journal of Gastroenterology*. 97: 767-768.
- **Einhorn S., Anderbring E. (1985):** Human peripheral blood monocytes are susceptible to interferon-activated natural killer cells. *Journal of Clinical & Laboratory Immunology*. 16:197-199.
- **Eriksson E. (2008):** Novel Approaches for Cancer Immunotherapy. Thesis for Doctoral Degree (Ph.D.). Karolinska Institutet: 10-19.

- **Fahr A. (1993):** Cyclosporin clinical pharmacokinetics. *Clinical Pharmacokinetics*. 24: 472–495.
- **Ferenčík M., Rovenský J., Maťa V. (2002):** Ilustrovaný imunologický slovník. Slovak Academic Press: 151-155.
- **Flotte T. J., Mihm M. C. (1999):** Lentigo Maligna and Malignant Melanoma in situ, Lentigo Maligna Type. *Human Pathology*. 30: 533-536.
- **Fučíková T. (1995):** Klinická imunologie v praxi. Galén: 257- 259.
- **Geiger C., Föller M., Herrlinger K. R., Lang F. (2008):** Azathioprine-induced Suicidal Erythrocyte Death. *Inflammatory Bowel Disease*. 14: 1027–1032.
- **Genestier L., Paillet R., Fournel S., Ferraro C., Miossec P., Revillard J. P. (1998):** Immunosuppressive properties of methotrexate: apoptosis and clonal deletion of activated peripheral T cells. *The Journal of Clinical Investigation*. 102: 322–328.
- **Girman P., Saudek F. (2002):** Sirolimusum (Rapamycyn, Lékové profily). *Remedia*. 12: 290-299.
- **Griffin T. C., McIntire D., Buchanan G. R. (1994):** High-Dose Intravenous Methylprednisolone Therapy for Pain in Children and Adolescents with Sickle Cell Disease. *The New England Journal of Medicine*. 330: 733-737.
- **Gummert J. F., Ikonen T., Morris R. E. (1999):** Newer Immunosuppressive Drugs: A Review. *Journal of the American Society of Nephrology*. 10: 1366–1380.
- **Halvová P., Grundmann M. (2010):** Farmakokinetika a klinické aplikace vybraných imunosupresiv II. *Klinická Farmakologie a Farmacie*. 24: 51–56.
- **Han A., Zeichner A. Z. (2009):** A Practical Approach to Treating Autoimmune Bullous Disorders with systemic Medications. *The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology*. 2: 19-28.
- **Hansson M., Kiessling R., Anderson B. (1981):** Human fetal thymus and bone marrow contain target cells for natural killer cells. *European Journal of Immunology*. 11: 8-12.

- **Hempen C., Weiss E., Hess C. F. (2002):** Dexamethasone Treatment in Patients with Brain Metastases and Primary Brain Tumors: Do the benefits outweigh the side-effects? *Supportive Care in Cancer*. 10: 322- 328.
- **Hidalgo M., Rowinsky E. K. (2000):** The Rapamycin-Sensitive Signal Transduction Pathway as a Target for Cancer Therapy. *Oncogene*. 19: 6680–6686.
- **Hodi F. S., Granter S., Antin J. (2005):** Withdrawal of Immunosuppression Contributing to the Remission of Malignant Melanoma: A Case Report. *Cancer Immunity*. 5: 7.
- **Hong J. H., Chiang C. S., Campbell I. L., Sun J. R., Withers H. R., McBride W. H. (1995):** Induction of Acute Phase Gene Expression by Brain Irradiation. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*. 33: 619- 626.
- **Hořejší V., Bartůňková J. (2005):** *Základy imunologie*. TRITON s.r.o.: 95-181.
- **Ito A., Miyake M., Morishita M., Ito K., Torii S., Sakamoto T. (2003):** Dexamethasone Reduces Lung Eosinophilia, and VCAM-1 and ICAM- 1 Expression Induced by Sephadex Beads in Rats. *European Journal of Pharmacology*. 468: 59- 66.
- **Keh D., Boehnke T., Weber-Cartens S., Schulz Ch., Ahlers O., Bercker S., Volk H. D., Doecke W. D., Falke J. K., Gerlach H. (2003):** Immunologic and Hemodynamic Effects of "Low-Dose" Hydrocortisone in Septic Shock. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 167: 512-520.
- **Knight D. M., Trinh H., Le J., Siegel S., Shealy D., McDonough M., Scallon B., Moore M. A., Vilcek J., Daddona P. (1993):** Construction and initial characterization of a mouse-human chimeric anti-TNF antibody. *Molecular Immunology*. 30: 1443–1453.
- **Krejsek J., Kopecký O. (2004):** *Klinická imunologie*. NUCLEUS HK: 775- 811.
- **Kronenberg M. (2005):** Toward an Understanding of NKT Cell Biology. *Annual Review of Immunology*. 26: 877-900.
- **Krumbholz M., Pellkofer H., Gold R., Hoffmann L. A., Ann L., Hohlfeld R., Kümpfel T. (2007):** Delayed allergic reaction to natalizumab associated with early formation of neutralizing antibodies. *Archives of Neurology*. 64: 1331–1333.

- **Lambrou G. I., Vlahopoulos S., Papathanasiou C., Papanikolaou M., Karpusas M., Zoumakis E., Tzortzatos-Stathopoulou F. (2009):** Prednisolone exerts late mitogenic and biphasic effects on resistant acute lymphoblastic leukemia cells: Relation to early gene expression. *Leukemia Research*. 33 :1684-1695.
- **LaRosa D. F., Orange J. S. (2008):** Lymphocytes. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 121: 364-369.
- **Lattime E. C., Pecoraro G., Stutman O. (1982):** Natural cytotoxic cells against solid tumors in mice. IV. Natural cytotoxic (NC) cells are not activated natural killer (NK) cells. *International Journal of Cancer*. 30: 471–477.
- **Lefering R., Neugebauer E. A. (1995):** Steroid Controversy in Sepsis and Septic Shock: A Meta-Analysis. *Critical Care Medicine*. 23: 1294–1303.
- **Lowes M. A., Bowcock A. M., Krueger J. G. (2007):** Pathogenesis and Therapy of Psoriasis. *Nature*. 445: 866-873.
- **Lunel F. (1994):** Hepatitis C virus and autoimmunity: fortuitous association or reality? *Gastroenterology*. 107: 1550- 1555.
- **Maini R., St Clair E. W., Breedveld F., Furst D., Kalden J., Weisman M., Smolen J., Emery P., Harriman G., Feldmann M., Lipsky P. (1999):** Infliximab (chimeric anti tumour necrosis factor alpha monoclonal antibody) versus placebo in rheumatoid arthritis patients receiving concomittant methotrexate: a randomized phase III trial. *Lancet*. 354: 1932–1939.
- **Mateička F., Blažíčková S., Bošák V. (2004):** Imunológia pre poslucháčov FZSP Trnavskej University v Trnavě. Slovak Academis Press. 174-181.
- **Marin M. G. (1997):** Low- dose methotrexate spares steroid usage in steroid-dependent chronic asthmatic patients: a meta- analysis. *Chest*. 112: 29-33.
- **Masri M. A. (2003):** The mosaic of immunosuppressive drugs. *Molecular Immunology*. 39: 1073–1077.
- **MedlinePlus- U.S. National Library of Medicine, National Institutes of Health,** www.nlm.nih.gov/medlineplus/ [cit. 2011-10-04].

- **Meduri G. U. (1999):** An Historical Review of Glucocorticoid Treatment in Sepsis: Disease Pathophysiology and the Design of Treatment Investigation. *Sepsis*. 3:21–38.
- **Mori N., Horie Y., Gerritsen M. E., Anderson D. C., Granger D. N. (1999):** Anti-inflammatory Drugs and Endothelial Cell Adhesion Molecule Expression in Murine Vascular Beds. *Gut- An International Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 44: 186-195.
- **Nagai H., Matsumaru K., Shiozawa K., Momiyama K., Wakui N., Shinohara M., Watanabe M., Ishii K., Nonaka H., Hasegawa A., Teramoto T., Yamamuro W., Sumino Y., Miki K. (2005):** Disappearance of HCV after cessation of immunosuppression in a patient with ulcerative colitis and renal transplantation. *Journal of Gastroenterology*. 40: 848–853.
- **Niemeyer M., Darmoise A., Mollenkopf H. J., Hahnke K., Hurwitz R., Besra G. S., Schaible U. E., Kaufmann S. H. E. (2007):** Natural Killer T-cell Characterization Through Gene Expression Profiling: An Account of Versatility Bridging T helper Type 1 (Th1), Th2 and Th17 Immune Responses. *Immunology*. 123: 45-56.
- **Onishi T., Onishi Y., Imagava K., Ohmoto Y., Murata K. (1999):** An assessment of immunological environment based on intratumoral cytokine production in renal cell carcinoma. *British Journal of Urology International*. 83: 488-492.
- **Pathak S., Palan U (2005):** Immunology: Essential and Fundamental. Science Publishers Inc. 284-287.
- **Pavelka K. (2005):** Leflunomidum (Lékový profil). *Remedia*. 15: 338–344.
- **Pawelec G. (1999):** Tumor escape from the immune response: the last hurdle for successful immunotherapy of cancer? *Cancer Immunology Immunotherapy*. 48: 343-345.
- **Petruželka L., Konopásek B. (2003):** Klinická onkologie. Karolinum.
- **Philips J. T., O'Connor P. W., Havrdova E., Hutchinson M., Kappos L., Miller D. H., Polman C. H., Lublin F. D., Giovannoni G., Wajgt A., Lynn F., Panzara M. A., Sandrock A. W. (2006):** Infusion-related hypersensitivity reactions during natalizumab treatment. *Neurology*. 67:1717–1718.

- **Pinto P., Dougados M. (2006):** Leflunomide in clinical practice. *Acta Reumatológica Portuguesa*. 31: 215–224.
- **Pinto P. C., Hu E., Bernstein-Singer M., Pinter-Brown L., Govindarajan S. (1990):** Acute hepatic injury after the withdrawal of immunosuppressive chemotherapy in patients with hepatitis B. *Cancer*. 65: 878- 884.
- **Puig L., Sáez E., Lozano M. J., Bordas X., Carrascos J. M., Gallardo F., Luelmo J., Sánchez-Regaña M., Alsina M., García-Patos V. (for the Spanish Academy of Dermatology and Venereology Psoriasis Working Group) (2009):** Reactions to Infliximab Infusions in Dermatologic Patients: Consensus Statement and Treatment Protocol. *Actas Dermo-Sifiliográficas*. 100:103-112.
- **Ransohoff R. M. (2007):** Natalizumab for Multiple Sclerosis. *The New England Journal of Medicine*. 356: 2622-2629.
- **Redlichová M., Šenková A., Drugda B., Krištúfek P. (2003):** Štandardná farmakoterapia a liečba komplikácií u pacientov po transplantácii pľúc. *Klinická Farmakologie a Farmacie*. 17: 177–182.
- **Remicade for Healthcare Professionals**, www.remicade.com, [cit. 2011-15-04].
- **Rice Ch. M., Walker Ch. M. (1995):** Hepatitis C virus-specific T lymphocyte responses. *Current Opinion in Immunology*. 7: 532- 538.
- **Reuß R., Retzlaff K., Vogel S., Franke F. E., Oschmann P. (2007):** Autoimmune hepatitis after high-dose intravenous methylprednisolone pulse in RR-MS. *Central European Journal of Medicine*. 2: 356-359.
- **Říhová B. (2007) :** Protinádorová imunita a cílená terapie. *Buněčné a molekulární základy Imunologie*. Česká Imunologická společnost. 169-179.
- **Sagnelli E, Manzillo G, Maio G et al. (1980):** Serum levels of hepatitis B surface and core antigens during immunosuppressive treatment of HBsAg-positive chronic active hepatitis. *Lancet*. 2:395-397.

- **Saudek F. (2006):** Tacrolimusum (Lékové profily). *Remedia*. 16: 61-79.
- **Shih J. Y., Yuan A., Chen J. J. W., Yang P. C. (2006):** Tumor-Associated Macrophage: Its Role in Cancer Invasion and Metastasis. *Journal of Cancer Molecules*. 2: 101-106.
- **Shurin M. R., Lu L., Kalinski P., Stewart-Akers A. M., Lotze M. T. (1999):** Th1/Th2 balance in cancer, transplantation and pregnancy. *Springer Seminars in Immunopathology*. 21: 339-359.
- **Sprung C. L., Caralis P. V., Marcial E. H., Pierce M., Gelbard M. A., Long W. M., Duncan R. C., Tendler M. D., Karpf M. (1984):** The Effects of High-Dose Corticosteroids in Patients with Septic Shock — A Prospective, Controlled Study. *The New England Journal of Medicine*. 311: 1137-1143.
- **Stříteský J. (2001):** *Patologie*. nakl. EPAVA: 125- 159.
- **Stuve O., Bennett J. L. (2007):** Pharmacological properties, toxicology and scientific rationale for the use of natalizumab (Tysabri) in inflammatory diseases. *CNS Drug Reviews*. 13: 79–95.
- **Suchý D., Komzáková I., Grundmann M. (2004):** Základní charakteristiky vybraných imunosupresiv. *Klinická Farmakologie Farmacie*. 18: 90–95.
- **Špinarová L., Toman J. (2000):** Pharmacotherapy after heart transplantation. *Cor et Vasa*. 42: 335–340.
- **Takahashi A., Kanno Y., Takahashi Y., Sakamoto N., Monoe K., Saito H., Abe K., Yokokawa J., Irisawa A., Ohira H. (2008):** Development of autoimmune hepatitis type 1 after pulsed methylprednisolone therapy for multiple sclerosis: A case report. *World Journal of Gastroenterology*. 14(35): 5474-5477.
- **Taláb R. (2007):** Natalizumab (Lékové profily). *Remedia*. 17: 533-541.
- **U. S. National Cancer Institute**, www.cancer.gov [cit. 2010-04-10].
- **U. S. National Library of Medicine**, www.nlm.nih.gov [cit. 2011-10-04].
- **Van den Brande J. M., Braat H., van den Brink G. R., Versteeg H. H., Bauer C. A., Hoedemaeker I., van Montfrans C., Hommes D. W., Peppelenbosch M. P., van**

- Deventer S. J. (2004):** Infliximab but not etanercept induces apoptosis in lamina propria T-lymphocytes from patients with Crohn's disease. *Gastroenterology*. 124: 1774-85.
- **Vannuci L., Fiserova A., Saieh M. (2007):** A paradoxical hypothesis: might a controlled immune suppression help to rescue the immune response in a pro-inflammatory tumor microenvironment? Proceedings of the 4th International Conference on "Tumor Microenvironment: progression, therapy and prevention", (March 6-10 2007, Florence, Italy), Medimond Srl, Bologna (IT), PP. 79-83.
 - **Végh V., Végh T. (2008):** Přehled doplňkové imunoterapie v pediatrii. *Pediatric pro Praxi*. 9: 388–392.
 - **Vellinga M. M., Castelijns J. A., Barkhof F., Uitdehaag B. M. J., Polman C. H. (2008):** Postwithdrawal rebound increase in T2 lesional activity in natalizumab-treated MS patients. *Neurology*. 70: 1150-1151.
 - **Veronesi U., Paganelli G., Viale G., Galimberti V., Luini A., Zurrada S., Robertson Ch., Sacchini V., Veronesi P., Orvieto E., Cicco C., Intra M., Tois G., Scarpa D. (1999):** Sentinel Lymph Node Biopsy and Axillary Dissection in Breast Cancer: Results in a Large Series. *Journal of the National Cancer Institute*. 91: 368-373.
 - **Warner L. M., Adams L. M., Sehgal S. N. (1994):** Rapamycin Prolongs Survival and Arrests Pathophysiologic Changes in Murine Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis and Rheumatism*. 37: 289–297.
 - **Webster's Online Dictionary**, www.websters-online-dictionary.org [cit. 2010-29-11].
 - **Weissman D. E., Janjan N. A., Erickson B., Wilson F. J., Greenberg M., Ritch P. S., Anderson T., Hansen R. M., Chitambar C. R., Lawton C. A. (1991):** Twice-Daily Tapering Dexamethasone Treatment During Cranial Radiation for Newly Diagnosed Brain Metastases. *Journal of Neuro-Oncology*. 11: 235- 239.
 - **Yuan H., Goetz D. J., Gaber M. W., Issekutz A. C., Merchant T. E., Kiani M. F. (2005):** Radiation-Induced Up-regulation of Adhesion Molecules in Brain Microvasculature and their Modulation by Dexamethasone. *Radiation Research*. 163: 544-551.

- **Zhang J., Tian Q., Zhou S. F. (2006):** Clinical Pharmacology of Cyclophosphamide and Ifosfamide. *Current Drug Therapy*. 1: 55-84.