

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Vliv imunosupresiv na biochemické děje v organismu

Matěj Karabec

Bakalářská práce

2019

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

The effects of immunosuppressants on biochemical processes in the body

Matěj Karabec

Bachelor work

2019

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Matěj Karabec**
Osobní číslo: **C16249**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Název tématu: **Vliv imunosupresiv na biochemické děje v organismu**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Vypracovat teoretickou rešerši týkající se imunosupresiv a jejich vlivu na biochemické děje.
2. V úvodu krátce uvést charakteristiku imunosupresiv a historii jejich vývoje.
3. V další části se zaměřit na rozdělení imunosupresiv a jejich použití.
4. Následující kapitoly věnovat vlivu imunosupresiv na probíhající biochemické procesy v lidském organismu.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**
Seznam odborné literatury:

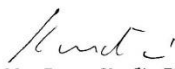
Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Šárka Štěpánková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **21. prosince 2018**
Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2019**



Ing. Petr Kalenda, Ph.D.
děkan

L.S.



prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2019

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 26. 6. 2019

.....

Matěj Karabec

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych rád poděkoval Mgr. Šárce Štěpánkové, Ph.D. za odborné vedení, ochotu, rady a hlavně za velkou trpělivost při zpracovávání této práce. Velké díky patří také mé rodině za jejich nepřetržitou podporu při studiu.

ANOTACE

Tato bakalářská práce se zaměřuje na imunosupresiva a jejich vliv na biochemické děje v organismu. V úvodu práce je stručně sepsán historický vývoj jednotlivých imunosupresiv. Následně jsou vysvětleny základní pojmy, mezi které patří imunitní systém, imunosuprese a imunosupresiva. Koncept celé práce je založen na obecném popisu vybraného imunosupresiva, jeho mechanismu účinku a popisu nežádoucích účinků.

KLÍČOVÁ SLOVA

Imunosupresiva, mechanismus účinku, nežádoucí účinky, T-lymfocyt, cytokiny

TITLE

The effects of immunosuppressants on biochemical processes in the body

ANNOTATION

This bachelor thesis focuses on immunosuppressants and their influence on biochemical processes in organism. In the introduction of the work the historical development of individual immunosuppressants is briefly written. Subsequently, the basic concepts are explained, including the immune system, immunosuppression and immunosuppressants. The concept of the whole work is based on the general description of the selected immunosuppressant, its mechanism of action and the description of the side effects.

KEYWORDS

Immunosuppressants, mechanism of action, side effects, T-lymfocyte, cytokines

SEZNAM ZKRATEK

6-MP	6-merkaptopurin
6-TG	6-thioguanin
ACTH	adrenokortikotropní hormon (adrenocorticotropic hormone)
AZA	azathioprin (azathioprine)
cGCR	cytosolické glukokortikoidní receptory (cytosol glucocorticoid receptors)
CHF	městnané srdeční selhání (congestive heart failure)
CNI	kalcineurinové inhibitory (calcineurin inhibitors)
dGTP	deoxyguanosintrifosfát (deoxyguanosine triphosphate)
DNA	deoxyribonukleová kyselina (deoxyribonucleic acid)
Fc	krystalizující fragment (fragment crystallizable region)
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (Food and Drug Administration)
FKBP12	FK vázající protein 12 (FK binding protein 12)
GCR	receptor glukokortikoidu (glucocorticoid receptor)
GIT	gastrointestinální trakt
GK	glukokortikoidy
GRE	glukokortikoid odpovídající element (glucocorticoid response element)
HDL	vysokodenzitní lipoprotein (high density lipoprotein)
HPA	hypotalamo-hypofyzárně adrenální
HSP	protein teplotního šoku (heat shock protein)
HSV	herpes simplex virus (herpes simplex virus)
IL-2	interleukin-2 (interleukin-2)
IMPDH	inhibitor inosinmonofosfát dehydrogenázy (inosine-5'-monophosphate dehydrogenase inhibitors)
INF- γ	interferon γ
ISE	index imunitní účinnosti
LDL	nízkodenzitní lipoprotein (low density lipoprotein)
mAbs	monoklonální protilátky (monoclonal antibodies)
mGCR	membránově vázaný glukokortikoidní receptor (membrane-bound glucocorticoid receptors)
MMF	mykofenolát mofetil (mycophenolate mofetil)
MPA	mykofenolová kyselina (mycophenolic acid)
mTOR	savčí TOR (mammalian target of rapamycin)

mTORC	mTOR komplex (mTOR complex)
NFAT	jaderný faktor aktivovaných T-buěk (nuclear factor of activated T-cells)
nGRE	negativní glukokortikoid odpovídající element (negative glucocorticoid response element)
NSAID	nesteroidní antiflogistikum (nonsteroidal anti-inflammatory drugs)
pGRE	pozitivní glukokortikoid odpovídající element (positive glucocorticoid response element)
PI3K	fosfatidylinositol-3-kináza (phosphoinositide-3-kinase)
PKB	proteinkináza B (protein kinase B)
PTEN	fosfatázový a tensinový homolog (phosphatase and tensin homolog)
PTLD	posttransplantační lymfoproliferativní poruchy (post-transplant lymphoproliferative disease)
RNA	ribonukleová kyselina (ribonucleic acid)
S6K1	ribosomální protein S6 kináza beta-1 (ribosomal protein S6 kinase beta-1)
TBC	tuberkulóza (tuberculosis)
TNF- α	tumor nekrotizující faktor α (tumor necrosis factor α)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Strukturní vzorce prednisonu, kortizolu.....	19
Obrázek 2: Mechanismus působení glukokortikoidu na buňku.....	21
Obrázek 3: Chemická struktura cyklosporinu A.....	23
Obrázek 4: Chemická struktura takrolimu.....	25
Obrázek 5: Chemická struktura MMF	27
Obrázek 6: Chemická struktura MPA.....	27
Obrázek 7: Metabolismus MMF	28
Obrázek 8: Chemická struktura azathioprinu	30
Obrázek 9: Chemická struktura sirolimu	33
Obrázek 10: Chemická struktura everolimu	34
Obrázek 11: Schématický diagram infliximabu	39

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Přehled hlavních skupin imunosupresiv	18
--	----

OBSAH

1	Úvod.....	14
2	Imunitní systém a imunosuprese.....	16
3	Imunosupresiva.....	17
1.1	Glukokortikoidy, glukokortikosteroidy.....	18
1.1.1	Mechanismus účinku	19
1.1.2	Mechanismus působení glukokortikoidů na buňku	20
1.1.3	Nežádoucí účinky glukokortikoidů.....	21
1.2	Inhibitory kalcineurinu.....	22
1.2.1	Cyklosporin A.....	23
1.2.1.1	Mechanismus účinku	23
1.2.1.2	Nežádoucí účinky	24
1.2.2	Takrolimus	24
1.2.2.1	Mechanismus účinku	25
1.2.2.2	Nežádoucí účinky	25
1.3	Antiproliferační látky	26
1.3.1	Mykofenolát mofetil	26
1.3.1.1	Mechanismus účinku	27
1.3.1.2	Antimikrobiální aktivita MPA a MMF.....	28
1.3.1.3	Nežádoucí účinky	29
1.4	Antimetaboly.....	29
1.4.1	Azathioprin	29
1.4.1.1	Mechanismus účinku	30
1.4.1.2	Nežádoucí účinky	31
1.5	Inhibitory mTOR.....	31
1.5.1	Sirolimus.....	32
1.5.1.1	Mechanismus účinku	33

1.5.1.2	Nežádoucí účinky	33
1.5.2	Everolimus	34
1.5.2.1	Mechanismus účinku	34
1.5.2.2	Nežádoucí účinky	35
1.6	Monoklonální protilátky.....	35
1.6.1	Muromonab-CD3.....	36
1.6.1.1	Mechanismus účinku	36
1.6.1.2	Nežádoucí účinky	36
1.6.2	Basiliximab	36
1.6.2.1	Mechanismus účinku	37
1.6.2.2	Nežádoucí účinky	37
1.7	Specifické monoklonální protilátky (anti TNF- α monoklonální protilátky).....	37
1.7.1	Infliximab.....	38
1.7.1.1	Mechanismus účinku	39
1.7.1.2	Nežádoucí účinky	39
1.7.2	Adalimumab.....	40
1.7.2.1	Mechanismus účinku	41
1.7.2.2	Nežádoucí účinky	41
1.7.3	Etanercept	42
1.7.3.1	Mechanismus účinku	43
1.7.3.2	Nežádoucí účinky	43
4	Závěr	45
5	Seznam použitých zdrojů.....	46

1 ÚVOD

Největší pokrok v rozvoji terapeutického využití imunosupresiv byl datován do období po druhé světové válce. Imunosuprese byla průlomová při léčbě neléčitelných chorob, kam spadá revmatoidní artritida a další autoimunitní choroby. Veškeré tyto pokroky byly dobrým předpokladem úspěšného rozvoje v transplantační medicíně, kdy byla do té doby omezována složitým zajištěním akceptace štěpu organismem příjemce a velmi omezeným potransplantačním přežitím. [1]

Mezi první významné objevitele patří P. S. Hench, který roku 1949 objevil kortikosteroidní hormon kortizol, což je hormon produkovaný kůrou nadledvin. Posléze roku 1950 obdržel Nobelovu cenu za fyziologii a lékařství. Byl to důležitý objev pro účinnou léčbu revmatické artritidy. [2]

Dalšími objeviteli byli R. Y. Calne, P. R. Murray a C. F. Zukoski, kdy nezávisle na sobě objevili azathioprin (1960). Tato látka byla efektivní imunosupresivní činidlo při prevenci odmítnutí aloštěpu ledvin v časných šedesátých letech 20. století. Mnoho mechanismů imunitních odpovědí zůstalo nadále neobjasněno. [2]

Šedesátá a sedmdesátá léta byla průlomová ve využití cyklofosfamidu z vývoje chemoterapie rakoviny pro využití při nemocích imunitního systému a transplantacích. V tomto období se také upravilo využití antilymfocytového séra poškozujícího lymfocyty pro využití při transplantacích ledvin. Pozdní sedmdesátá a časná osmdesátá léta znamenala revoluční změny ve vývoji léčiv. Dvěma klíčovými vývojovými trendy byla technologie, která sloužila k vývoji monoklonální protilátky (mAbs) člověka pro terapeutické použití a objevení imunosupresivních účinků cyklosporinu A z fermentačních extraktů hub *Tolypocladium inflatum*. [2]

90. léta byla významným obdobím při vývoji imunosupresivních léčiv, z důvodu většího pochopení aktivace a proliferace B a T buněk, signalizace cytokinu a chemokinu a komplementu. Aktivace vedla k cílené léčbě zejména mAbs, které bylo posléze používáno na lidech. Během jednotlivých výzkumů, probíhajících v tomto desetiletí, se postupně dařilo odhalovat další mechanismy imunitního systému, podobně jak tomu bylo u cyklosporinu A (1982). [2]

Důležitým milníkem byl také objev látky takrolimus (FK506), což bylo makrolidové antibiotikum odvozené od půdní houby *Streptomyces tsukubaensis*. Mělo velice silné *in vitro* i *in vivo* imunosupresivní vlastnosti a zpočátku sloužilo jako záchranná léčba při selhání alotransplantátů jater pod cyklosporinem A. Následně byla prokázána užitečnost při primární transplantaci jater (1994). [3]

Ve stejném desetiletí byl objeven mykofenolát mofetil, což je proléčivo kyseliny mykofenolové a inhibuje inosinmonofosfátdehydrogenázu, enzym omezující rychlost syntézy guanosinových nukleotidů. [4]

Další látkou byl sirolimus (rapamycin, 1999), který byl objeven a vyvinut jako antifungální látka, ale bylo zjištěno, že má antineoplastické a imunosupresivní vlastnosti, jejichž mechanismy byly později oceněny a popsány jako savčí zdroj rapamycinu (mTOR). [2]

V posledních desetiletích byl vývoj imunosupresivních léků zpomalen oproti 90. létům, ale stále je vykazován stabilní růst vývoje. [2]

2 IMUNITNÍ SYSTÉM A IMUNOSUPRESE

Imunitní systém je síť lidského organismu, která slouží k rozpoznávání patogenních a pro člověka nebezpečných látek a posléze k jejich samotné likvidaci. Má za úkol také rozpoznávat buňky sobě vlastní, aby nedocházelo k samotné likvidaci. Mezi typické spouštěče imunitního systému patří např. infekce způsobené bakteriemi, viry, plísněmi a mnohočetnými parazity. Ke zničení patogenů jsou selektivně rekrutovány chemické mediátory a destrukční enzymy. Imunitní systém lze rozdělit na nespecifickou vrozenou a specifickou získanou imunitu. Nespecifická imunita se dělí na buněčnou a humorální imunitu. Do buněčné imunity patří mastocyty, NK buňky, fagocyty a do humorální patří komplement a interferony. Stejné rozdělení nacházíme u specifické imunity až na jiné buněčné zástupce. Do buněčné imunity jsou řazeny T-lymfocyty a do humorální jsou řazeny B-lymfocyty a protilátky. Z pohledu funkce jsou zde 3 základní vlastnosti, kdy první rozpoznává a rozlišuje sobě vlastní a cizí buňky, druhá aktivuje cesty eliminující patogeny a třetí obstarává dlouhodobou paměť vzniklou kontaktem mezi patogenem a buňkou imunitního systému. Specifický imunitní systém je klíčový v selektivním rozpoznávání a paměti infekčních patogenů. Kromě ochrany proti infekcím umožňují vlastnosti imunitního systému sledovat poškození a mutace hostitelské tkáně a tím mohou chránit organismus před vznikem malignit. [5, 6]

Imunosupresi lze definovat jako jakýkoliv děj vedoucí ke snížení a potlačení funkce imunitního systému. Díky potlačení funkcí imunitního systému můžeme podpořit organismus při boji s infekcí nebo autoimunitním onemocněním. Imunosuprese může vyplynout z onemocnění, jako je AIDS, lymfom nebo působením některých léčiv při léčbě rakoviny. Lze jí vyvolat také úmyslně a to pomocí léčiv imunosupresivního charakteru. Využití potlačení imunitního systému můžeme pozorovat například při transplantaci kostní dřeně nebo jiné transplantace, aby se zabránilo odmítnutí transplantátu. [7]

3 IMUNOSUPRESIVA

Imunosupresiva jsou zjednodušeně léčiva, která potlačují, či redukují imunitní systém a jeho aktivitu v lidském organismu. Jejich nejčastější využití je uplatňováno při transplantacích, jakými jsou například transplantace jater, srdce, kostní dřeně a také při různých autoimunitních onemocněních, kam mohou patřit onemocnění gastrointestinálního traktu, např. Crohnova choroba. [8, 9]

Tato léčiva jako každá jiná mají svoje nežádoucí účinky. Jelikož víme, že cílem imunosupresivní léčby je přerušení nežádoucí aktivace T a B lymfocytů, které jsou hlavními nositeli imunitní odpovědi na cizí antigen, tak může dojít k výrazné inhibici T a B lymfocytů a tím je spojena s možným rozvojem virových, mykotických a protozoárních onemocnění. V poslední řadě se imunosupresiva potýkají s vyšším výskytem malignit nejčastěji u lymfoproliferací (tzv. toxicita spojená s imunosupresivním účinkem). [8, 9]

Je dobré si v úvodu zmínit také, jaké nežádoucí účinky můžeme zaznamenat u neimunitního systému. U kalcineurinových inhibitorů zahrnují hypertenzi, nefrotoxicitu a hyperlipidemii. Může také dojít k diabetogennímu účinku působením s kortikosteroidy. Je důležité zmínit, že většina antiproliferačních látek, mezi které patří imunosupresiva, je do určité míry hepatotoxická. [8]

Díky široké škále uplatnění těchto léčiv můžeme říci, že se jedná o dynamicky se rozvíjející skupinu léčiv, kde každý vývoj směřuje k látkám s maximální selektivitou účinku. Ta jest někdy vyjadřována pomocí ISE (index imunitní účinnosti), jenž vyjadřuje relativní účinnost inhibice T a B lymfocytů, ku poměru ovlivněných nespecifických složek imunity. [8]

Imunosupresiva se dělí do skupin, které jsou (včetně zástupců jednotlivých skupin) shrnuty v tabulce č. 1.

Tabulka 1: Přehled hlavních skupin imunosupresiv [1]

Skupina	Příklad
Kortikoidy	Prednison, methylprednisolon, kortizol
Inhibitory kalcineurinu	Cyklosporin, takrolimus
Antiproliferační látky	Mykofenolát mofetil
Antimetabolity	Azathioprin
Inhibitory mTOR	Sirolimus (rapamycin), Everolimus
Protilátky: <ul style="list-style-type: none">• monoklonální protilátky• specifické monoklonální protilátky (anti TNF-α monoklonální protilátky)	Daklizumab, basiliximab, muromonab-CD3 Infliximab, adalimumab, etanercept

1.1 Glukokortikoidy, glukokortikosteroidy

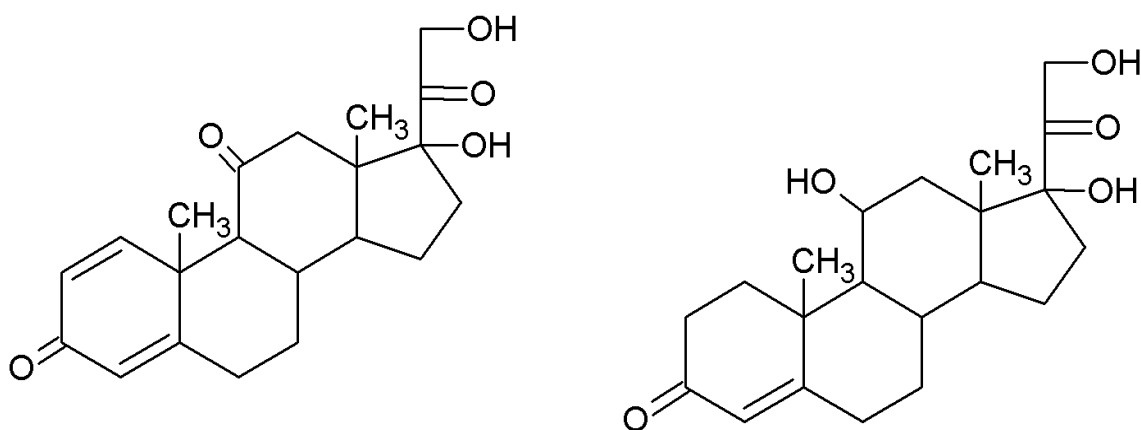
Glukokortikoidy (GK) jsou léčiva, která nadále patří mezi jedny z nejdůležitějších léčiv nejen u revmatických onemocnění, ale také u onemocnění autoimunitního systému, astmatu, alergií, roztroušené sklerózy, SLE (systémový lupus erythematosus) a jiných onemocnění. Využívají se hlavně díky jejich protizánětlivému a imunosupresivnímu účinku. O jejich dávce rozhoduje účinnost specifického GK, tj., dávka GK, která je potřebná pro vyvolání specifického účinku. Tento účinek závisí na farmakokinetických a farmakodynamických vlastnostech. [10, 11]

Glukokortikoidy patří do skupiny steroidů, které také zahrnují mineralokortikoidy, androgeny, estrogeny, progestogeny a vitamín D. Jako takové jsou syntetizovány v lidském organismu a to v kůře nadledvin vlivem působení předního laloku hypofýzy a jeho hormonu, jakým je adrenokortikotropní hormon (ACTH). Tato syntéza je regulována hypotalamo-hypofyzárně-adrenální (HPA) osou, jejíž kortizol je primárním glukokortikoidem u lidí. Jakmile je lidský organismus vystaven stresu, dojde k cirkadiánnímu způsobu uvolnění. GK inhibují zánět tlumením prozánětlivých signálních

drah a podporují rozlišení zánětlivé reakce prostřednictvím programovacích účinků na zánětlivé buňky. [12, 13]

Jakmile se začnou u pacienta podávat syntetické glukokortikoidy, mezi které patří například prednison, dojde k narušení homeostatické aktivity kortizolu, produkovaného lidským organismem, z důvodu poruchy HPA osy. Z tohoto důvodu zde existuje zájem o rozvoj léčby, která by minimalizovala tuto poruchu, aniž by byl snížen farmakologický účinek těchto léčiv. [12]

Na následujícím obrázku č. 1 jsou uvedeny strukturní vzorce dvou glukokortikoidů, a to prednisonu, který patří mezi syntetické GK, a kortizolu, který patří mezi přirozené GK vznikající v lidském organismu.



Obrázek 1: Strukturní vzorce prednisonu (vlevo), kortizolu (vpravo) [37, 38]

1.1.1 Mechanismus účinku

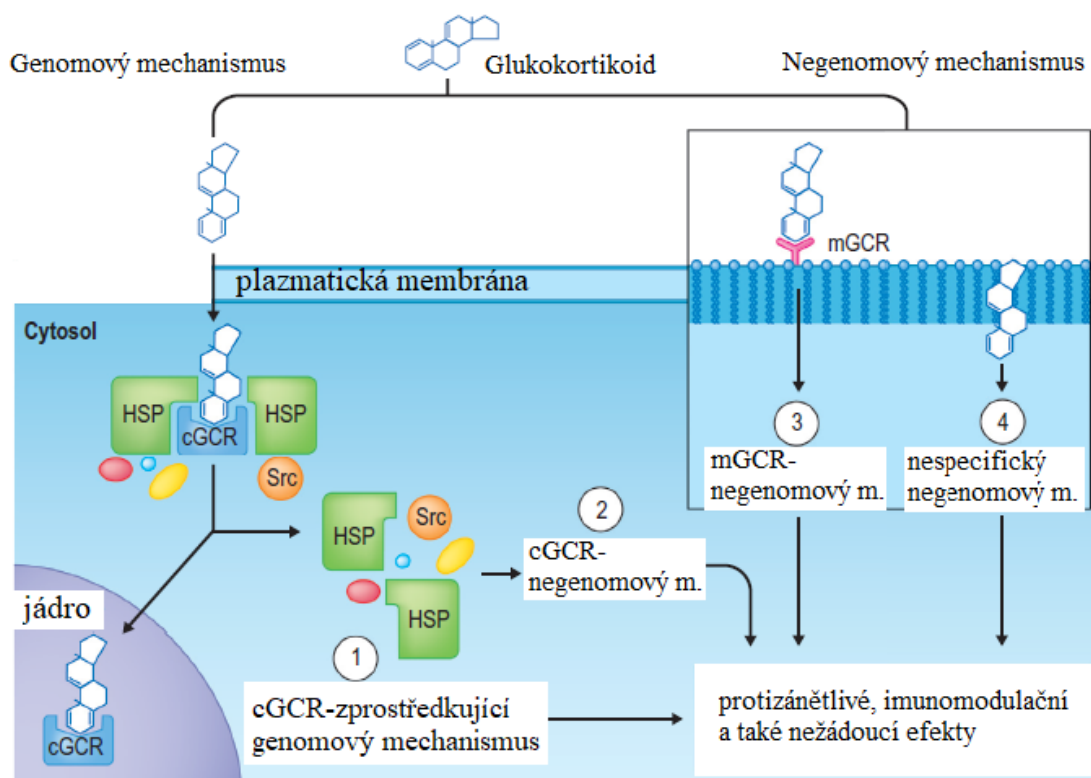
Protizánětlivé a imunosupresivní účinky GK jsou zprostředkovány genomovými mechanismy. Ty zahrnují stabilizaci lyzozomálních membrán, snížení uvolňování histaminu a bradykininu, útlum syntézy prostaglandinů a dále také snížení permeability kapilár. Jejich lipofilní struktura a nízká molekulární hmotnost umožňují GK procházet snadno buněčnou membránou a nadále se vázat na cytosolický receptor pro GK (cGCR). Dokud se ale v buňce neobjeví GK, je daný receptor v inaktivním stavu a to v proteinovém komplexu nacházejícím se v cytoplazmě buňky. Tento komplex je složen ze dvou molekul HSP 90 a jedné molekuly HSP 70 a samotného receptoru. Po vazbě GK v cytoplazmě prochází vázaný komplex glukokortikoid-receptor transformační změnou (dimerizací za vzniku homodimerů GR/GR) a translokuje se do jádra, kde následná regulace genové transkripce probíhá prostřednictvím glukokortikoidních odpovědních prvků. Součástí

tohoto děje je odštěpení obou HSP od receptoru. Tím, že se homodimer naváže na vazebná místa pro GK označovaná jako GRE, mohou tím aktivovat pozitivní promotor GRE (pGRE) nebo negativní promotor (nGRE). Pokud dojde k vazbě na nGRE dojde k inhibici genové transkripce, ale při vazbě na pGRE dojde až k indukci genové transkripce genů patřících do skupiny jaderných aktivačních faktorů T-buněk (NFAT). Zmíněné geny jsou velmi důležité jednak z hlediska aktivace transkripce a také produkce prozánětlivých cytokinů. Výsledek je snížení zánětlivé odpovědi v důsledku produkce cytokinů, jejichž součástí jsou interleukiny 1 a 2 (IL-1, IL-2), interferony- γ (INF- γ) a tumor nekrotizující faktor α (TNF- α). Kortikoidy snižují funkci také u monocytů/makrofágů a snižují množství CD4+ T-lymfocytů. GCR typ II reguluje protizánětlivé účinky cirkulujícího kortizolu prostřednictvím transreprese. GCR typ I má mineralokortikoidní aktivitu a je formující tekutinou pro homeostázu elektrolytu. Nakonec to buď indikuje syntézu regulačních proteinů (transaktivace), nebo inhibuje jejich syntézu (transreprese). Asi 10-100 genů na buňce je přímo regulováno GK, ale mnoho jiných genů je regulováno nepřímo prostřednictvím interakce s transkripčními faktory a koaktivátory. Odhaduje se, že GK ovlivňují při transkripci 1 % celého genomu. [12, 14, 18]

1.1.2 Mechanismus působení glukokortikoidů na buňku

Na obrázku č. 2 je znázorněn mechanismus působení GK na buňku. Jelikož jsou GK lipofilní látky, procházejí velice snadno buněčnou membránou přímo do buňky. Zde se váže na všudypřítomně exprimovaný cytosolický glukokortikoidní receptor cGCR. V následující fázi dojde buď ke klasickému genomovému účinku zprostředkovanému cGCR (na obrázku znázorněno číslem 1), nebo k nengenomovému účinku zprostředkovanému také cGCR (na obrázku znázorněno číslem 2). Navíc s největší pravděpodobností GK samy interagují s buněčnou membránou, buď přes membránově vázané glukokortikoidní receptory mGCR (na obrázku znázorněno číslem 3), nebo prostřednictvím nespecifických nengenomových interakcí (na obrázku znázorněno číslem 4). [14]

Všechny tyto odlišné děje směřují ke stejnému cíli a to k protizánětlivým, imunomodulačním a také nežádoucím účinkům. [14]



Obrázek 2: Mechanismus působení glukokortikoidu na buňku [14]

1.1.3 Nežádoucí účinky glukokortikoidů

Je nám samozřejmě známo, že veškerá léčiva, která doposud známe, mají své vedlejší účinky. V tomto případě se nejedná o výjimku. Mezi typické a závažné vedlejší účinky u těchto látek si můžeme uvést například zvýšení tělesné hmotnosti, inzulínovou rezistenci, diabetes, potlačení funkce osteoblastů a tím vznik osteoporózy, kardiovaskulární onemocnění (hypertenze), šedý zákal, poškození centrální nervové soustavy a s tím související mozková atrofie, deprese, atd. [12, 15]

Osteoporóza

Osteoporóza indukovaná GK je potenciální komplikací dlouhodobé terapie GK. Chronická léčba vede k rychlému a hlubokému snížení minerální hustoty kostí, přičemž největší úbytek kostní hmoty nastává během prvních 6-12 měsíců léčby. Přesný mechanismus způsobující toto poškození není doposud znám. Co však víme je, že GK snižují absorpci vápníku, zvyšují ztrátu renálního vápníku, snižují produkci pohlavních a růstových hormonů, indukují ztrátu svalstva a modulují signalizaci RANKL/OPG, NF- κ B a AP-1 v kostech. Bylo prokázáno, že perorální dávky prednisonu až 2,5 mg / den způsobí potlačení sérového osteokalcinu, což je marker tvorby kostí. GK dále také inhibují expresi

kolagenu I a redukuje preosteoblastickou replikaci. Konečně GK podporují apoptózu osteoblastů a osteocytů. Naštěstí v dnešní době máme prostředky na prevenci proti osteoporóze způsobené těmito léčivými a to použitím vápníku, vitamínu D a specifických osteotropních činidel (biofosfonáty). [14]

Kardiovaskulární onemocnění

Hypertenze je s největší pravděpodobností způsobena retencí tekutin v důsledku mineralokortikoidního účinku. Je to závislé na dávce a je méně pravděpodobné, že se to bude vyskytovat u střední nebo nízké dávky. Dále může záležet na citlivosti pacienta a různých faktorech, jako je počáteční krevní tlak, příjem soli ve stravě, renální hmota. Pokud nastane systémové užívání GK během těhotenství, můžou nastat epigenetické účinky vedoucí k hypertenzi dospělých v příští generaci. [13]

U nízké dávky GK je možný předčasný vznik aterosklerózy. Tento jev se ale velice špatně zkoumá a dokazuje, jelikož některé studie prokazují, že GK mohou zvrátit nepříznivé změny lipidů. [14]

Účinky na gastrointestinální trakt

GK jsou podstatně méně toxické pro horní cesty gastrointestinálního traktu (GIT) ve srovnání s nesteroidním antiflogistikem (NSAID). Pokud GK nezávisle zvyšují riziko gastrointestinálních událostí (např. gastritida, ulcerace, krvácení), je účinek mírný. Existují také zmínky o ruptuře střeva a pankreatitidě přisuzované nízké dávce GK. Kombinací GK s NSAID u roztroušené sklerózy bylo prokázáno, že spojení těchto dvou léčiv znamená v mnoha případech zvýšené riziko nežádoucích účinků pro GIT. Tento průkaz byl potvrzen v rozsáhlé studii založené na britské databázi General Practice Research Database. [14]

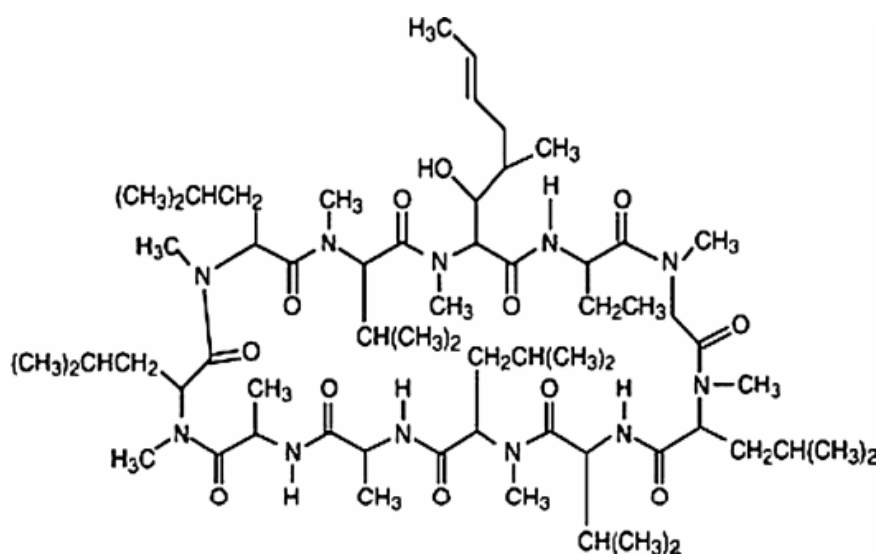
1.2 Inhibitory kalcineurinu

Do této kategorie kalcineurinových inhibitorů (CNI) patří cyklosporin A a takrolimus. Cyklosporin A byl prvním léčivem, které bylo schopné selektivně působit na T-buňky. Následně byl vyvinut další lék z této kategorie a to takrolimus, který byl alternativou cyklosporinu A při transplantacích. Obecně kalcineurinové inhibitory již od 80. let pomáhají svými vlastnostmi k úspěšným orgánovým transplantacím a to zejména při transplantacích ledvin. Postupem času bylo zjišťováno, že při kombinaci těchto inhibitorů spolu s mykofenolátem a prednisonem dochází k lepším a příznivějším

výsledkům u samotných transplantací. Další důležitá funkce těchto léčiv spočívá v prevenci akutní buněčné rejekce transplantovaných orgánů a také u nefrotického syndromu. Neměli bychom opomenout také uplatnění u autoimunitních onemocnění a to například revmatoidní artritidu a lupusovou nefritidu, kde se používá cyklosporin A. Funkce těchto léčiv je v tomto případě naprosto jasná a to udržet autoimunitní chorobu v remisi. Co jest ale u těchto léčiv znepokojivé, je jejich nefrotoxicita a náchylnost ke vzniku dlouhodobého renálního selhávání jak u ledvin transplantovaných, tak ledvin zdravých. [5]

1.2.1 Cyklosporin A

Cyklosporin A je z hlediska struktury cyklický undekapeptid. Tuto strukturu můžeme pozorovat na obrázku č. 3. V porovnání s lineárními peptidy se liší tím, že nemá volnou karboxy ani amino skupinu. Zásadou tohoto parametru je nerozpustný ve vodě, ale velmi dobře se rozpouští v tucích. Co ještě můžeme dodat je, že jeho cyklická struktura je velice stálá, avšak za působení silných kyselin a zvýšené teploty dochází k jejímu rozpadu. [5]



Obrázek 3: Chemická struktura cyklosporinu A [16]

1.2.1.1 Mechanismus účinku

Jedná se o molekulární mechanismus, který inhibuje aktivaci T-buněk. Při vazbě receptoru T-buněk s hlavním histokompatibilním komplexem peptidem dárce dojde ke spuštění dependentní intracelulární signalizace, která vede až k aktivaci kalcium/kalmodulin dependentní fosfatázy kalcineurinu. Tento postup směřuje až

k defosforylaci jaderného faktoru aktivujícího T-buňky (NFAT) povolující translokaci do jádra, kde narůstá vazba transkripčních faktorů pro geny, které kódují prozánětlivé cytokiny jakými jsou IL-2, IL-3, IL-4, INF- γ a TNF- α . Pokud se zaměříme na vztah mezi cyklosporinem A a revmatoidní artritidou, dojde zde ke kompletní či částečné blokaci tvorby IL-15 a IL-17. Jakmile CNI vstoupí do cytoplazmy, vytvoří se CNI komplex spolu s jejich imunofiliny. Cyklosporin A se váže na cyklofilin a tato vazba vede ke vzniku komplexu CNI-cyklofilin, který inhibuje kalcineurinovou aktivitu. To předchází translokaci NFAT do jádra a transkripci genů cytokinů. Výsledek celého mechanismu je takový, že CNI blokují tvorbu cytokinů jakým je IL-2 a dále inhibují aktivaci T-buněk a proliferaci. Cyklosporin A má lipofilní charakter a tudíž je schopen snadno procházet přes membrány a do tkání. [5]

1.2.1.2 Nežádoucí účinky

CNI jako každá jiná léčiva mají své nežádoucí účinky. Většina významných nežádoucích účinků je závislá na množství podání a na vztahu k místu, kde je množství kalcineurinu nejvyšší. Mezi tato místa patří mozek a ledviny. Při aplikaci cyklosporinu A dochází k nefrotoxicitě, která patří mezi hlavní nežádoucí účinky a to nejvíce po transplantacích. Mezi typické projevy patří, bolesti hlavy, tremor i nespavost a mezi méně obvyklé patří rozčilení, neklid, křeče a jiné. Dále je zde intersticiální fibróza a také obliterativní arteriolární změny, které vznikají důsledkem dlouhodobého užívání cyklosporinu A. Problémem je také hypertenze. Metabolické účinky obsahují diabetogenní efekt o různé citlivosti k diabetogennímu účinku kortikosteroidů. Další metabolické vedlejší účinky jsou například hyperkalemie a hyperurikemie. V poslední řadě se může vyskytovat hyperplazie dásní. [5]

1.2.2 Takrolimus

Takrolimus jinak také FK-506 patří mezi vysoce účinná imunosupresiva. Poprvé tato látka byla izolována v roce 1984 z japonské houby *Streptomyces tsukubaensis*. Strukturou se jedná o makrolidový lakton lipofilního charakteru. Strukturu můžeme pozorovat na obrázku č. 4. V léčivých přípravcích se vyskytuje jako monohydrát, též lipofilního charakteru. Látka je velmi dobře rozpustná v alkoholech, halogenovaných uhlovodících a v éteru, naopak špatná rozpustnost je ve vodě a v alifatických uhlovodících. Důležitý milník byl rok 1994, kdy Spojené státy schválily takrolimus a to k profylaxi orgánové rejekce u transplantace nejdříve jater a později ledvin. Další uplatnění pro toto

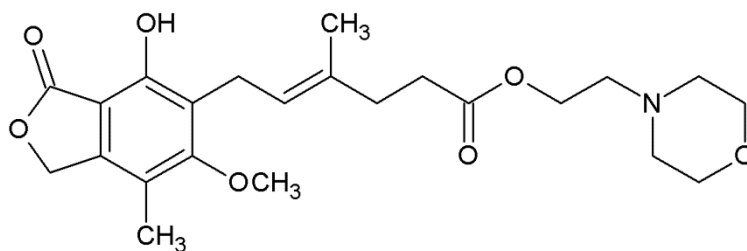
kontraindikátor. Tyto nežádoucí účinky jsou nespecifické a souvisí s intenzitou a délkou imunosuprese. Další nežádoucí účinek je replikace BK-viru, zde je riziko nefropatie a v neposlední řadě infekce cytomegalovirem a herpes virem. [5, 17]

Velké množství nežádoucích účinků je reverzibilních nebo reagují na snížení dávky podávaných léčiv. Při pozorování způsobu indikace se zdá, že pokud bude léčivo podáváno perorálně, bude výskyt nežádoucích účinků nižší, než při podání intravenózním. Nejčastěji mezi nežádoucí účinky vyskytující se u více než 10 % pacientů patří nefrotoxicita, neurotoxicita, diabetes mellitus, kardiovaskulární toxicita, hypertenze, poruchy a infekce GIT. Velmi často je spojován také s kožními vyrážkami, průjmem či nauzeou, jaterními poškozeními, hypomagnezemií, alopecií a s myelosupresí. [5, 17]

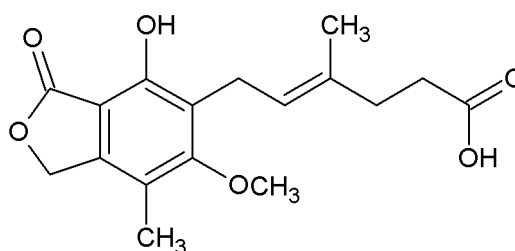
1.3 Antiproliferační látky

1.3.1 Mykofenolát mofetil

Mykofenolát mofetil (MMF, obr. 5) je biologicky neaktivní esterová sloučenina, která je v lidském organismu metabolizována za vzniku aktivního léčiva kyseliny mykofenolové (MPA, obr. 6). Samotný metabolismus můžeme pozorovat na obrázku č. 7. Reakce probíhá díky působení esterázy po perorálním podání. Jedná se o inhibitor inosinmonofosfát dehydrogenázy (IMPDH), což je enzym omezující rychlost nově syntetizovaných guaninových nukleotidů. Na této reakci jsou převážně závislé B-lymfocyty oproti jiným buňkám. MPA je navíc pětinašobně účinnějším inhibitorem isoformy IMPDH typu II, která je exprimována v aktivovaných lymfocytech, než isoformy typu I, která je exprimována ve většině typů buněk. Proto má MPA silnější cytostatický účinek na lymfocyty než na jiné typy buněk. Takto je stručně popsán hlavní mechanismus, kterým MPA vykazuje imunosupresivní účinky. MMF je s největší pravděpodobností účinný díky jeho charakteru působnosti na B-buňky. Od chvíle, kdy byla samotná látka uvedena do praxe, MMF nahradil azatioprin při orgánových transplantacích. Jeho využití je možné také zaznamenat u těžkých forem systémového lupu, jakým je lupus erythematosus. Dále jeho popularita stoupla, když začal být úspěšně používán jako steroid-šetřící látka v udržovací fázi mnoha imunitních poruch, hlavně při vaskulitidě. [5, 19, 20]



Obrázek 5: Chemická struktura MMF [20]

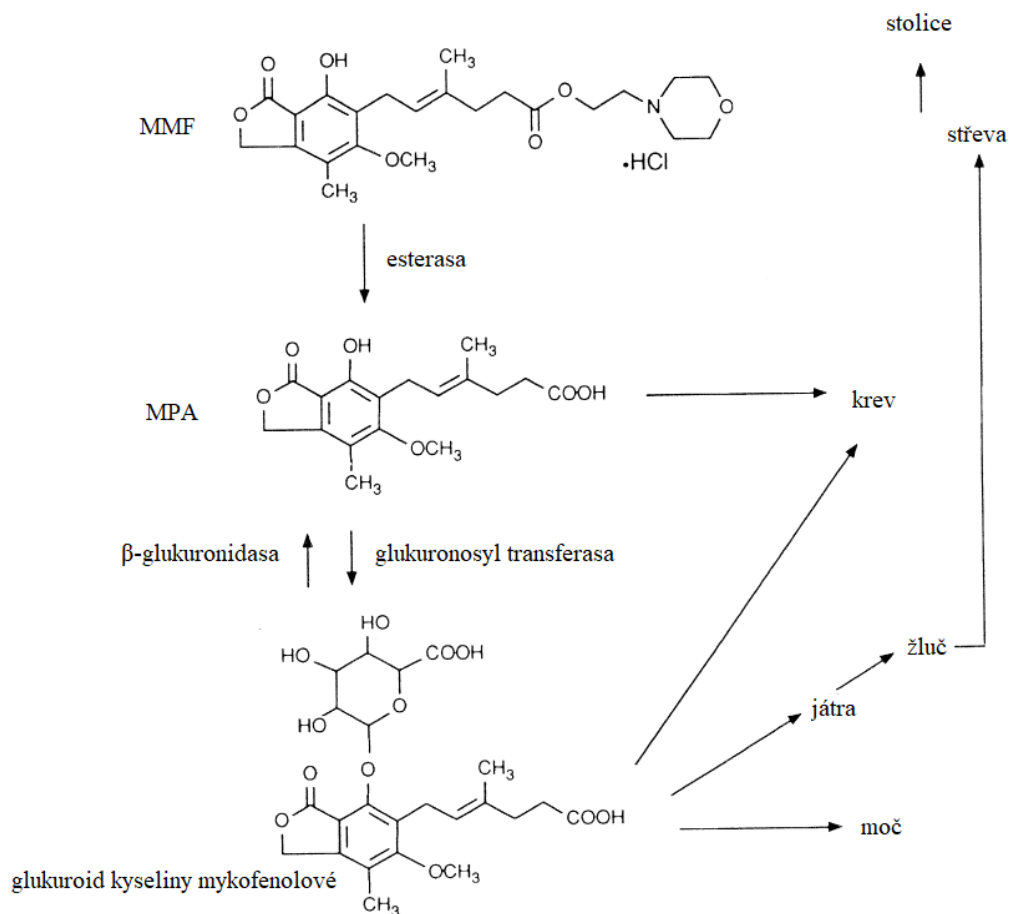


Obrázek 6: Chemická struktura MPA [20]

1.3.1.1 Mechanismus účinku

MMF je konvertován v játrech na aktivní látku, kterou je MPA, jejímž cílem je IMPDH, což je enzym limitující rychlostně *de novo* syntézu guanosinových nukleotidů nezbytných a esenciálních pro syntézu DNA. U větší části buněk mohou být guanosinované nukleotidy tvořeny dvěma cestami, a to IMPDH a náhradní cestou. Důležité u lymfocytů je, že neovládají náhradní cestu, tudíž zablokováním IMPDH cesty dojde k selektivní blokáde při proliferaci lymfocytů. [5, 19]

Jsou zde důležité 2 enzymy, kdy typ I byl objeven z větší části na lymfocytech klidového stádia a typ II je možné nalézt na aktivovaných T-lymfocytech, jelikož se zde indukují a jsou dále exprimovány. Za zmínku stojí další mechanismy, kdy MPA může indukovat apoptózu aktivovaných T-lymfocytů, což může eliminovat klony buněk reagujících na antigenní stimulaci. Další je založen na depleci guanosinových nukleotidů, kdy MPA potlačuje glykosylaci a expresi některých adhezivních molekul, čímž se snižuje hromadění lymfocytů a monocytů do míst zánětu i štěpu. V celkovém shrnutí MMF, respektive jeho metabolit MPA, potlačuje T-lymfocytární reakce na alogenní buňky a jiné antigeny. Dochází k potlačení primární, nikoli sekundární protilátkové reakce. [5, 19]



Obrázek 7: Metabolismus MMF [19]

1.3.1.2 Antimikrobiální aktivita MPA a MMF

Za zmínku stojí jejich antimikrobiální aktivita, kdy MPA je o mnohem účinnější inhibitor IMPDH eukaryotů než-li u prokaryotů. Proto se u této sloučeniny očekává, že bude slabě inhibovat replikaci bakterií, alesilně působit proti prvokům a houbám. Deplecí dGTP má MPA také synergický účinek s inhibitory virové polymerázy a reverzní transkripce. U parazitů byla prokázána účinná aktivita a to u *Leishmania tropica*, což je prvok způsobující kožní leishmaniózu, dále *Tritrichomonas foetus* (chronický průjem u koček) a *Eimeria tenella* (napadá převážně slepé střevo kura domácího). [19]

U viru HIV byla také prokázána účinnost MPA, kdy aktivace proviru v lymfocytech je korelována s jejich proliferací, takže lze očekávat, že cytostatický účinek MPA bude mít určitou anti-HIV aktivitu. Dále v roce v roce 1995 bylo zjištěno, že MPA v klinicky dosažitelných koncentracích 1-10 mM potlačuje replikaci HIV. [19]

Je zde také závislost na viru HSV, kdy samotné MPA má slabou aktivitu proti tomuto viru, ale potencuje anti-HSV aktivity acykloviru, gancikloviru a pencikloviru *in vitro* a na pokusných zvířatech. [19]

1.3.1.3 Nežádoucí účinky

Mezi specifické nežádoucí účinky u MMF patří průjem, který je závislý na dávce, dále se často vyskytuje nauzea, zvracení spolu s bolestí břicha. Může docházet k útlumu kostní dřeně. Dokonce byl zaznamenán zvýšený výskyt virových infekcí, jakými jsou cytomegalovirus, candida a herpes simplex a to při některých klinických pokusech. Nežádoucí účinky najdeme také u kombinace MMF spolu s cyklosporinem a kortikosteroidem zahrnující průjem, leukopenii, sepsi a zvracení. Vyskytují se také vývoje lymfomů a malignit, především kůže. Za časté příznaky toxicity můžeme považovat suchý kašel, dušnost a může dojít až ke vzniku bronchiectázií, což jsou chronická plicní onemocnění. [5, 21]

1.4 Antimetabolity

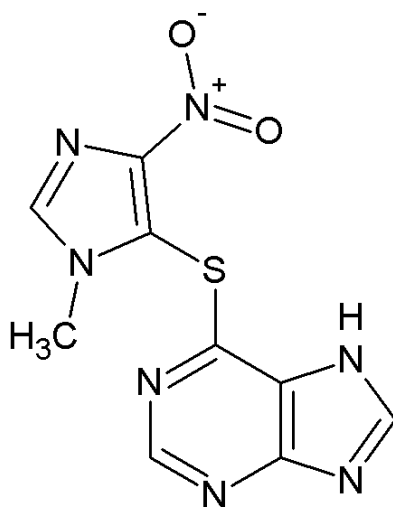
Antimetabolity představují relativně velkou skupinu protinádorových činidel, která se sice strukturálně podobají přírodním substrátům, ale liší se v tom, že dokáží interferovat s jejich metabolismem, čímž inhibují esenciální metabolické cesty. Hlavní funkcí těchto látek je narušení syntézy nukleových kyselin tím způsobem, že interferují s produkcí hlavního metabolitu nebo nahrazují přírodní metabolit. Podobně jako většina cytotoxických látek jsou antimetabolity toxické pro normální buňky, zejména pro ty které se nacházejí v kostní dřeni a gastrointestinálním traktu. [22, 23]

1.4.1 Azathioprin

Azathioprin (AZA) patří mezi v současnosti nejstarší farmakologicky používaná imunosupresiva. Obecně se jedná o imunosupresivní antimetabolitové proléčivo. Chemickou strukturu si můžeme prohlédnout na obrázku č. 8. Zpočátku se vyvinulo jako dlouhotrvající proléčivo imidazolylového derivátu 6-merkaptopurinu (6-MP), ale bylo náhle zjištěno, že má příznivější terapeutický index. Mezi první uplatnění 6-merkaptopurinu patřilo vyvolání remise v akutní leukémii v dětství a později, že samotný azathioprin může prodloužit přežití ledvinového aloštěpu. Za posledních 50 let se azathioprin používá nejčastěji při léčbě hematologických malignit, revmatologických

onemocnění, transplantací pevných orgánů a zánětlivých střevních onemocnění, kam patří Crohnova choroba a ulcerózní kolitida. [24, 26]

Léčivo je purinový analog a mechanismus účinku je na úrovni DNA. Jak *in vitro* tak *in vivo* je azathioprin metabolizován na 6-MP prostřednictvím redukce glutathionem a jinými sloučeninami obsahujícími sulhydryl. Azathioprin může být začleněn do replikující se DNA a může také blokovat *de novo* cestu syntézy purinu. Je to právě tento děj, o kterém se předpokládá, že přispívá k relativní specifitě vůči lymfocytům. Doposud žádné laboratoře ani klinické nálezy nevysvětlily ony účinky na blokádu replikace DNA. [24]



Obrázek 8: Chemická struktura azathioprinu [25]

1.4.1.1 Mechanismus účinku

Azathioprin antagonizuje metabolismus purinu a může inhibovat syntézu DNA, RNA a proteinů. Může také ovlivňovat buněčný metabolismus a inhibovat mitózu. Jeho mechanismus účinku je pravděpodobně způsoben zabudováním thiopurinových analogů do struktury DNA, což způsobuje ukončení řetězce a cytotoxicitu. [26]

Metabolizmus azathioprinu začíná v játrech dříve, než začne být aktivní. Jednou metabolickou cestou je jeho konverze na 6-merkaptopurin redukcí glutathionem, přičemž aktivním metabolitem je 6-thioinosinová kyselina. Před vznikem aktivního metabolitu je 6-MP redukcí konvertován na kyselinu 6-thiomočovou a látky, jakými jsou 6-metylmerkaptopurin a 6-thioguanin. Azathioprin je také metabolizován jinými cestami nezávisle na 6-MP. Dále pak dojde k inhibici syntézy DNA a RNA tím, že aktivní metabolit zabraňuje interkonverzi mezi prekurzory syntézy purinu a tím blokuje

metabolickou cestu *de novo* purinové syntézy. Následně azathioprin a 6-MP blokují proliferaci lymfocytů *in vitro* a produkci IL-2, což je pravděpodobně důležitý aspekt jeho antiproliferačního účinku. [18, 27]

Nedávné poznatky naznačují, že AZA interferuje se stimulací CD28 aloreaktivních T-lymfocytů. Signalizace CD28 receptoru je mediována fosfatázami, mezi které patří GTP-áza Rac1. Zde hraje důležitou roli metabolit 6-MP a to je 6-TG, který vede k tvorbě 6-thioguanintrifosfátu. Tato látka se váže na GTP-ázu Rac1 v místě GTP. Tím dochází k blokádě Rac1 a mění se stimulační signál CD28 na signál apoptózy, čímž dojde k ničení aktivovaných T-lymfocytů. Důležitou roli zde hraje také enzym xanthinoxidáza, která má důležitou úlohu v katabolismu 6-MP. Pro tento enzym je zde ale jedno úskalí a to takové, že v případě kombinace azathioprinu s allopurinolem může dojít k inhibici jeho dráhy. Z tohoto důvodu se při této kombinaci musí nezbytně snížit dávkování azathioprinu. Tato inhibice snižuje nejen imunosupresivní účinnost, ale také hlavní vedlejší účinek a to deprese dekubitu. V poslední řadě jsou metabolity vylučovány močí a to v neaktivní podobě. Díky tomuto stavu při nefunkčnosti ledvin nemusíme snižovat dávku. Co může ale nastat, je polymorfismus u enzymu thiopurin S-methyltransferázy, což je polymorfní enzym podílející se na biotransformaci azathioprinu, který katalyzuje S-methylaci 6-MP a azathioprinu. To může vést až ke vzniku myelotoxicity a leukopenie. [18, 27]

1.4.1.2 Nežádoucí účinky

Hlavní komplikací léčby je aplazie kostní dřeně, která se nejčastěji vyskytuje jako leukopenie. V této souvislosti se může vyskytovat závažnější komplikace a to těžká degenerace kostní dřeně, kde může být přítomna anemie a trombocytopenie. Při leukopenii pod $3 \times 10^9/l$ se dávka snižuje. V souvislosti byla také pozorována megaloblastická anémie, hepatotoxicita, dysfunkce jater a cholestatická žloutenka. Dalším vlivem je vypadávání vlasů a to v případě, že se používá v terapeutických dávkách. Jako u většiny imunosupresiv je zde zvýšené riziko rozvoje infekčního onemocnění a vyšší výskyt malignit a to převážně hematologických a lymforetikulárního systému. [18, 27]

1.5 Inhibitory mTOR

mTOR je proteinkináza, řídící buněčný růst a proliferaci. Místo působení se nachází v katalytické podjednotce dvou odlišných multiproteinových komplexů: mTOR komplexy 1 a 2 (mTORC1 / 2). Každý hraje klíčovou roli v buněčné regulaci. Signalizace mTORC1

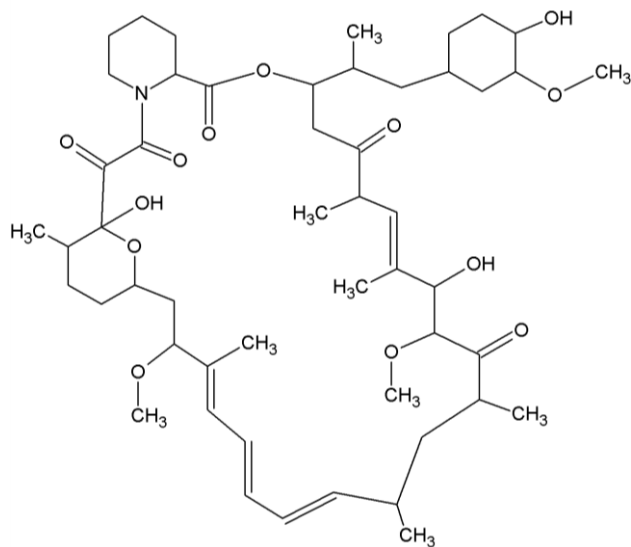
je aktivována několika onkogenními signálními cestami a je proto hyperaktivní u většiny rakovin. Z tohoto důvodu inhibice signalizace mTORC1 přitahovala velkou pozornost jako protinádorová terapie. Nicméně pokrok v používání inhibitorů signalizace mTOR jako terapeutických činidel v onkologii byl omezen z důvodu inhibice pouze některých účinků mTOR. Mezi tyto látky patří například sirolimus (jinak také rapamycin) a everolimus. [28, 29]

mTORC1 řídí mnoho anabolických drah, včetně syntézy proteinů, produkce ribozomů, lipogeneze a syntézy nukleotidů. Mnoho informací o této látce víme díky sirolimu, jenž je snadno dostupný v přírodě a je inhibitorem pro tento komplex. Všechny zmíněné děje jsou velice důležité pro růst buněk a tkání. Jeho další funkce je potlačování klíčových katabolických procesů, autofagie a produkce lysozomů související s autofagií, což je pohlcování proteinů pomocí lysozomů. [28, 30]

mTORC2 se liší od mTORC1 strukturou, která zahrnuje PKB, což je proteinkináza podílející se na anabolickém působení signalizace například při aktivaci mTORC1 nebo u přežití buněk. Vzhledem k nedostatku specifického inhibitoru je o kontrole mTORC2 známo mnohem méně než o mTORC1. S čím je ale často spojován, je dráha PI3K, která je často dysregulována a to u rakoviny prsu, plic a prostaty. Může to být způsobeno například ztrátou proteinu potlačující nádory PTEN. [28]

1.5.1 Sirolimus

Sirolimus spadá do skupiny imunosupresivních léčiv nazývaných inhibitory mTOR. Jeho strukturní vzorec je možné vidět na obrázku č. 9. Tato látka byla objevena jako antifungální metabolit produkovaný *Streptomyces hydropiscus* ze vzorku půdy Velikonočního ostrova. Následně bylo zjištěno, že má imunosupresivní a antiproliferační účinky, což vyvolalo zájem o identifikaci způsobu účinku. Ukázalo se, že je účinným inhibitorem S6K1, serin/threonin kinázy aktivované různými agonisty a je důležitým mediátorem PI3K. Přibližně od roku 2000 se začal v medicíně aplikovat a to jako imunosupresivum pro blokaci T-buněk pro zamezení odmítnutí štěpu ledvin. Dnes se tento lék užívá při léčbě karcinomů a to pokročilého karcinomu ledvin, karcinomů pankreatického původu, karcinomu žaludku a mnoha dalších. Mezi další uplatnění patří léčba lymfangioleiomyomatózy. [5, 28, 31, 32]



Obrázek 9: Chemická struktura sirolimu [32]

1.5.1.1 Mechanismus účinku

Sirolimus tvoří vazbu na intracelulární imunofilin FK506 vázající protein FKBP12 stejně tak jako takrolimus. Rozdíl od takrolimu je takový, že neinhibuje kalcineurinovou aktivitu. Komplex sirolimus/FKBP12 je vysoce specifickým inhibítorem mTOR a nemá žádný vliv na aktivitu kalcineurinu. mTOR je popisován jako serinová/treoninová kináza zapojená do signalizační dráhy PI3K/PKB. Závěrem této reakce je blokáda T-buněk, B-buněk a jejich aktivity zabráněním postupu při buněčném cyklu a to z fáze G1 do fáze S inhibicí kinázy p70S6, která má též za následek blokaci indukce IL-2 a IL-15. Samotný účinek sirolimu nastává v pozdější fázi alloimunitní reakce než při použití inhibitorů kalcineurinu. Vedle jejich zmíněného imunosupresivního účinku je důležité zmínit, že navíc mTOR inhibitory inhibují fibroblastový růstový faktor nutný pro obnovu tkání a také inhibuje produkci protilátek. [5, 32, 33]

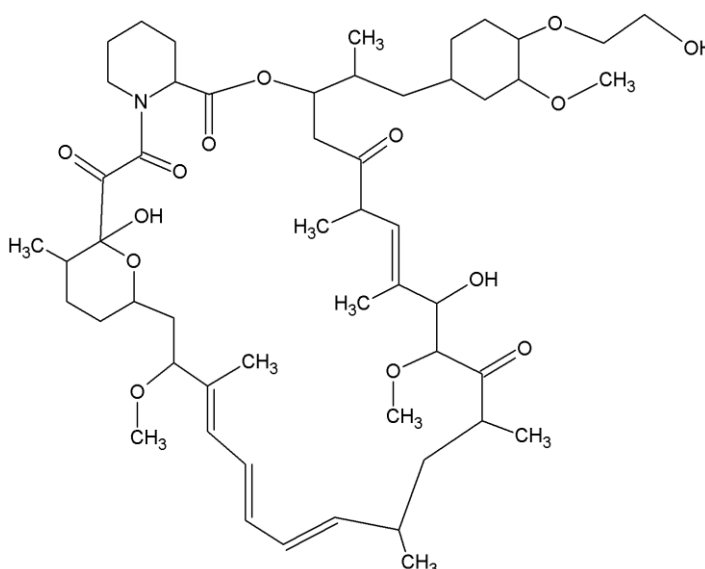
1.5.1.2 Nežádoucí účinky

Vedlejší účinky se zde mohou dělit na hematologické, metabolické, dermatologické a účinky spojené s inhibicí růstového faktoru. Mezi nejběžnější metabolické nežádoucí účinky patří hyperlipidemie. Zde se jedná o nárůst cholesterolu a to v séru (celkového, HDL i LDL). Navzdory zvýšenému množství lipidů a triglyceridů zvířecí modely ukázaly, že sirolimus snižuje vznik aterosklerózy. Jako další se zde vyskytuje cytopenie v důsledku působení sirolimu na buněčný cyklus a buněčnou proliferaci. Cytopenie se může týkat všech 3 krevních elementů a to erytrocytů, leukocytů a trombocytů. Za zmínku také stojí

zhoršené hojení ran z důvodu snížení syntézy RNA kolagenu typu 1 a snížení proliferace fibroblastů. Dále se může vyskytovat proteinurie, afty, kožní vyrážky a akné. [5, 33]

1.5.2 Everolimus

Jedná se o 2-hydroxyethylový derivát sirolimu a poprvé byl zaveden na evropský trh v roce 2003. Jeho chemická struktura je uvedena na obrázku č. 10. Everolimus má větší polaritu než sirolimus a jeho samotný vývoj byl zaveden z důvodu zlepšení farmakokinetických vlastností sirolimu, zejména pro zvýšení jeho perorální biologické dosažitelnosti. Největší rozdíl mezi everolimem a dalšími deriváty sirolimu je ve výhodnějších fyzikálně chemických vlastnostech. Stejně tak jako u sirolimu se jedná o imunosupresivum a má protinádorové účinky. [33-35]



Obrázek 10: Chemická struktura everolimu [36]

1.5.2.1 Mechanismus účinku

Jelikož se jedná o derivát sirolimu mají podobný mechanismus účinku. Nejdříve dojde na vazbu imunofilinu FKBP-12 a tento komplex everolimus/FKBP12 je vysoce specifický inhibitor IL-2 a IL-15 indukci proliferace T a B-buněk prostřednictvím inhibice p70S6 kinázy. Touto cestou dojde k blokaci buněčného cyklu z fáze G1 do S a tím se blokuje signál 3 aktivace buněk. [5, 33]

1.5.2.2 Nežádoucí účinky

Mezi nežádoucí účinky spojené s tímto léčivem patří leukopenie, trombocytopenie, alergické reakce a infekční komplikace. Byl zaznamenán také výskyt hypertenze, poškození jater a ledvin. [5, 33]

Nejčastější vedlejší účinek je, stejně jako u jiných mTOR inhibitorů, hyperlipidémie a hypertriglyceridemie. Pokud se jedná o hyperlipidémii, léčba probíhá za indikace statinem a pokud jde o hypertriglyceridemii, aplikují se tablety obsahující rybí tuk. Dále bychom mohli pokračovat jako u nežádoucích účinků sirolimu a to proteinurií a zhoršeným hojením ran. [33]

1.6 Monoklonální protilátky

Monoklonální protilátky (mAbs) jsou protilátky, které jsou získány z klonální populace jedné plazmatické buňky. Tyto protilátky vznikají z tzv. hybridomů. Z počátku tato populace buněk vzniká fúzí B-lymfocytu a myelomové buňky. Jakmile dojde ke spojení těchto buněk, vznikne hybridní buňka, jenž má schopnost tvořit a produkovat shodné molekuly daného imunoglobulinu. Po rozmnožení hybridní buňky vzniká hybridom, který jak už bylo zmíněno výše, produkuje specifické mAbs. Monoklonální protilátky (mAbs) mají ve srovnání s polyklonálními protilátkami individuálně lépe definovanou specifitu. Jsou daleko více standardizované a nenacházíme u nich vedlejší proteiny. Jakmile se objeví nové mAbs, jsou navrženy tak, aby se snižovalo riziko jejich stimulace odpovědi na lidské protimyšší protilátky. Zmíněná stimulace může být tím faktorem, který omezí účinnost terapie mAb a následně znemožní opakované podání. Z větší části u mAbs se jedná o IgG, které obsahují různé izotopy s propůjčenými vlastnostmi. Použití myších protilátek proti CD3 znakům T-lymfocytů je možné pozorovat především u léčby profylaxí akutních rejekcí. [39-41]

Monoklonální protilátky jsou klasifikovány dle koncovky:

- ximab – chimerické protilátky (např. rituximab)
- zumab – humanizované protilátky (např. alemtuzumab)
- umab – plně humánní protilátky (např. adalimumab)
- cept – produkt fúze solubilního receptoru a Ig (např. etanercept) [18]

1.6.1 Muromonab-CD3

Jedná se o první terapeuticky užívanou mAb myšního původu, která byla zavedena do klinické praxe v roce 1987. Obecně jde o biochemicky purifikované IgG2 imunoglobuliny skládající se ze dvou řetězců lišící se molekulovou hmotností. [40, 41, 43]

1.6.1.1 Mechanismus účinku

Protilátka je zaměřená především proti lidským diferenciálním znakům T-lymfocytů, kde se váže na vnitřní podjednotku CD3 receptoru nacházející se na jejich samotném povrchu a zabraňuje tak vazbě buněk předkládajících antigen. Tento komplex je nezbytně důležitý pro přenos intracelulárního signálu, který vyplyne ze spojení TCR s antigenem. Tímto postupem dále dochází k opsonizaci T-lymfocytů a jejich postupným odstraňováním pomocí retikuloendoteliálního systému. Koncem tohoto procesu je modifikace imunitní odpovědi, kdy je zde pokles zralých T-lymfocytů (CD3+) i pomocných (CD4+) a cytotoxických (CD8+) lymfocytů. Lymfocyty obsahující CD3 znaky úplně vymizí a začnou se znovu vyskytovat až během týdne po ukončení léčby. Z hlediska využití, je možné jej hledat například u prevence, či léčby akutní rejekce transplantovaného orgánu a je používán také při indukci imunosuprese. [40, 41, 43]

1.6.1.2 Nežádoucí účinky

Mezi nejzávažnější vedlejší účinky patří cytokinový syndrom, který je zapříčiněn uvolněním nadměrného množství cytokinů (IL-2, TNF- α , INF γ) z rozpadlých lymfocytů. Je to zapříčiněno počáteční vazbou léčiva na CD3, kdy dojde k aktivaci T-buněk a to vede až k lýze buněk za masivního uvolnění cytokinů. Mezi jeho typické projevy patří horečka, třesavka, nauzea, dušnost, zvracení a průjem. Tento stav může nastat do 6 hodin po podání injekce a jde mu zabránit preventivním podáním antihistaminik, antipyretik a kortikosteroidů, jakým je například methylprednisolon. Velkou komplikací při léčbě je také vznik plicního edému a to u hyperhydratovaných pacientů. Příčina vzniku tohoto nežádoucího účinku je spojována s cytokinem TNF- α a zadržováním neutrofilů v plicích. Následně může vzniknout akutní respirační selhání, aseptická meningitida a vzácně také trombóza graftu. [41- 45]

1.6.2 Basiliximab

Tato monoklonální protilátka je specifická tím, že je chimérické povahy a je produkována rekombinantní DNA technologií. Zmíněná technologie se zabývá složením

lidského konstantního fragmentu a myšního variabilního fragmentu. Procentuální složení činní 75 % lidské protilátky a 25 % myší protilátky. Cílem působení této protilátky je alfa řetězec receptoru pro IL-2, který je možné zaznamenat na povrchu T-lymfocytů po následné aktivaci antigenem. Funkce je tedy blokace tohoto receptoru a to vede až k inhibici proliferace T-lymfocytu. Blokáda samotného děje vydrží 2-4 týdny. Basiliximab je indikován při profylaxi akutní rejekce v indukčních režimech u nemocných po transplantaci ledvin, kdy je kombinován spolu s cyklosporinem a kortikoidy. Zde funguje jako imunosupresivum. Výhodou oproti předchozí mAb je, že nevyvolává příznaky cytokinového syndromu. Mezi další obecné výhody patří nezvyšující se výskyt infekčních ani lymfoproliferativních onemocnění a nebyly doposud uvedeny žádné lékové interakce. Obdobou této látky je daklizumab a to z hlediska mechanismu účinku. [40-42]

1.6.2.1 Mechanismus účinku

Mechanismus účinku je založen na inhibici proliferace asociovaných buněk, kdy se v tomto případě jedná o T-lymfocyty. Samotná proliferace aktivovaných T-lymfocytů je nezbytný krok ve vývoji akutní transplantace z kategorie rejekcí. Spuštění proliferace nastane tehdy, když se IL-2 váže k subunitnímu receptoru daného cytokinu přítomného na povrchu těchto buněk. Z tohoto děje vyplývá samotná funkce mAb. Basiliximab se spolu s vysokou specifitou a afinitou váže na podjednotku α (také známou jako CD25) receptoru IL-2. Jakmile vzniká komplex receptor-basiliximab na T-lymfocytech nastává situace, kdy samotné receptory nejsou k dispozici pro vazbu IL-2. Tímto způsobem je inhibována proliferace T-lymfocytů vedoucí ke snížené funkci imunitního systému. [46, 47]

1.6.2.2 Nežádoucí účinky

Doposud nebyly prokázány ani zaznamenány případné typické nežádoucí účinky spojované s aplikací mAb basiliximab. [47, 48]

1.7 Specifické monoklonální protilátky (anti TNF- α monoklonální protilátky)

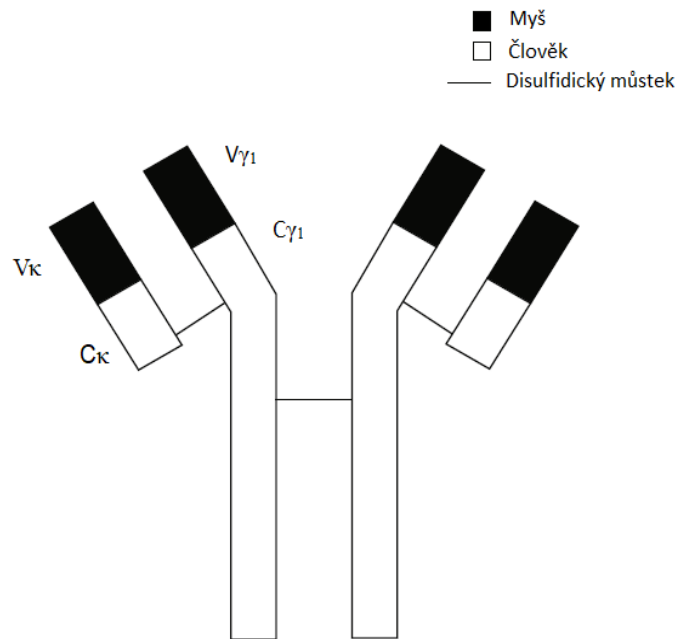
Jedná se o specifické monoklonální protilátky působící proti TNF- α , který je jedním z hlavních prozánětlivých cytokinů. Do této kategorie řadíme látky, jakými jsou infliximab, u které se jedná o první klinicky hodnocenou protilátku tohoto typu, dále sem patří adalimumab a solubilní receptor etanercept, který blokuje TNF- α pomocí neutralizace. [4]

1.7.1 Infliximab

Jedná se také o chimerickou protilátku skládající se ze 75 % lidského a 25 % myšího proteinu. První schválená aplikace proběhla v roce 1998 pro pacienty, kteří neměli odezvu na jiná protizánětlivá léčiva. Tato specifická monoklonální protilátka proti TNF- α patřila mezi první klinicky hodnocené protilátky této kategorie. Léčba se začala velmi rychle osvědčovat u pacientů trpících revmatoidní artritidou v kombinaci s metotrexatem, což je protinádorové léčivo ze skupiny cytostatik. Zvolená kombinace se využívá z důvodu pohotového účinku. Infliximab je v tomto případě indikován k redukci symptomů onemocnění v případě, kdy předchozí léčba jinými léky nebyla dostačující. Dále se setkáváme s indikací u pacientů trpících ankylozující spondylitidou se závažnými axiálními symptomy odolávající konvenční terapii. [49-51]

Veliký pokrok byl zaznamenán v terapii Crohnovy choroby, i když blokáce TNF- α zasahuje pouze jeden z mnoha faktorů způsobující vznik zánětu. Lidé postižení Crohnovou chorobou a s tzv. fenotypem ulcerózní kolitidy reagují hůře na danou terapii. Po opakovaném podání dochází k tvorbě lidských protichimerických protilátek, které mohou vést až k vyvolání alergicko-toxických projevů nebo snížit účinnost léčby. Jakmile se začne podávat infliximab, musíme věnovat pozornost kontraindikacím, mezi které patří sepsa, abscesy a oportunní infekty. Z tohoto důvodu je třeba před samotnou léčbou podrobně zaznamenat infekce včetně tuberkulózy (TBC), na kterou se provede screeningové vyšetření. Pokud se vyskytne inaktivní forma tuberkulózy je nezbytné před zahájením samotné léčby provést profylaktickou antituberkulózní terapii. [49, 50, 52]

Na následujícím obrázku č. 11 je možné pozorovat schématický diagram infliximabu. Jak už bylo zmíněno, jedná se o chimerickou monoklonální protilátku proti TNF- α skládající se z myšího a lidského proteinu. Infliximab je konstruován spojením variabilního (V) kappa (κ) lehkého a gama γ_1 těžkého řetězce myší anti-lidského TNF- α ke konstantní (C) lidské κ lehkého a γ těžkého řetězce, které jsou společně spojeny disulfidickými vazbami. [53, 54]



Obrázek 11: Schématický diagram infliximabu [54]

1.7.1.1 Mechanismus účinku

Hlavním mechanismem účinku infliximabu je inhibice TNF- α . Vazba probíhá jak na rozpustné, tak na transmembránové formy TNF- α *in vitro* v pikomolární koncentraci. Vazba na rozpustný TNF- α vede ke ztrátě biologické aktivity, zatímco vazba na transmembránový TNF- α vede k cytotoxicitě komplementu. Obecně se jedná o děj, kdy se tato protilátka při vzniku potencionálního zánětu naváže na cytokiny typu TNF- α a tím zabrání aktivaci buněčné imunity. Co se týká průkazu *in vivo*, tak doposud nebyl popsán relevantní mechanismus pro samotný infliximab. [53-55]

1.7.1.2 Nežádoucí účinky

Lymfom

Mezi nežádoucí účinky infliximabu patří lymfomy. Společnost FDA (Food and Drug Administration) v roce 2002 zaznamenala výskyt lymfom u 8 pacientů užívající infliximab. Další předpoklady vedly k tomu, že použití léčiva u Crohnovy choroby může způsobit až pětinasobek zvýšení rizika výskytu lymfomu ve srovnání s neimunosupresivním použitím. Další případy nastaly při léčbě pacientů s refrakterní dermatomyositidou, kdy se začal vyskytovat non-Hodgkinův lymfom. [56, 57]

Non-lymfom rakoviny

Doposud neexistuje žádná jasná vazba mezi použitím infliximabu a rozvojem nelymfomového karcinomu kůže. Ve studiích došlo k zaznamenání výskytu rakoviny, včetně karcinomu prsu, melanomu, rektálního adenokarcinomu a karcinomu bazálních buněk. Tato onemocnění však nepřekračovala míru výskytu v běžné populaci. Co se často objevovalo po léčbě, byla akutní leukémie a u revmatoidní artritidy docházelo v některých případech ke vzniku akutního vývoje mnohočetných karcinomů dlaždicových buněk. [58, 59]

Infekce

U pacientů užívající infliximab hrozí zvýšený výskyt infekcí. Hluboké houbové a mykobakteriální infekce slouží jako kontraindikace pro dané léčivo, tudíž na místech kde jsou tyto infekce endemické, by mělo vyvolat opatrnější užívání. Infliximab byl také spojen s virovými infekcemi, kam patří Kaposiho sarkom, herpes zoster a diseminovaný cytomegalovirus. Z hlediska bakteriálních onemocnění byly evidovány infekce *Legionella*, *Moraxella catarrhalis* a rod *Listeria*. [60-62]

Kardiovaskulární onemocnění

Existují důkazy, že léčba infliximabem může zvýšit pravděpodobnost srdečního selhávání. Ve studii nežádoucích účinků infliximabu, se účastnilo 150 pacientů se středně těžkým až těžkým městnaným srdečním selháním (CHF). Tito pacienti byli léčeni třemi infuzemi po dobu 6 týdnů. V jedné se nacházelo 5 mg léčiva, v další 10 mg a v poslední se nacházelo placebo. U pacientů s dávkou 10 mg se výsledky daleko zhoršily. Výsledná zpráva ukázala, že 7/101 pacientů léčených infliximabem zemřelo oproti žádnému ze 49 pacientům užívajících placebo. Díky tomuto výzkumu byl příbalový leták změněn tak, aby odrazil informaci o nebezpečném použití pro pacienty trpící středně těžkým nebo těžkým CHF. Pacienti s mírným CHF mohou užívat infliximab, ale pouze se zvýšenou opatrností. Závažnost CHF dělíme do 5 tříd dle NYHA (New York Heart Association), kdy I-II třída je mírné CHF a III-V třída je střední až těžká CHF. [63, 64]

1.7.2 Adalimumab

Po infliximabu následovala tato protilátka adalimumab sloužící hned od počátku jako lék pro revmatoidní artritidu. Jedná se o plně humánní (protilátky čistě lidské povahy)

IgG1 monoklonální protilátku vážící se přímo na TNF- α cytokin, který byl rozpoznán jako klíčový faktor při vzniku a progresi změn při revmatoidní artritidě. Ve většině případů má dobrou toleranci a několik nežádoucích účinků. Společně s infliximabem mají podobný efekt na symptomatologii onemocnění a rentgenové progresi u revmatoidní artritidy. [65-68]

1.7.2.1 Mechanismus účinku

Velkým pokrokem u revmatoidní artritidy bylo pochopení patologických dějů samotného onemocnění, které vedlo k vysvětlení důležitosti role TNF- α jakožto klíčového cytokinu v aktivaci a údržbě zánětu vedle jiných cytokinů. Mezi jiné cytokiny patří například IL-1. Blokace TNF- α pomocí adalimumabu vede k potlačení strukturálního poškození, zmírnění příznaků a zlepšení života z pohledu kvality. Adalimumab blokuje funkci TNF- α a to biologickou. Blokace zabraňuje jeho interakci s buněčnými receptory p55 a p75. Vytvořená vazba na TNF- α , ať už solubilní nebo membránová, probíhá s vysokou afinitou a specifitou. Co se týká lymfotoxinu TNF- β , s tím samotná protilátka nereaguje. [70-72]

1.7.2.2 Nežádoucí účinky

Při léčbě pomocí adalimumabu je profil vedlejších účinků příznivější, než u léčby systémové. Mezi nejběžnější nežádoucí vlivy patří vznik infekce v místě vpichu injekcí. Zde mohou vznikat až vzácná infekční onemocnění. Nejvýznamnější infekcí tohoto typu bývá reaktivace tuberkulózy. Dále se může jednat o infekce houbového charakteru a jinou atypickou infekci, kdy se mohou vyskytovat také vyrážky. V ojedinělých případech byly zaznamenány také další účinky a to zhoršení nebo zahájení kongestivního srdečního selhávání, syndrom podobný lupusu, tvorba lymfomu, lékařsky významné cytopenie a zhoršení nebo zahájení roztroušené sklerózy (neurologické onemocnění). Při podávání adalimumabu byli hlášeny pancytopenie a zvýšené transaminasy, což svědčí o tom, že laboratorní monitorování krevního obrazu a jaterních funkcí je přinejmenším přerušované. U pacientů s některými z výše uvedených problémů by mělo být jeho použití velmi pečlivě zváženo. Adalimumab je užitečný lék, který lze bezpečně použít, pokud jsou rozpoznány jeho vedlejší účinky. [69, 73]

Infekce

Riziko infekcí u revmatoidní artritidy se zvyšuje jak v důsledku léčby, tak samotné choroby. Většinou se jedná o infekce závažného charakteru. Nezávažné vznikají maximálně jen okrajově, pokud vůbec. Další z řady vedlejších účinků jsou infekce horních dýchacích cest, sinusitida, chřipkový syndrom a infekce močových cest. Nejvíce závažné infekční onemocnění spojené s blokádu TNF- α je reaktivace tuberkulózy. V počátečních klinických studiích se před podáním analimumabu provedl screening na TBC. V první fázi byl analimumab podáván ve dvacetinásobném současném dávkování (40 mg), kdy další týden u pacientů bez screeningu rentgenového snímku bylo z původních 198 pacientů 5 případů TBC. Ve druhé fázi při dávce čtyřnásobné z 284 pacientů byli 3 pozitivní na TBC. Po zahájení léčby se TBC objevovalo nejčastěji po 8 měsících. Jiné závažné infekce vyskytující se zvýšenou frekvencí jsou zejména hluboké houbové infekce. V Ohio v USA se vyskytovaly případy histoplazmózy a kokcidiomykózy. [74-77]

Kožní a alergické reakce

Adalimumab souvisí i s kožními a alergickými reakcemi. Uvádí se, že může způsobit infekční vyrážku (celulitida, erysipel a herpes zoster) u 0,3 % léčených pacientů a alergické kožní reakce jako vyrážku, anafylaktoidní reakce a nespecifikované drogové reakce a kopřivka. Může se také vyskytnout svědění spolu s vyrážkou v místě vpichu injekce. V případě přítomnosti anafylaktické nebo jiné alergické reakce musí být ihned adalimumab vysazen a zavedena vhodná léčba. [77-79]

1.7.3 Etanercept

Tato protilátka má odlišnou blokádu TNF- α než u předchozích zástupců. Pro klinické účely byl schválen v roce 1998. Jedná se o neutralizaci geneticky solubilním receptorem, kterým je samotný etanercept. Obecně se jedná o molekulu, kdy jejím obsahem jsou dvě extracelulární domény TNF-receptoru (TNF-R p75). Ty jsou připojené na krystalizující fragment (Fc) části lidského IgG1. V průběhu dvou studií, multicentricky kontrolovaných placebem, byla zaznamenána a prokázána klinická účinnost této protilátky u refrakterní revmatoidní artritidy. Skvělý efekt byl také prokázán u léčby ankylozující spondylitidy, psoriatické artritidy a juvenilní revmatoidní artritidy. [80-83]

1.7.3.1 Mechanismus účinku

Etanercept inhibuje aktivitu TNF- α kompetitivní vazbou na tento prozánětlivý cytokin a preventivně také vytvoří interakci s jeho receptory na povrchu buněk. Dimerní povaha etanerceptu umožní navázání protilátky (proteinu) na dvě volné nebo receptorově vázané molekuly TNF v afinitě 50 až 1000 násobku rozpustných monomerních forem TNF-receptoru. Zvýšená vazebná afinita etanerceptu pravděpodobně hraje klíčovou roli ve zvýšené inhibiční aktivitě TNF- α pozorované u dimerních forem rekombinantního receptoru ve srovnání s přirozeně se vyskytujícími monovalentními formami. Zvýšená hladina TNF- α , byla nalezena u psoriatických kožních lézí synoviálních explantátů a u tekutin pacientů s psoriatickou artritidou. Etanerceptor moduluje biologické reakce, které jsou indukovány nebo regulovány TNF- α . Tudíž inhibice aktivity TNF- α etanerceptem může sloužit ke snížení zánětu v placích porušení tohoto cyklu. Obecně etanercept napodobuje aktivitu přirozeně se vyskytujícího rozpustného TNF- α a zabraňuje tak vazbě na jeho receptor. [84-88]

1.7.3.2 Nežádoucí účinky

Infekce

Nejběžnější nežádoucí účinky spojené s užíváním etanerceptu jsou infekce dolních cest dýchacích, následované infekcí horních cest dýchacích. Celkové procento infekcí při užívání tohoto léčiva činí 35 % v placebem kontrolovaných studiích. Často se zde vykytují závažné bakteriální infekce. Působením streptokoků skupiny A došlo k multifokální septické artritidě spolu s osteomyelitidou. Dále byla zaznamenána orbitální myozitida u pacientů s revmatoidní artritidou. Etanercept může také usnadnit virové infekce jako například pneumonie. Také souvisí s plíseňovými infekcemi, kam zejména patří histoplazmóza a toxoplazmóza. [89-92]

Systémové komplikace

Byly zaznamenány vzácné systémové nežádoucí účinky etanerceptu. Do této kategorie patří aplastická anémie, poranění plic a tichá thyroditida. Vzhledem k potenciálu pro aplastickou anémii by pacienti měli být poučeni, aby vyhledali okamžitou lékařskou pomoc, pokud zaznamenají známky a příznaky svědčící o krevní dyskrázii nebo infekci (např. přetrvávající horečka, modřiny, krvácení, bledost). Existuje zde několik údajů, které

poukazují na možnou spojitost mezi střevní perforací a etanerceptem, ale není dostatek důkazů. [93-95]

4 ZÁVĚR

Bakalářská práce byla zaměřena na vliv imunosupresiv na biochemické děje v organismu. V první řadě byla popsána historie a následně jednotlivé základní pojmy nezbytné pro toto téma. Imunitní systém a imunosuprese jsou důležité pojmy k ujasnění, co jsou to imunosupresiva a jakou mají funkci. Imunosupresiva jsou definována jako látky sloužící k potlačení nadměrné aktivity imunitního systému například u chronických zánětlivých onemocnění nebo různých transplantací.

V práci je zaznamenáno 6 skupin imunosupresiv a to jsou kortikoidy, inhibitory kalcineurinu, antiproliferační látky, antimetabolity, inhibitory mTOR a protilátky. U každé skupiny bylo uvedeno několik zástupců, které byly podrobně popsány od obecného popisu přes mechanismus účinku až po nežádoucí účinky vznikající v organismu.

U většiny zmíněných imunosupresiv se jednalo o potlačení T nebo B-lymfocytů stojících za aktivací imunitního systému a to buď apoptózou nebo blokadou receptorů pro T-lymfocyty. Jednotlivá imunosupresiva se vázala na cytokiny, jakým je například CD3 vyskytující se na povrchu T-lymfocytů. Jak strukturou, tak mechanismem účinku, se od jiných imunosupresiv liší monoklonální protilátky. Jedná se o částice složené buď jen z lidských (humánní) nebo z myších částí (chimrní) proteinu. Zde se lišil i onen mechanismus účinku, kdy principem je zamezení TNF- α komunikovat mezi jednotlivými buňkami a to vazbou protilátek na samotný TNF- α a jeho receptor nacházející na buňce. TNF- α jsou prozánětlivé cytokiny způsobující vznik zánětu. Velký rozdíl mezi klasickými imunosupresivy a protilátkami je v množství vedlejších účinků, kdy u protilátek je jejich výskyt daleko menší z důvodu jejich biologického charakteru.

5 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

1. STROJIL, Jan. *Klinická farmakologie imunosupresivní léčby*. Olomouc, 2014. Disertační práce. Univerzita Palackého v Olomouci, Lékařská fakulta, Ústav farmakologie. Vedoucí práce Doc. MUDr. Karel Urbánek, Ph.D.
2. WISEMAN, Alexander C., 2016. Immunosuppressive medications. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* [online]. **11**(2), 332–343. ISSN 1555905X. Dostupné z: doi:10.2215/CJN.08570814
3. JAIN, Ashokkumar, , et al. 2003. What Have We Learned About Primary Liver Transplantation Under Tacrolimus Immunosuppression? *Annals of Surgery* [online]. **230**(3), 441. ISSN 0003-4932. Dostupné z: doi:10.1097/00000658-199909000-00016
4. ALLISON, Anthony C., et al, 2000. Mycophenolate mofetil and its mechanism of action. *Immunoharmacology* [online]. **47**(2-3), 85-118. ISSN 01623109. Dostupné z: doi: 10.1016/S0162-3109(00)00188-0
5. ABNAVE, Prasad, et al, 2018. Role of the immune system in regeneration and its dynamic interplay with adult stem cells. *Seminars in Cell and Developmental Biology* [online]. B.m.: Elsevier Ltd, **87**, 160–168. ISSN 10963634. Dostupné z: doi:10.1016/j.semcdb.2018.04.002
6. HOWELL, Malcolm, et al, 2018. The immune system. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine* [online]. B.m.: Elsevier Ltd, **19**(10), 575–578. ISSN 18787584. Dostupné z: doi:10.1016/j.mpaic.2018.08.014
7. SHIEL JR., William C. Definition of Immunosuppression: Immunosuppression. *MedicineNet* [online]. 2017 [cit. 2019-06-24]. Dostupné z: <https://www.medicinenet.com/script/main/art.asp?articlekey=3942>
8. SUCHÝ, David, et al. *Základní charakteristiky vybraných imunosupresiv*. 2004, (18), 90-95.
9. HALVOVÁ, Petra, et al, 2010. Farmakokinetika a klinické aplikace vybraných imunosupresiv II. *Klinická Farmakologie a Farmacie*. **24**(1), 51–56. ISSN 12127973
10. WOJEK, Nick, 2018. Glucocorticoids. *Drugs in Sport, Seventh Edition* [online]. **25**, 283–297. Dostupné z: doi:10.4324/9781315222790

11. DENG, Jianghong, et al, 2019. Glucocorticoids pharmacology and their application in the treatment of childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Seminars in Arthritis and Rheumatism* [online]. B.m.: Elsevier Inc. ISSN 00490172. Dostupné z: doi:10.1016/j.semarthrit.2019.03.010
12. SCHERHOLZ, Megerle L., et al, 2019. Chronopharmacology of glucocorticoids. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. B.m.: Elsevier B.V., 25–31. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/j.addr.2019.02.004
13. VANDEWALLE, Jolien, et al, 2018. Therapeutic Mechanisms of Glucocorticoids. *Trends in Endocrinology and Metabolism* [online]. B.m.: Elsevier Ltd, **29**(1), 42–54. ISSN 18793061. Dostupné z: doi:10.1016/j.tem.2017.10.010
14. FREW, Anthony J. Glucocorticoids. *Clinical Immunology: Principles and Practice*. 2018, (86), 1165-1174.
15. FIGURE, Supplementary, 2012. [supplemental data]Osteoblasts mediate the adverse effects of glucocorticoids on fuel metabolism. *Journal of Clinical Investigation* [online]. **122**(11), 4172–4189. Dostupné z: doi:10.1172/JCI63377.4172
16. IANNITTI, Tommaso, et al, 2010. *Clinical Use of Immunosuppressants in Duchenne Muscular Dystrophy* [online]. Dostupné z: doi:10.1097/CND.0b013e3181d4a4f9
17. PROKOPOVÁ, Iva. Takrolimus. *IKEM* [online]. 14.4.2016 [cit. 2019-04-03]. Dostupné z: https://www2.ikem.cz/plm_lp/HVEZDAADCG.htm
18. MARŠÁLKOVÁ, Petra, et al. Farmakokinetika a klinické aplikace vybraných imunosupresiv I. *Klinická farmakologie a farmacie*. 2009, **23**(3), 138-141.
19. ALLISON, Anthony C. et al, 2000. Mycophenolate mofetil and its mechanisms of action. *Immunopharmacology* [online]. **47**(2–3), 85–118. ISSN 01623109. Dostupné z: doi:10.1016/S0162-3109(00)00188-0
20. FUJIYAMA, Nobuhiro, et al, 2010. Involvement of carboxylesterase 1 and 2 in the hydrolysis of mycophenolate mofetil. *Drug Metabolism and Disposition* [online]. **38**(12), 2210–2217. ISSN 00909556. Dostupné z: doi:10.1124/dmd.110.034249
21. ZWERNER, Jeffrey, et al. Mycophenolate mofetil. *Dermatologic Therapy*. 2007, **20**(4), 229-238. DOI: 10.1111/j.1529-8019.2007.00136.x. ISSN 1396-0296. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1529-8019.2007.00136.x>
22. SCHOLAR, Eric. Antimetabolites. *Reference Module in Biomedical Science: xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference* [online]. University of

- Nebraska Medical Center, Omaha, United States, 2007, 2007, **2007**, 1-4 [cit. 2019-04-26]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-008055232-3.61036-0>
23. AVENDAÑO, Carmen et al. Antimetabolites That Interfere with Nucleic Acid Biosynthesis. *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs*. Elsevier, 2015, 2015, **2015**(2), 23-79. DOI: 10.1016/B978-0-444-62649-3.00002-8. ISBN 9780444626493. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444626493000028>
 24. MALTZMAN, Jonathan S., et al, 2003. Azathioprine : old drug , new actions Find the latest version : [online]. **111**(8), 1122–1124. Dostupné z: [doi:10.1172/JCI200317215.13](https://doi.org/10.1172/JCI200317215.13).
 25. Azathioprine. *PubChem* [online]. 2005, 25. 3. 2005 [cit. 2019-04-26]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/azathioprine>
 26. Azathioprine. *DRUGBANK* [online]. 13 June 2005 [cit. 2019-04-26]. Dostupné z: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00993>
 27. MORRIS Peter J, 2013. Chapter 15 - Azathioprine. *Kidney Transplantation - Principles and Practice* [online]. Seventh Ed. B.m.: Elsevier B.V., 216–220. Dostupné z: [doi:10.1016/B978-1-4557-4096-3.00015-5](https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-4096-3.00015-5)
 28. XIE, Jianling, et al. MTOR inhibitors in cancer therapy. *F1000Research*. 2016, **5**(2), 176-182. DOI: 10.12688/f1000research.9207.1. ISSN 2046-1402. Dostupné také z: <https://f1000research.com/articles/5-2078/v1>
 29. BALLOU, Lisa M., et al, 2008. Rapamycin and mTOR kinase inhibitors [online]. **1**, 27–36. Dostupné z: [doi:10.1007/s12154-008-0003-5](https://doi.org/10.1007/s12154-008-0003-5)
 30. OH, Won Jun et al. MTOR complex 2 signaling and functions. *Cell Cycle*. 2014, **10**(14), 2305-2316. DOI: 10.4161/cc.10.14.16586. ISSN 1538-4101. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/cc.10.14.16586>
 31. LI, Jing, et al, 2014. Perspective Rapamycin : One Drug , Many Effects. *Cell Metabolism* [online]. B.m.: Elsevier Inc., **19**(3), 373–379. ISSN 1550-4131. Dostupné z: [doi:10.1016/j.cmet.2014.01.001](https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.01.001)
 32. Sirolimus. *DRUGBANK: Sirolimus* [online]. 2005, June 13, 2005 [cit. 2019-05-10]. Dostupné z: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00877>
 33. MCKENNA, Greg J., et al, nedatováno. *Induction and Maintenance of Immunosuppression* [online]. Third Edition. B.m.: Elsevier Inc. Dostupné z: [doi:10.1016/B978-1-4557-0268-8.00091-9](https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-0268-8.00091-9)

34. Everolimus. *IKEM* [online]. [cit. 2019-05-14]. Dostupné z: https://www2.ikem.cz/plm_lp/HVEZDAADBU.htm
35. KIRCHNER, Gabriele I., et al. Clinical Pharmacokinetics of Everolimus. In: *Clinical Pharmacokinetics* [online]. 2004, **43**(2), s. 83-95 [cit. 2019-05-14]. DOI: 10.2165/00003088-200443020-00002. ISSN 0312-5963. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.2165/00003088-200443020-00002>
36. Everolimus. *DRUGBANK* [online]. 2007, August 29, 2007 [cit. 2019-05-14]. Dostupné z: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01590>
37. Prednisone. *DRUGBANK* [online]. 2005, June 13, 2005 [cit. 2019-05-15]. Dostupné z: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00635>
38. Cortisol. *ChemSpider* [online]. 2015 [cit. 2019-05-15]. Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.5551.html>
39. TAYLOR, Anna L., et al. Immunosuppressive agents in solid organ transplantation: Mechanisms of action and therapeutic efficacy. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2005, **56**(1), 23-46. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2005.03.012. ISSN 10408428. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1040842805000843>
40. TŘEŠKA, Vladislav. *Transplantologie pro mediky*. 1. Praha: Karolinum, 2002. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN 80-246-0331-4.
41. BERARD, Jennifer L., et al. A Review of Interleukin-2 Receptor Antagonists in Solid Organ Transplantation. *Pharmacotherapy*. 1999, **19**(10), 1127-1137. DOI: 10.1592/phco.19.15.1127.30582. ISSN 0277-0008. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1592/phco.19.15.1127.30582>
42. BREEDWELD, Ferdinand C. Therapeutic monoclonal antibodies. *The Lancet*. 2000, **355**(9205), 735-740. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)01034-5. ISSN 01406736. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673600010345>
43. TAYLOR, Anna L., et al. Immunosuppressive agents in solid organ transplantation: Mechanisms of action and therapeutic efficacy. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2005, **56**(1), 23-46. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2005.03.012. ISSN 10408428. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1040842805000843>

44. TREVILLIAN, Paul. Therapeutic drug monitoring. *Nephrology*. 2007, **12**(s1), S57-S65. DOI: 10.1111/j.1440-1797.2007.00730.x. ISSN 1320-5358. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1440-1797.2007.00730.x>
45. HONG, Johny C., et al. Immunosuppressive agents in organ transplantation. *Semin Nephrol* 2000; 20(2): 108–125
46. NORMAN, Philip S. Immunobiology: The immune system in health and disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1995, **96**(2), 274-274. DOI: 10.1016/S0091-6749(95)70025-0. ISSN 00916749. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674995700250>
47. AMLOT, Peter L., et al. Prolonged action of a chimeric interleukin-2 receptor (CD25) monoclonal antibody used in cadaveric renal transplantation. *Transplantation* 1995 Oct 15; 60 (7): 748-56
48. KOVARIK, John M., et al. Prolonged immunosuppressive effect and minimal immunogenicity from chimeric (CD25) monoclonal antibody SDZ CHI 621 in renal transplantation. *Transplant Proc* 1996 Apr; 28 (2): 913-4
49. MAINI, Ravinder., et al. Infliximab (chimeric anti tumour necrosis factor alpha monoclonal antibody) versus placebo in rheumatoid arthritis patients receiving concomittant methotrexate: a randomized phase III trial. *Lancet* 1999; 354: 1932–1939.
50. BRAUN, Juergen, et al. Treatment of active ankylosing spondylitis with infliximab: a randomised controlled multicentre trial. *The Lancet*. 2002, **359**(9313), 1187-1193. DOI: 10.1016/S0140-6736(02)08215-6. ISSN 01406736. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673602082156>
51. LIPSKY, Peter E., et al. Infliximab and Methotrexate in the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *New England Journal of Medicine*. 2000, **343**(22). DOI: 10.1056/NEJM200011303432202. ISSN 0028-4793. Dostupné také z: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM200011303432202>
52. LUKÁŠ, Milan, Anticytokinová terapie Crohnovy nemoci a ulcerózní kolitidy. *Remedia* 2000; 5: 331–339.
53. KNIGHT, David M., et al. Construction and initial characterization of a mouse-human chimeric anti-TNF antibody. *Mol Immunol* 1993; 30 (16): 1443-53
54. HARRIMAN, Gregory, et al. Summary of clinical trials in rheumatoid arthritis using infliximab, an anti-TNFalpha treatment. *Annals of the Rheumatic Diseases*.

- 1999, **58**(Supplement 1), i61-i64. DOI: 10.1136/ard.58.2008.i61. ISSN 0003-4967.
Dostupné také z: <http://ard.bmj.com/cgi/doi/10.1136/ard.58.2008.i61>
55. FELDMANN, Marc, et al. Anti-tumor necrosis factor- α therapy of rheumatoid arthritis. *Adv Immunol* 1997; 64: 283-350
56. AITHAL, Guruprasad P., et al. Review article: the risk of lymphoma associated with inflammatory bowel disease and immunosuppressive treatment. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 2001, **15**(8), 1101-1108. DOI: 10.1046/j.1365-2036.2001.01023.x. ISSN 0269-2813. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2036.2001.01023.x>
57. RODDY, Edward. Non-Hodgkin's lymphoma in a patient with refractory dermatomyositis which had been treated with infliximab. *Rheumatology*. **41**(10), 1194-1195. DOI: 10.1093/rheumatology/41.10.1194. ISSN 14602172. Dostupné také z: <https://academic.oup.com/rheumatology/article-lookup/doi/10.1093/rheumatology/41.10.1194>
58. GEDIZ ÖZDEMIRKIRAN, Füsün. Acute Lymphoid Leukemia After Anti-TNF- α Treatment: A Case Report and Review of the Literature. *Archives of Rheumatology*. 2015, **30**(4), 349-352. DOI: 10.5606/ArchRheumatol.2015.5669. ISSN 21485046. Dostupné také z: <http://www.archivesofrheumatology.org/abstract/749>
59. ESSER, Adam C., et al. Acute development of multiple keratoacanthomas and squamous cell carcinomas after treatment with infliximab. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2004, **50**(5), 75-77. DOI: 10.1016/j.jaad.2003.11.044. ISSN 01909622. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S019096220304310X>
60. ALBERT, Christine, et al. Légionellose chez une patiente sous infliximab. *La Revue de Médecine Interne*. 2004, **25**(2), 167-168. DOI: 10.1016/j.revmed.2003.10.004. ISSN 02488663. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0248866303003734>
61. OLIVIERI, Ignazio. Septic arthritis caused by *Moraxella catarrhalis* associated with infliximab treatment in a patient with undifferentiated spondylarthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2004, **63**(1), 105-106. DOI: 10.1136/ard.2003.006270. ISSN 0003-4967. Dostupné také z: <http://ard.bmj.com/cgi/doi/10.1136/ard.2003.006270>
62. SLIFMAN, Nancy R., et al. *Listeria monocytogenes* infection as a complication of treatment with tumor necrosis factor α -neutralizing agents. 2003, **48**(2), 319-324.

- DOI: 10.1002/art.10758. ISSN 0004-3591. Dostupné také z:
<http://doi.wiley.com/10.1002/art.10758>
63. WEISMAN, Michael H. What are the risks of biologic therapy in rheumatoid arthritis? An update on safety. *J Rheumatol Suppl* (2002) 65: 33–8.
64. NAHAR, Ibrahim K., et al. Infliximab Treatment of Rheumatoid Arthritis and Crohn's Disease. *Annals of Pharmacotherapy*. 2003, **37**(9), 1256-1265. DOI: 10.1345/aph.1C039. ISSN 1060-0280. Dostupné také z:
<http://journals.sagepub.com/doi/10.1345/aph.1C039>
65. SALFELD, Jochen, et al. Generation of fully human anti TNF antibody D2E7. *Arthritis Rheum* 1998; 41(suppl.9): S57.
66. FOX, David A. Cytokine Blockade as a New Strategy to Treat Rheumatoid Arthritis. *Archives of Internal Medicine*. 2000, **160**(4). DOI: 10.1001/archinte.160.4.437. ISSN 0003-9926. Dostupné také z:
<http://archinte.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archinte.160.4.437>
67. SUCHÝ, David, et al. Základní charakteristiky vybraných imunopresiv *Klin Farmakol Farm* 2004; 18: 90–95.
68. TOBÓN, Manuela T., et al, 2017. Adalimumab-induced cutaneous lupus. *Revista Colombiana de Reumatología (English Edition)* [online]. B.m.: Asociación Colombiana de Reumatología, **23**(4), 271–274. ISSN 24444405. Dostupné z: doi:10.1016/j.rcreue.2017.02.001
69. MUDR, Doc, Otto MAYER, et al, 2005. Lékové profily adalimumabum. 3–9.
70. BRENNAN, Fionula M., et al. TNF- α pivotal role in rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* 1992;31:293–8.
71. MAINI, Ravinder N., et al. Therapeutic efficacy of multiple intravenous infusions of anti-tumor necrosis factor of monoclonal antibody combined with low dose weekly methotrexate in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1998;41:1552–63.
72. MIKULS, Ted R., et al. Lessons learned in the use of tumor necrosis factor- α inhibitors in the treatment of rheumatoid arthritis. *Current Rheumatology Reports* 2003;5:270–7.
73. SCHEINFELD, Noah, 2005. Adalimumab: a review of side effects. *Expert Opinion on Drug Safety* [online]. **4**(4), 637–641. ISSN 1474-0338. Dostupné z: doi:10.1517/14740338.4.4.637
74. WASKO, Mary C. Comorbid conditions in patients with rheumatic diseases: an update. *Curr. Opin. Rheumatol.* (2004) 16:109-113.

75. FLEISCHMANN, Roy, et al. Does safety make a difference in selecting the right TNF antagonist? *Arthritis. Res. Ther.* (2004) 6(Suppl. 2):S12-S18.
76. HOUTMAN, Pieterella M., et al. Tonsillar tuberculosis in a rheumatoid arthritis patient receiving anti-TNFalpha (adalimumab) treatment. *Neth. J. Med.* (2005) 63:112-114.
77. <http://www.fda.gov/cder/foi/label/2002/adalabb123102LB.pdf> Adalimumab (Humira®) package insert. Abbott Laboratories (2002).
78. BEUTHIEN, Wilke, et al. Skin reaction to adalimumab. *Arthritis and Rheumatology*. 2004, **50**(5), 1690-1692. DOI: 10.1002/art.20155. ISSN 0004-3591. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/art.20155>
79. <http://www.fda.gov/medwatch/SAFETY/2004/safety04.htm> US FDA website. Humira® (2005).
80. FOX, David A. Cytokine Blockade as a New Strategy to Treat Rheumatoid Arthritis. *Archives of Internal Medicine*. 2000, **160**. DOI: 10.1001/archinte.160.4.437. ISSN 0003-9926. Dostupné také z: <http://archinte.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archinte.160.4.437>
81. GORMAN, Jennifer D., et al. Treatment of Ankylosing Spondylitis by Inhibition of Tumor Necrosis Factor α . *New England Journal of Medicine*. 2002, **346**(18), 1349-1356. DOI: 10.1056/NEJMoa012664. ISSN 0028-4793. Dostupné také z: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa012664>
82. GOFFE, Ben et al, 2003. Etanercept: An overview. *Journal of the American Academy of Dermatology* [online]. **49**(2), 105–111. ISSN 01909622. Dostupné z: doi:10.1016/mjd.2003.554
83. BAUGH, John A. et al. Mechanisms for modulating TNF in immune inflammatory disease. *Curr Opin Drug Discov Devel* 2001; 4:635-50.
84. SMITH, Robert A. et al. The active form of tumor necrosis factor is a trimer. *J Biol Chem* 1987;262:6951-4.
85. PENNICA, Diane, et al. Characterization of a recombinant extracellular domain of the type 1 tumor necrosis factor receptor: evidence for tumor necrosis factor- alpha induced receptor aggregation. *Biochemistry* 1992;31:1134-41.
86. MOHLER, Kendall M., et al. Soluble tumor necrosis factor (TNF) receptors are effective therapeutic agents in lethal endotoxemia and function simultaneously as both TNF carriers and TNF antagonists. *J Immunol* 1993;151:1548-61.
87. PEPPEL, Karsten, et al, 1991. A tumor necrosis factor (TNF) receptor-IgG heavy

- chain chimeric protein as a bivalent antagonist of TNF activity. *The Journal of experimental medicine* [online]. **174**(6), 1483–9. ISSN 0022-1007. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1660525><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC2119031>
88. GASPARI, Anthony, et al. Etanercept improves the clinical and pathological features of psoriasis. Presented at: Society for Investigative Dermatology, 2002. Abstract in press, *Journal of Investigative Dermatology*, 2003.
 89. ELWOOD, Robert L., et al. Multifocal septic arthritis and osteomyelitis caused by group A Streptococcus in a patient receiving immunomodulating therapy with etanercept. *Pediatr Infect Dis J* (2003) 22: 286–8.
 90. SAIGAL, Renu, et al. Inflammatory Myopathy During Etanercept Therapy in a Patient with Rheumatoid Arthritis. *Indian Journal of Rheumatology*. 2008, **3**(1). DOI: 10.1016/S0973-3698(10)60085-4. ISSN 09733698. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0973369810600854>
 91. SMITH, Davey et al. Viral Pneumonia as a Serious Complication of Etanercept Therapy. *Annals of Internal Medicine*. 2002, **136**(2). DOI: 10.7326/0003-4819-136-2-200201150-00020. ISSN 0003-4819. Dostupné také z: <http://annals.org/article.aspx?doi=10.7326/0003-4819-136-2-200201150-00020>
 92. GONZALEZ-VICENT, Marta, et al. Cerebral toxoplasmosis following etanercept treatment for idiopathic pneumonia syndrome after autologous peripheral blood progenitor cell transplantation (PBPC). *Ann Hematol* (2003) 82: 649–53.
 93. KURUVILLA, John, et al. Aplastic anemia following administration of a tumor necrosis factor-alpha inhibitor. *European Journal of Haematology*. 2003, **71**(5), 396-398. DOI: 10.1034/j.1600-0609.2003.00115.x. ISSN 0902-4441. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1034/j.1600-0609.2003.00115.x>
 94. PENO-GREEN, Laura, et al. Lung Injury Linked to Etanercept Therapy. *Chest*. 2002, **122**(5), 1858-1860. DOI: 10.1378/chest.122.5.1858. ISSN 00123692. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0012369215499829>
 95. ANDRES, Emmanuel. Silent thyroiditis associated with etanercept in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2002, **61**(6), 565-565. DOI: 10.1136/ard.61.6.565. ISSN 00034967. Dostupné také z: <http://ard.bmj.com/cgi/doi/10.1136/ard.61.6.565>