

Received: 2015.04.13  
Accepted: 2015.10.08  
Published: 2015.12.03

## Immunosupresja – wymagający sprzymierzeniec na trudne czasy\*

### Immunosuppression – tough ally in torrid time

Elżbieta Ograczyk\*\*, Magdalena Kowalewicz-Kulbat, Sebastian Wawrocki, Marek Fol\*\*

Uniwersytet Łódzki, Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Łódź

#### Streszczenie

Immunosupresja to stan charakteryzujący się osłabieniem bądź zahamowaniem odpowiedzi immunologicznej. Dotyczy to zarówno odpowiedzi typu humoralnego, jak i komórkowego. Wiąże się to ze zmiennymi niedoborami poszczególnych klas przeciwciał (IgG, IgM, IgA) oraz ze spadkiem liczby i dysfunkcją komórek układu odpornościowego, w tym głównie limfocytów T, ujawniającym się zahamowaniem wytwarzania cytokin, przekazywania sygnałów oraz ekspansji klonalnej. Leczenie immunosupresyjne znalazło zastosowanie w wielu dziedzinach medycyny, takich jak: transplantologia, onkologia, choroby autoimmunizacyjne. Stan immunosupresji można osiągnąć w różnorodny sposób, np. przez zabiegi chirurgicznego usunięcia określonych narządów układu odpornościowego, metody fizyczne (promieniowanie rentgenowskie) czy też metody chemiczne (preparaty farmakologiczne). Najbardziej powszechnym sposobem wywołania immunosupresji jest podawanie leków immunosupresyjnych, wśród których wyróżnia się m.in.: glukokortykoidy, leki cytostatyczne, leki działające na immunofiliny, przeciwciała monoklonalne. Niestety, oprócz pożądanego działania terapeutycznego stosowaniu immunosupresji mogą towarzyszyć liczne działania niepożądane, związane zarówno z upośledzeniem odporności (podatność na infekcje, w tym te wywołane przez drobnoustroje oportunistyczne), toksycznym oddziaływaniem na tkanki (nefrotoksyczność, neurotoksyczność), czy też z bezpośrednim wpływem na procesy nowotworzenia. Ograniczeniu tych niepożądanych działań może służyć modyfikacja już istniejących lub poszukiwanie nowych preparatów immunosupresyjnych, a także próby opracowania metod kontrolowanej kinetyki uwalniania substancji leczniczej. Nowatorskie spojrzenie na zastosowania immunosupresji dotyczy wysiłków podejmowanych na rzecz spersonalizowania leczenia immunosupresyjnego przez udział wysoce zaawansowanych technik genetycznych.

**Keywords:** immunosupresja • leki immunosupresyjne • glukokortykoidy • leki cytostatyczne • leki działające na immunofiliny • przeciwciała monoklonalne

#### Summary

Immunosuppression is a condition characterized by weakened or inhibited immune response. It occurred both in humoral and cellular response. This is related to the variable levels of deficiency for each antibody class (IgG, IgM, IgA) and a decrease in the number and function of immune cells, mainly T cells which results in the inhibition of cytokine production, signaling transduction and clonal expansion. Immunosuppressive therapy is used in many fields of medicine, such as transplantology, oncology, autoimmune disorders. Immunosuppression can be induced in several ways, by the surgical resection of the organs of the immune system, physical methods using X-rays or chemical methods using pharmacological agents. The most common way to induce immunosuppression is the administration of immunosuppressive

\*Praca finansowana z grantu Narodowego Centrum Nauki, numer: 2013/11/B/NZ6/01304.

\*\*Autorzy wnieśli równy wkład pracy w powstanie publikacji.

	drugs, amongst others: glucocorticoids, cytostatic drugs, immunophilin-binding agents, monoclonal antibodies. Unfortunately, the desired therapeutic effects of immunosuppression may be accompanied by a number of side effects associated with both impaired immunity (susceptibility to infections, including those caused by opportunistic microorganisms), toxic effects on the tissues (nephrotoxicity, neurotoxicity), or with a direct impact on the processes of malignancy. This harmful influence can be limited by the modification of the existing drugs, looking for new ones or developing new methods for the controlled kinetics of releasing the immunosuppressive pharmaceuticals. The personalization of immunosuppressant treatment according to genetic/genomic characteristics of individual patient represents the quite innovative look into the issue of immunosuppression.
<b>Słowa kluczowe:</b>	<b>immunosuppression • immunosuppressive drugs • glucocorticoids • cytostatic drugs • immunophilin-binding agents • monoclonal antibodies</b>
<b>Full-text PDF:</b>	<a href="http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1184554">http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1184554</a>
<b>Word count:</b>	6427
<b>Tables:</b>	–
<b>Figures:</b>	–
<b>References:</b>	94

**Adres autora:** dr Marek Fol, Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź; e-mail: marekfol@poczta.onet.pl

**Wykaz skrótów:** **ANCA** – przeciwciała przeciwko cytoplazmie granulocytów (antineutrophil cytoplasmic antibody); **GM-CSF** – czynnik stymulujący powstawanie kolonii granulocytów i makrofagów (granulocyte-macrophage colony stimulating factor); **GvH** – przeszczep przeciw gospodarzowi (Graft versus Host); **ICAM-1** – cząsteczka adhezji międzykomórkowej-1 (intercellular adhesion molecule-1); **Ig** – immunoglobuliny; **IL** – interleukina; **kinase mTOR** – kinaza serynowo-treoninowa ssaków o aktywności hamowanej przez rapamycynę (mammalian target of rapamycin); **MadCAM-1** – cząsteczka adhezji komórkowej będąca adresyną błon śluzowych (mucosal addressin cell adhesion molecule-1); **MCP 1-4** – białko chemotaksji monocytów (monocyte chemoattractant protein); **MIP-1α** – białko zapalne makrofagów-1α (macrophage inflammatory protein-1α); **RANTES** – czynnik regulowany przez aktywację; ekspresja i wydzielanie przez prawidłowe limfocyty T (regulated on activation, normal T-cell-expressed and secreted chemokine); **RZS** – reumatoidalne zapalenie stawów; **SM** – stwardnienie rozsiane (sclerosis multiplex); **TCR** – receptor limfocytu T (T cell receptor); **TGF-β** – transformujący czynnik wzrostu (transforming growth factor beta); **TNF** – czynnik martwicy nowotworu (tumor necrosis factor); **TRU** – toczeń rumieniowaty układowy; **VCAM-1** – cząsteczka adhezji komórkowej naczyń (vascular-cell adhesion molecule-1).

## WSTĘP

Immunosupresja definiowana jest jako stan zmniejszonej lub zahamowanej odpowiedzi immunologicznej. Wiąże się to z przejściowym bądź stałym uszkodzeniem funkcji mechanizmów odporności komórkowej lub humoralnej [65]. Stan taki sprzyja zwiększonemu ryzyku rozwoju zakażeń wywołanych zarówno przez drobnoustroje chorobotwórcze jak i oportunistyczne [65,66]. Efekt immunosupresji osiągany jest w wyniku:

- wykonywania zabiegów chirurgicznych polegających na usunięciu narządów układu odpornościowego, np. grasicy;
- stosowania czynników fizycznych, np. jako skutek ekspozycji na działanie fal rentgenowskich

- używanie związków chemicznych - preparaty farmakologiczne [67].

Immunosupresja może być także wywołana przez inne czynniki, takie jak stres, temperatura, zanieczyszczenie powietrza, warunki wentylacyjne, czynniki biologiczne – bakterie, wirusy, grzyby oraz czynniki chemiczne – niedobór witamin, antybiotyki, narkotyki, zanieczyszczoną wodę bądź pożywienie, metale ciężkie [66]. Ze względu na sposób oddziaływania preparatów immunosupresyjnych na mechanizmy układu odpornościowego wyróżnia się immunosupresję typu humoralnego bądź komórkowego [65]. Do zmian w obrębie odporności typu humoralnego zaliczono niedobory przeciwciał różnych klas, zwłaszcza IgG, IgA oraz IgM [65]. Dochodzi wówczas do zaprzestania wytwarzania zarówno przeciwciał, jak i wielu cytokin,

w tym głównie limfokiny [14,65]. Znacznie częściej odnotowuje się niedobory odporności typu komórkowego, skutkujące zmniejszeniem liczby limfocytów T i uszkodzeniem ich funkcji [65]. Skutek działania immunosupresyjnego zależy od wielu czynników, w tym od czasu podawania preparatu immunosupresyjnego, jego dawki oraz bieżącego stanu układu odpornościowego pacjenta [34,36]. Biorąc za punkt odniesienia wpływ na komórki układu odpornościowego, immunosupresję można osiągnąć przez: eliminację limfocytów, zablokowanie krążenia limfocytów czy też zablokowanie szlaku (lub szlaków) przekazywania sygnału w procesie aktywacji limfocytów [66].

Immunosupresja znalazła szerokie zastosowanie w medycynie stając się elementem terapii zwłaszcza w transplantologii, onkologii i w leczeniu chorób o podłożu autoimmunizacyjnym. Glukokortykoidy były jednymi z najwcześniej użytych preparatów o działaniu immunosupresyjnym w transplantologii. Po raz pierwszy zostały zastosowane w 1963 r. w celu zapobiegnięcia odrzucenia przeszczepu nerki [52]. Leki immunosupresyjne przyczyniły się do ogromnego postępu w tej dziedzinie medycyny. Są również szeroko stosowane w terapii chorób autoimmunizacyjnych, które według szacunków dotyczą około 5% populacji tzw. krajów Zachodu. Choroby autoimmunizacyjne objawowo mogą być związane z określonym narządem/tkanką lub mieć charakter bardziej uogólniony. Chociaż etiologia chorób autoimmunizacyjnych nie do końca jest wyjaśniona, to w ich rozwoju i przebiegu ważną rolę odgrywają autoreaktywne limfocyty T odznaczające się dysfunkcjami w obrębie szlaków sygnałowych. Użycie leków immunosupresyjnych w terapii chorób autoimmunizacyjnych ma na celu właśnie „wyciszenie” odznaczających się nadmierną reaktywnością limfocytów T [81]. Immunosupresja to również oręż w walce z nowotworami, które od lat uważane są za chorobę cywilizacyjną, będącą jedną z głównych przyczyn zgonów na świecie. Szczególnie sprawdzają się w terapii nowotworów rozsianych. Podstawową grupą leków immunosupresyjnych, która znalazła zastosowanie w onkologii są blokujące cykl komórkowy cytostatyki [94].

Oprócz oczekiwanego skutku terapeutycznego, immunosupresja wywołuje działania niepożądane, przede wszystkim będące następstwem upośledzenia odporności [34,57,66,83], ale też będące wynikiem toksycznego działania medykamentu na inne tkanki, np. nefrotoksyczność, hepatotoksyczność, kardiotoxyczność [34]. Leki immunosupresyjne należy szczególnie ostrożnie stosować u kobiet pragnących zajść w ciążę. Pierwsza kobieta po przeszczepie nerki urodziła dziecko w 1963 r. [17]. Odnotowuje się liczne przypadki ciężarnych kobiet, które mimo terapii immunosupresyjnej po przeszczepie narządu urodziły zdrowe dzieci [17]. Nie wszystkie leki o tym działaniu wydają się jednakowo bezpieczne dla przebiegu ciąży, a szczególnie dotyczy to produktów kwasu mykofenolowego, któremu przypisuje się wzrost

ryzyka poronienia i pojawienia się wad wrodzonych u płodu [17].

Immunosupresja to bardzo użyteczne, ale i niezwykle wymagające narzędzie terapeutyczne.

## LEKI IMMUNOSUPRESYJNE

Leki immunosupresyjne to niejednorodna grupa związków chemicznych oraz biologicznych o różnym mechanizmie działania, ale wywierających takie samo działanie na organizm w postaci hamowania funkcjonowania układu odpornościowego [67]. Różnorodność preparatów immunosupresyjnych sprawia, iż są klasyfikowane na różne sposoby, w zależności od tego, której z ich właściwości nadaje się priorytet. Biorąc za punkt odniesienia naturę oraz wielkość cząsteczek substancji czynnej, preparaty te można podzielić na: glukokortykoidy, małe cząsteczki (obejmujące m.in. leki wiążące immunofiliny, leki alkilujące, antymetabolity) i preparaty o charakterze białkowym (np. przeciwciała poli- i monoklonalne, inhibitory TNF- $\alpha$ ) [83]. Przyjmując za punkt odniesienia przede wszystkim mechanizm działania można wyróżnić takie rodzaje substancji o działaniu immunosupresyjnym jak: azatiopryna, inhibitory kalcyneuryny, leki przeciwproliferacyjne oraz przeciwciała immunosupresyjne [61]. W większym stopniu naturę i mechanizm działania poszczególnych preparatów immunosupresyjnych oddaje ich grupowanie w następujące kategorie [67]:

- glukokortykoidy,
- leki cytostatyczne,
- leki działające na immunofiliny,
- przeciwciała,
- inne leki.

Podstawowym celem stosowania leków immunosupresyjnych jest ingerencja w główne mechanizmy efektorowe odpowiedzi immunologicznej w celu uzyskaniażądanego efektu terapeutycznego [67]. Ich stosowaniu towarzyszą niepożądane działania, z których najpowszechniejszym jest wzrost ryzyka poważnych infekcji, w tym wywoływanych drobnoustrojami oportunistycznymi (np. *Pneumocystis jiroveci*, *Herpes zoster*). Ponadto stosowanie tych preparatów jest obarczone ryzykiem rozwoju różnych nowotworów oraz pojawienia się działań toksycznych względem innych tkanek i narządów [35,66]. Rozwój technik badawczych pozwalający na lepsze poznanie mechanizmów odpornościowych stwarza perspektywę opracowania nowych, efektywniejszych i bezpieczniejszych w użyciu substancji o działaniu immunosupresyjnym.

## GLUKOKORTYKOIDY

Glukokortykoidy należą do hormonów steroidowych, naturalnie wytwarzanych w korze nadnerczy, niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka [32,69]. Odgrywają istotną rolę w regulacji

aktywności metabolicznej przemian glukozy, białek oraz lipidów, wpływają zarówno na rozwój, przekształcanie oraz śmierć komórek [69]. Już od chwili odkrycia w latach 40 XX w. i opisanie ich silnych właściwości przeciwzapalnych, stały się jednymi z najczęściej stosowanych leków w terapii chorób, których podłoże związane jest z mechanizmami autoimmunizacyjnymi i procesem zapalnym [19]. Pierwszymi zidentyfikowanymi glukokortykosteroidami były uzyskane w 1947 r. kortyzon i hormon adrenokortykotropowy (ACTH) [48]. Obecnie istnieje wiele typów preparatów z tej grupy, w większości syntetycznych, o strukturze chemicznej bazującej na naturalnych glukokortykosteroidach, jednak zmodyfikowanej w celu osiągnięcia jak najwyższej efektywności [18]. Glukokortykosteroidy jako jedne z pierwszych leków służyły zapobieganiu odrzuceniu narządu po przeszczepie, stosowano przede wszystkim metylprednizolon i prednizon [77]. Naturalne i syntetyczne glukokortykosteroidy są stosowane powszechnie w leczeniu ostrych i przewlekłych stanów zapalnych towarzyszących m.in. reumatoidalnemu zapaleniu stawów (RZS), stwardnieniu rozsianemu (SM), nieswoistemu zapaleniu jelit, łuszczycy czy egzemie [19]. Obecnie weszły w skład najczęściej używanych leków przeciwzapalnych, immunosupresyjnych i przeciwalergicznych [48].

Niezależnie od drogi podania (doustna, parenteralna, wziewna, na powierzchnię skóry lub błon śluzowych), glukokortykoidy przenikają w sposób bierny do komórki [48]. Dokładny mechanizm działania glukokortykoidów nie został jeszcze w pełni poznany. Wiadomo na przykład, iż indukują apoptozę limfocytów, obniżają syntezę cytokin i ekspresję cząsteczek adhezyjnych w różnych typach komórek [72]. Główną rolę w mechanizmie działania glukokortykoidów przypisuje się receptorowi glukokortykoidów (GR), przy czym tylko niewielka część tych hormonów obecnych w osoczu wiąże się z receptorem, większość podlega związaniu z białkami osocza, głównie z albuminą [48]. Receptor ten jest obecny niemal we wszystkich typach tkanek, gdzie występuje w postaci dwóch izoform: GR $\alpha$  (dominującej i jedynej zdolnej do oddziaływania na ekspresję genów w następstwie połączenia się z glukokortykosteroidem) oraz GR $\beta$  [18]. Początkowo uważano, że miejscem występowania receptora jest tylko cytoplazma komórkowa (cGR), inne badania wykazały jego obecność w jądrze komórkowym (nGR), a także w błonie komórkowej (mGR) [32]. Wyróżnia się genomowy (bezpośredni i pośredni) oraz niegenomowy mechanizm działania glukokortykosteroidów [32,48,69]. Pierwszy z nich wiąże się z oddziaływaniem kompleksu glukokortykosteroid-receptor na aparat genetyczny komórki, co prowadzi do indukcji lub represji transkrypcji genów kodujących mediatory procesu zapalnego. W mechanizmie tym uczestniczą receptory obecne zarówno w cytoplazmie jak i w jądrze komórkowym [18,32,69]. Mogą bezpośrednio przyłączać się do określonych sekwencji genów (GRE, glucocorticoid response elements) lub oddziaływać na geny w sposób niezależny od bezpośredniego oddziaływania z DNA, wchodząc w interakcje np. z innymi pozajądrowymi czynnikami

transkrypcyjnymi (NF- $\kappa$ B, AP-1, CREB, STAT) [1,18,69]. W mechanizmie niegenomowym uczestniczą zarówno receptory GR obecne w cytoplazmie jak i w błonie komórkowej, a ponadto mechanizm ten obejmuje sekwencje zdarzeń zachodzące bez pośrednictwa receptora [1,32,69]. Oddziaływanie glukokortykoidów bez udziału receptora jest słabo poznane i łączy się je z lipofilnymi właściwościami tych substancji, co pozwala na ich wbudowywanie się w błonę komórkową i na oddziaływanie na błonowe kanały jonowe [32]. Ze względu na wielopłaszczyznowy mechanizm działania, skutki użycia glukokortykoidów mają różnorodny charakter. Oddziałują zarówno na mechanizmy humoralne jak i komórkowe odporności. Steroidy hamują transkrypcję licznych genów kodujących białka uczestniczące w przebiegu reakcji zapalnej, w tym interleukin: IL-1 -2, -3, -4, -5, -6, -11, -13, TNF- $\alpha$ , GM-CSF, chemokin: IL-8, MCP 1-4, RANTES, MIP-1 $\alpha$ , cząstek adhezyjnych: VCAM-1, ICAM-1, E-selektyny, a także enzymów regulujących syntezę mediatorów: indukowalną syntezę tlenku azotu, cyklooksygenazę 2, cytoplazmatyczną fosfolipazę A<sub>2</sub> [18]. Glukokortykoidy ograniczają żywotność eozynofili, redukują liczbę komórek dendrytycznych, wykazują działanie supresyjne względem limfocytów i bazofoili [18]. Przez hamowanie funkcji kinaz Lck/Fyn oddziałują supresorowo na większość szlaków sygnałowych związanych z aktywacją limfocytów T. Działanie takie wykazano dla deksametazonu i prednizolonu. Glukokortykoidy wykazują silne działanie lityczne względem limfocytów T. Wbudowując się w strukturę błony komórkowej doprowadzają do jej zmian fizykochemicznych, co może zaburzać transport jonów i wytwarzanie ATP [1]. Glukokortykoidy indukują stabilny przeciwzapalny fenotyp u monocytów, a ich interakcja z limfocytami T ogranicza proliferację i uwalnia cytokiny zarówno przez limfocyty CD4<sup>+</sup> jak i CD8<sup>+</sup> oraz wzmacnia generowanie limfocytów Foxp3<sup>+</sup>. W doświadczalnym modelu zapalenia jelita grubego wykazano, iż podanie monocytów uprzednio potraktowanych glukokortykoidem tłumi stan zapalny i doprowadza do znaczącej poprawy w ciągu kilku dni. Obserwowanym zmianom towarzyszył spadek sekrecji IFN- $\gamma$  i IL-17 oraz pojawienie się limfocytów T CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> w miejscach zmian zapalnych. Wskazywać to może na zdolność glukokortykoidów do modyfikacji odpowiedzi limfocytów T za pośrednictwem innych komórek, a zwłaszcza monocytów [85]. Okazuje się, iż mechanizm działania tej grupy związków może podlegać zmianom w zależności od sposobu podania leku. Schweingruber i wsp. [72] wykazali w badaniach *in vivo* na doświadczalnym modelu autoimmunizacyjnego zapalenia mózgu i rdzenia kręgowego u myszy, że glukokortykoid zamknięty w liposomie, w przeciwieństwie do jego postaci wolnej, tylko w ograniczonym zakresie oddziałował na funkcje i apoptozę limfocytów T. Lek w liposomie ograniczał natomiast z dużą skutecznością funkcje prozapalne makrofagów nasilając w nich regulację genów związanych z uzyskaniem przez te komórki fenotypu M2. Co istotne, używając takiej postaci leku osiągnięto skutek terapeutyczny jak z użyciem glukokortykoidu w wolnej postaci, ale przy zdecydowanie zredukowanej dawce i częstotliwości podawania [72].



Stosowanie glukokortykoidów, zwłaszcza w wysokich dawkach, ogranicza występowanie licznych działań niepożądanych obejmujących m.in.: potliwość, zaburzenia dobowego rytmu snu, nasilenie apetytu, hipercholesterolemię, zaćmę, osteoporozę, cukrzycę, wrzody żołądka, zespół Cushinga (związany z podwyższonym stężeniem steroidów kory nadnerczy), nadciśnienie, jałową martwicę kości, objawy neuropsychiatryczne, a ich różnorodność jest następstwem złożoności oddziaływań glikokortykosteroidów na komórki [39,51,66]. Nie zmienia to faktu, iż preparaty z grupy glikokortykosteroidów są jednymi z najczęściej stosowanych w medycynie [48] i tylko w samych Stanach Zjednoczonych na leki te wydawanych jest rocznie ponad 40 milionów recept [39].

### LEKI CYTOSTATYCZNE

Leki cytostatyczne stanowią bardzo heterogenną grupę. Ich działanie opiera się na hamowaniu podziałów komórkowych zarówno limfocytów T, jak i limfocytów B [15,67]. Część cytostatyków ujawnia działanie niezależnie od fazy cyklu komórkowego, inne wykazują aktywność swoistą dla danej fazy [94]. Mniejsze dawki podawane są pacjentom z chorobami autoimmunizacyjnymi, natomiast większe – z nowotworami. Biorąc pod uwagę mechanizm działania, w obrębie leków cytostatycznych można wyróżnić: leki alkilujące, antymetabolity, antybiotyki cytotoksyczne [67].

Spośród 16 różnych preparatów alkilujących [94], jednymi z częściej stosowanych są cyklofosfamid, chlorambucyl, pochodne nitromocznika, pochodne platyny (cisplatyna, karboplatyna) [67]. Mechanizm działania związków alkilujących opiera się na wytworzeniu reaktywnego jonu alkilującego azot w pozycji 7 (N7) guaniny, która jest najbardziej nukleofilowym składnikiem DNA, co powoduje pęknięcia w nici kwasu deoksyrybonukleinowego (DNA) lub powstawanie wiązań krzyżowych między niemi jednej cząsteczki kwasu nukleinowego [14,34,82]. Stosowanym od półwiecza preparatem alkilującym jest cyklofosfamid (CTX) [50]; znalazł szerokie zastosowanie zwłaszcza w leczeniu różnych postaci nowotworów (w tym: białaczki, szpiczaka mnogiego, ziarnicy złośliwej, raka sutka, nabłonniaka komórkowego, raka trzonu macicy, mięsaka), a także w transplantologii i w leczeniu niektórych chorób o podłożu autoimmunizacyjnym [14,76,94]. Może być stosowany w monoterapii lub jednocześnie z innymi lekami [31]; podawany jest pacjentom w postaci doustnej (w tabletkach) lub dożylnie [82]. Większość leku ulega wchłonięciu oraz wydalaniu [82]. Nieznaczna jego ilość ulega przekształceniom w wątrobie w 4-hydroksycyklofosfamid, który następnie podlega kolejnym przekształceniom zarówno w postaci aktywne, jak i nieaktywne [50,82]. Postaci aktywne, takie jak iperyt fosfoamidowy czy akroleina odpowiadają za toksyczność CTX, doprowadzają do bezpośredniej alkilacji DNA, a w konsekwencji do tworzenia błędnych, niesparowanych par zasad oraz zahamowania replikacji materiału genetycznego [14,34,36,82]. Lek wykazuje działanie przeciwzapalne, z czym jest związane obniżenie

nie parametrów stanu zapalnego, takich jak OB, stężenie białka C-reaktywnego oraz innych białek ostrej fazy [14,82]. U osób przyjmujących cyklofosfamid obserwuje się wiele działań niepożądanych, w tym nudności, wymioty, biegunki, osłabienie, gorączkę, dreszcze, bóle mięśniowo-szkieletowe oraz liczne infekcje [14]. Wysokie dawki leku mogą wywołać pancytopenię (nieodobór wszystkich elementów morfotycznych krwi) i krwotoczne zapalenie pęcherza moczowego [14,34,76]. Następstwem terapii z udziałem cyklofosfamidu może być też leukopenia pojawiająca się już po odstawieniu leku (profound leukopenia), będąca skutkiem ciężkiego uszkodzenia tkanki hematopoetycznej i limfoidalnej. Zawsze dochodzi do regeneracji uszkodzonej tkanki jeśli CTX stosowany był w monoterapii, co może sugerować względną oporność komórek macierzystych na działanie cytotoksyczne cyklofosfamidu [8,74]. Obecnie są prowadzone prace nad otrzymaniem biodegradowalnych i bioresorbowalnych polimerowych matryc nośnikowych cyklofosfamidu, co pozwoliłoby uzyskać warunki kontrolowanej kinetyki uwalniania substancji leczniczej i osiągnąć skuteczny system terapeutyczny [94]. Podejmowane są również próby opracowania pochodnych cyklofosfamidu tak, by zachowując dużą aktywność cytostatyczną możliwie zredukować występowanie działań niepożądanych. Jednym z pomysłów jest zastąpienie atomów wodoru deuterem w grupach 2-chloroetylowych ifosfamidu, będącego strukturalnym izomerem cyklofosfamidu. Pierwszą fazę badań klinicznych przeszedł inny polski lek będący pochodną CTX, a mianowicie (S)-(-)-bromofosfamid [50].

Wspólną cechą antymetabolitów jest oddziaływanie na syntezę kwasów nukleinowych przez wbudowywanie się w ich strukturę lub hamowanie podstawowych reakcji enzymatycznych w metabolizmie komórkowym [16]. Antymetabolity są grupą leków, do której należą substancje o strukturze odwzorowującej naturalnie występujące cząsteczki, kluczowe m.in. dla syntezy DNA i RNA, procesów naprawczych DNA, i które dzięki swej analogii strukturalnej do tych cząsteczek zakłócają procesy komórkowe zachodzące z ich udziałem [16,62]. Wśród tych związków można wyróżnić: analogi kwasu foliowego (metotreksat), analogi puryn (azatiopryna oraz 6-merkaptopuryna), inhibitory syntezy protein [67]. Metotreksat jest analogiem kwasu foliowego, wiążącym reduktazę dihydrofolianową, co zapobiega syntezie tetrahydrofolianu [42,75]. Znajduje zastosowanie w transplantologii i terapii chorób autoimmunizacyjnych, takich jak: łuszczyca, łuszczycowe zapalenie stawów, RZS, choroba Leśniowskiego-Crohna [83] oraz w chorobach nowotworowych [75]. Jego mechanizm działania opiera się na ingerencji w syntezę DNA, niezbędną do proliferacji komórek [14]. Metotreksat wykazuje silne działanie toksyczne [94]. Umiarkowane działania niepożądane, takie jak dyspepsja, nudności, czy biegunka – ze strony układu pokarmowego, wysypka na skórze czy też niewielkie zaburzenia układu nerwowego objawiające się zaburzeniem koncentracji i bólem głowy, mogą się pojawić po 24-48 godzinach od podania leku [42]. Jednak nawet

niewielkie dawki leku mogą doprowadzić do poważnych zaburzeń, a nawet śmierci u niektórych pacjentów, dlatego tak ważne jest monitorowanie ich stanu zdrowia po rozpoczęciu leczenia [42]. Azatiopryna to lek o działaniu cytotoksycznym oddziałujący na proces proliferacji limfocytów, używany głównie w zapobieganiu odrzucenia przeszczepu, a także stosowany w przypadku leczenia chorób autoimmunizacyjnych oraz nowotworowych [68]. Ulega nieenzymatycznemu cięciu do 6-merkaptopuryny, która konkuruje z monofosforanem inozyny w syntezie adenylo-5'-monofosforanu (AMP) i guanylo-5'-monofosforanu (GMP), a następnie wbudowuje się do DNA jako nukleotyd tioguaniny w miejscach właściwych puryn, co uniemożliwia syntezę DNA [61]. Następnym tego procesu jest zaburzenie odporności komórkowej i humoralnej przez uniemożliwienie zajścia ekspansji klonalnej limfocytów w początkowej fazie odpowiedzi immunologicznej [61].

Antybiotyki cytotoksyczne inaczej nazywane antybiotykami hamującymi rozwój guza to grupa leków odznaczających się wielokierunkowym działaniem związanym przede wszystkim z zaburzaniem syntezy DNA i RNA, upośledzaniem mechanizmów naprawy DNA, tworzeniem wolnych rodników uszkadzających nić DNA i inne struktury komórkowe [37,62,67]. Do tej grupy cytostatyków należą: antracykliny, aktynomycyna D, bleomycyna, mitomycyna C, mitramycyna [59,67]. Jednymi z szerzej stosowanych antybiotyków cytotoksycznych są antracykliny, a wśród nich daunorubicyna i doksorubicyna, używane m.in. w ostrej leukemii, chorobie Hodgkina, raku piersi, a także w procedurze przygotowania pacjenta do przeszczepu szpiku kostnego [25]. Wyizolowane zostały na początku lat sześćdziesiątych XX w. z wytwarzającego czerwony barwnik *Streptomyces pneumoniae* [80]. Mechanizm działania antracyklin na komórkę jest wielowymiarowy i obejmuje m.in. modyfikację struktury DNA przez: tworzenie kompleksów interkalacyjnych powodujących wydłużenie heliksu DNA i zmniejszenie jego elastyczności, kowalencyjne wiązanie do nici DNA nadające jej niezwykłą stabilność, a także zmiany w strukturze zasad azotowych. Łącząc się z DNA antracykliny blokują jego replikację, proces transkrypcji oraz elongację łańcucha RNA. Uszkodzenie nici DNA może być skutkiem nie tylko bezpośredniego wiązania antracyklin, ale oddziaływania reaktywnych form tlenu powstających w reakcjach redoks antracyklin [80]. Antracykliny indukują proces apoptozy, oddziałując nie tylko na komórki już będące w stanie aktywacji, ale także na komórki nieaktywowane, będące w fazie G<sub>0</sub>-G<sub>1</sub> cyklu komórkowego. Wykazano, iż wywołana działaniem antracyklin apoptoza limfocytów zachodzi w sposób niezależny zarówno od oddziaływań CD95/CD95-ligand, jak i TNF- $\alpha$ /TNF-receptor, i prowadzi do szybkiej i masywnej deplecji limfocytów T i B [25]. Kardiotoxyczność antracyklin, będąca przede wszystkim pochodną generowania wolnych rodników, skłania do poszukiwań nowych pochodnych, które mając porównywalną lub większą skuteczność odznaczałyby się słabszą toksycznością. Dotychczas

opracowano ponad 2000 pochodnych antracyklin, jednak tylko ich nieduża część znalazła zastosowanie kliniczne lub jest na etapie badań *in vitro* [80]. Nową klasę czynników immunosupresyjnych może wyznaczać analog 13-deoxy, 5-iminodoksorubicyna (DIDOX). W porównaniu do pierwowzoru odznacza się brakiem grupy karbonylowej przy węglu C13 oraz modyfikacją pierścienia chinonu w pozycji C5 wynikającą z przyłączenia grupy iminowej. Dokonana modyfikacja molekularnych komponentów ma na celu uniknięcie powstawania wolnych rodników w reakcjach redoks związanych z tymi właśnie strukturami. Badania *in vitro* oraz na modelu zwierzęcym z wykorzystaniem królików wykazały, iż pochodna ta przy znacząco mniejszym działaniu kardiotoxycznym w porównaniu ze swoim pierwowzorem, bardzo skutecznie hamuje proliferację limfocytów T i ogranicza ekspresję markerów aktywacji limfocytów T, zwłaszcza CD25, która to molekula jest związana ze wzrostem limfocytów T i stanowi element receptora IL-2 generującego sygnał związany ze wzrostem i różnicowaniem limfocytów B, komórek NK i makrofagów [58].

## PRZECIWCIAŁA

Przeciwciała znalazły szerokie zastosowanie, zwłaszcza jako szybka i skuteczna metoda zapobiegania odrzucaniu przeszczepu; ze względu na ich swoistość dzieli się na mono- i poliklonalne [26,27,67]. Przeciwciała poliklonalne są stosowane do hamowania aktywności limfocytów T doprowadzając do ich lizy. Uszkodzone komórki są usuwane przez komórki układu siateczkowo-śródbłonkowego śledziony i wątroby. W ten sposób zostają zahamowane reakcje odpowiedzi odpornościowej typu komórkowego związane m.in. z odrzuceniem przeszczepu czy obecne w przebiegu choroby przeszczep przeciw gospodarzowi (GvHD, graft versus host disease). Przeciwciała poliklonalne wpływają na wszystkie populacje limfocytów i powodują uogólnioną immunosupresję, która może doprowadzić do potransplantacyjnego zespołu limfoproliferacyjnego (PTLD, post-transplant lymphoproliferative disorder) oraz poważnych infekcji, zwłaszcza wywołanych wirusem cytomegalii [67]. W praktyce klinicznej stosuje się globuliny antytymocytarne będące poliklonalnymi przeciwciałami klasy IgG otrzymanymi z surowicy koni lub królików immunizowanych ludzkimi tymocytami [61]. Ze względu na dużą immunogenność przeciwciał wprowadzanych do organizmu pacjenta, ich stosowanie obarczone jest wieloma działaniami niepożądanymi, w tym tzw. burzą cytokinową objawiającą się m.in. gorączką, dreszczami, drastycznym spadkiem ciśnienia [61]. Pacjentowi podaje się albo same wysoce oczyszczone frakcje przeciwciał poliklonalnych, albo przeciwciała z lekami immunosupresyjnymi, takimi jak glikokortykosteroidy, inhibitory kalcyneuryny czy cytostatyki – najczęściej wybierana jest cyklosporyna [66,67].

Przeciwciała monoklonalne odznaczają się dużą swoistością względem konkretnego epitopu antygeny.

Selektywność ich działania sprzyja ograniczeniu efektów niepożądanych w czasie stosowania, niemniej jednak również obarczone jest ryzykiem ciężkich powikłań. Jednymi z bardziej znaczących tego typu przeciwciał są bazyliksymab i daklizumab skierowane przeciwko podjednostce  $\alpha$  receptora IL-2 (CD25) oraz muromonab skierowany przeciwko cząsteczce CD3 [26,64,83]. Stosowane są w transplantologii zapobiegając odrzuceniu przeszczepu. Bazyliksymab i daklizumab wiążą się z łańcuchem  $\alpha$  obecnego na powierzchni limfocytów T receptora IL-2 i w ten sposób uniemożliwiają aktywację limfocytów za pośrednictwem szlaków zależnych od tej cytokiny [61,83]. Ograniczeniu ulega proliferacja i w efekcie ekspansja klonalna aktywowanych limfocytów i skraca się czas ich życia [10,11,36,37]. Ponadto daklizumab jest stosowany także w innych schorzeniach, u podstaw których leżą nieprawidłowo przebiegające procesy odpornościowe; opisano jego pozytywny wpływ w leczeniu łuszczycy [78]. Efektem stosowania muromonabu (OKT3), łączącego się z cząsteczką CD3, stanowiącą składnik kompleksu receptora TCR (T cell receptor), jest deplecja limfocytów T [61,83]. OKT3 to mysia immunoglobulina (Ig) klasy IgG2a będąca pierwszym zatwierdzonym do stosowania klinicznego przeciwciałem monoklonalnym anty-CD3 [66,67]. Mechanizm działania OKT3 nie jest poznany [55], wiadomo, że wiąże się do kompleksu receptora limfocytu T (TCR) TCR/CD3. W ten sposób OKT3 blokuje wiązanie TCR z antygenem i powoduje zmiany konformacyjne lub złuszczenie kompleksu TCR/CD3 z powierzchni limfocytów T. To prawdopodobnie sprzyja ich łatwiejszemu wychwytywaniu (uptake) przez komórki układu siateczkowo-śródbłonkowego obniżając konsekwencji liczbę limfocytów T. Krzyżowe wiązanie CD3 aktywuje również wewnątrzkomórkowe sygnały związane z rozwojem anergii lub apoptozy limfocytów T [67]. O ile stosowanie bazyliksymabu i daklizumabu nie wywołuje poważnych działań niepożądanych i jest zazwyczaj dobrze tolerowane to użyciu mAb anty-CD3 towarzyszy wysokie ryzyko rozwinięcia zagrażającej życiu „burzy cytokinowej” oraz powikłań neuropsychiatrycznych [61,83]. Limfocyty B są komórkami docelowymi dla rytuksymabu, będącego chimerycznym, ludzko-mysim przeciwciałem monoklonalnym skierowanym przeciwko obecnemu na powierzchni tych komórek cząsteczkom CD20 [46]. Stosowany jest w terapii wywodzących się z limfocytów B chłoniaków, a ponadto znalazł zastosowanie w leczeniu aż 29 różnych chorób autoimmunizacyjnych, w tym toczenia rumieniowatego układowego (TRU), RZS, zapalenia skórno-mięśniowego (DM, dermatomyositis), zapalenia naczyń krwionośnych z obecności przeciwciał przeciwko cytoplazmie granulocytów (ANCA-positive vasculitis) [66,67,73,83]. Rytuksymab w terapii RZS bywa stosowany łącznie z metotreksatem [73] lub z preparatem należącym do grupy anty-TNF- $\alpha$  [46]. Inną cząsteczką docelową w terapii immunosupresyjnej z użyciem przeciwciał monoklonalnych jest molekula powierzchniowa CD54, obecna na limfocytach, makrofagach, komórkach dendrytycznych. Użycie mAb anty-CD54 (alemtuzumab) skutkujące długotrwałą deplecją tych komórek, znalazło

zastosowanie zarówno w immunoprofilaktyce u biorców przeszczepu, jak również w leczeniu wielu chorób o podłożu autoimmunizacyjnym, w tym RZS, SM, a także GvHD czy przewlekłej białaczki limfatycznej B-komórkowej [83]. Stosowanie alemtuzumabu również jest obarczone ryzykiem wystąpienia działań niepożądanych, obejmujących m.in.: umiarkowany efekt „burzy cytokinowej” czy dysfunkcje tarczycy [26,83]. Cząsteczkami docelowymi dla immunosupresyjnych przeciwciał monoklonalnych stały się również obecne na powierzchni limfocytów integryny. Te cząsteczki adhezyjne umożliwiają przemieszczanie się komórek. Migracja aktywowanych limfocytów T do struktur ośrodkowego układu nerwowego jest wiązana z patogenizacją stwardnienia rozsianego. Przeciwciała monoklonalne zwane natalizumab poszerzyły zestaw dostępnych środków stosowanych w terapii tego schorzenia. Natalizumab to mAb łączące się z podjednostką  $\alpha 4$  będącą elementem strukturalnym integryny  $\alpha 4\beta 1$  oraz  $\alpha 4\beta 7$ . Te odznaczające się dużą swoistością humanizowane przeciwciała działają w roli antagonistów uniemożliwiając łączenie się integryn z ich ligandami, odpowiednio: VCAM-1 i MAdCAM-1, obecnymi na powierzchni komórek śródbłonki naczyń krwionośnych. W ten sposób dochodzi do redukcji migracji limfocytów do miejsc objętych reakcją zapalną w tkance nerwowej mózgu i rdzenia kręgowego i osłabienia zapalenia [40,63]. Znaczenie działania tych przeciwciał wzrasta biorąc pod uwagę to, iż blokując interakcję integryny  $\alpha 4\beta 1$  z innymi jej ligandami, takimi jak fibronektyna i osteopontyna, mogą hamować modulowaną pod wpływem tych interakcji przeżywalność, uczulenie (priming) oraz aktywację limfocytów [63]. Natalizumab znalazł ponadto zastosowanie w chorobie Leśniowskiego-Crohna, w której przebiegu występuje przewlekły stan zapalny jelit [70]. Użycie natalizumabu zawsze powinno być wypadkową oczekiwanych korzyści względem ryzyka związanego z wystąpieniem rzadkich, jednak o ciężkim przebiegu powikłań, w tym postępującej wieloogniskowej leukoencefalopatii [78,79].

Niezwykle ważną rolę w regulacji mechanizmów odpornościowych zarówno odpowiedzi komórkowej jak i humoralnej odgrywają cytokiny. TNF- $\alpha$  jest główną cytokiną o właściwościach prozapalnych i szerokim zakresie oddziaływania na odporność. Cytokinie tej przypisuje się główną rolę w przebiegu procesów zapalnych związanych z takimi chorobami jak RSZ, zeszywnie zapalenie stawów kręgosłupa, łuszczycą, nieswoiste zapalenie jelit [9]. W ich leczeniu zastosowanie znalazły dwa rodzaje przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko TNF- $\alpha$ : infliksymab i adalimumab. Infliksymab to przeciwciało będące ludzko-mysią chimerą klasy IgG1. Wiąże się zarówno z TNF- $\alpha$  jak i TNF- $\beta$  neutralizując aktywność komórek wytwarzających te cytokiny i doprowadza do ich lizy. Adalimumab jest przeciwciałem humanizowanym klasy IgG1, które z dużym powinowactwem wiąże się z TNF- $\alpha$ . Ze względu na zastąpienie w strukturze tego przeciwciała elementów mysich elementami charakterystycznymi dla przeciwciał ludzkich (humanizacja) ograniczono ryzyko wytwarzania

przez organizm pacjenta przeciwciał neutralizujących adalimumab [53]. Terapia z wykorzystaniem mAb anty-TNF- $\alpha$  obarczona jest wysokim ryzykiem rozwoju wielu negatywnych następstw, przede wszystkim związanych z pojawieniem się infekcji, w tym reaktywacją latentnej gruźlicy. Istnieją ponadto doniesienia wiążące ten rodzaj terapii z procesem demielinizacji w obrębie ośrodkowego układu nerwowego, niewydolnością serca, czy rozwinięciem objawów przypominających toczeń [78].

Podejmowane są wysiłki na rzecz zastosowania przeciwciał monoklonalnych w ograniczaniu procesów zapalnych występujących w przebiegu alergii. Pozytywne wyniki prób użycia mAb skierowanych przeciwko immunoglobulinom klasy IgE, odgrywającym zasadniczą rolę w odpowiedzi na alergen, uzyskano u osób z astmą, wypryskiem (eczema) oraz alergią pokarmową [78]. Omalizumab jest humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym anty-IgE zalecanym w terapii astmy u osób, u których zawodzą konwencjonalne sposoby leczenia. Przeciwciało to zapobiega sezonowym okresom nasilenia choroby i redukuje jej objawy oraz może pozwolić na zmniejszenie dawek wziewnych glukokortykoidów. Wprowadzenie omalizumabu do szerszej praktyki klinicznej napotyka jednak na pewne ograniczenia wynikające przede wszystkim z wysokich kosztów preparatu oraz braku danych odnoszących się do bezpieczeństwa ich stosowania przez długi okres u dzieci [10].

Interesujący kierunek poszukiwania nowych preparatów immunosupresyjnych wyznaczają przeciwciała monoklonalne sprzężone z odpowiednią cząsteczką, np. toksyną. W tak powstałych koniugatach terapeutycznych (ADC, antibody-drug conjugates) przeciwciało pełni rolę nośnika dla czynnika terapeutycznego, który z większą precyzją może oddziaływać na komórkę docelową, przy ograniczonym jednocześnie niekorzystnym wpływie na komórki niezmienione chorobowo. Skuteczność koniugatu zależy zatem w dużej mierze od interakcji między przeciwciałem monoklonalnym i antygenem przeciwko któremu jest skierowane. Przeciwciała stanowiące element koniugatu są wysoce swoiste względem antygenów, których ekspresja jest podwyższona na komórkach docelowych, np. komórkach nowotworowych. Przykładem koniugatów dopuszczonych do użycia są preparaty trastuzumab-DM1 (mAb anty-HER2 powiązane z emtazyną, czynnikiem o działaniu inhibitorowym na mikrotubule), stosowanym w leczeniu raka piersi charakteryzującego się nadekspresją HER2 (human-epidermal growth factor receptor 2) na komórkach nowotworowych oraz brentuksymab-vedotin (mAb anty-CD30 z powiązanym kowalencyjnie z inhibitorem mikrotubuli auristatyną E) stosowany w leczeniu chłoniaka Hodgkina [54,71,87,91]. Zastosowanie przeciwciał związanych z dodatkową cząsteczką nie ogranicza się tylko do terapii nowotworów. Podejmowane są próby opracowania koniugatów terapeutycznych dla chorób autoimmunizacyjnych i tych, u podłoża których leży stan zapalny. Wang i wsp. [88] opracowali koniugat składający się z humanizowanych mAb klasy IgG skierowanych prze-

ciwko cząsteczce CD184 (CXCR4) i dasatinibu wykazującego działanie inhibitorowe względem kinazy Lck, odgrywającej główną rolę w szlaku sygnałowym związanym z receptorem TCR. Badania *in vitro* ujawniły wysoce selektywne działanie koniugatu na limfocyty T oraz duże powinowactwo do receptora TCR, a także jego doskonałą aktywność immunosupresyjną wyrażającą się blokowaniem aktywacji tych komórek.

Stosowanie przeciwciał monoklonalnych jako narzędzia terapeutycznego nie jest tak częste jak można by tego oczekiwać. Jedną z podstawowych przyczyn jest wciąż wysoka cena takich preparatów, a także nie w pełni poznane podstawy molekularne chorób. Problemem nadal pozostają niekiedy ciężkie w przebiegu działania niepożądane, a ponadto dość uciążliwy i mało komfortowy pozajelitowy sposób podawania przeciwciał [78].

## LEKI DZIAŁAJĄCE NA IMMUNOFILINY

Immunofilinami określa się białka odznaczające się zdolnością wiązania z substancjami immunosupresyjnymi [43,86]. Immunofiliny znajdujące się w wielu typach organizmów, w tym bakteriach, grzybach, roślinach i zwierzętach, a ponadto również w wirusach. Uczestniczą w różnorodnych procesach wewnątrzkomórkowych związanych m.in. z apoptozą, przesyłaniem sygnałów, przetwarzaniem RNA, stabilizacją kompleksów receptorów [86]. Dwie podstawowe grupy immunofilin wyznaczają białka wiążące się z cyklosporyną A i związkiem FK506 (takrolimus), zwane odpowiednio: cyklofilinami i FKBP (białkami wiążącymi FK506, FK506-binding proteins) [86]. Immunofiliny wykazują aktywność izomerazową oraz chaperonową [43], wynikającą z przyspieszania procesu fałdowania białek i regulacji homeostazy komórkowej przez asystowanie w procesie fałdowania białek będących w nienatycznych konformacjach zapobiegając ich agregacji i degradacji [33,43].

Leki działające na immunofiliny znalazły głównie zastosowanie w transplantologii, ale także chorobach skórnych, takich jak łuszczyca, atopowe zapalenie skóry, piodermia zgorzelinowa, rzadziej są stosowane w toczeniu rumieniowatym [3]. Do leków tych zalicza się przede wszystkim: cyklosporynę, takrolimus oraz sirolimus [67]. Cyklosporyna to 11-aminokwasowy peptyd wyizolowany po raz pierwszy z grzybów *Tolypocladium inflatum* [45]. Pierwszą wyizolowaną i opisaną cyklosporyną była cyklosporyna A [15,45]; należy do grupy antybiotyków makrolidowych [3]. W cytoplazmie immunokompetentnych limfocytów cyklosporyna wiąże białko cyklofilinę i tak powstały kompleks cyklosporyna/cyklofilina hamuje działanie kalcyneuryny [43]. W wyniku przyłączenia do kalcyneuryny zahamowana zostaje aktywność enzymatyczna tej fosfatazy [43]. Uniemożliwia to przejście komórek z fazy  $G_0$  cyklu do  $G_1$ . Lek hamuje też wytwarzanie cytokin, co uniemożliwia skuteczne działanie limfocytów T [49,56,64]. Cyklosporyna A ujawnia niestety bezpośrednie działanie onkogenne, na co wskazują badania *in vitro* i doświadczenia prowadzone



na modelu zwierzęcym z wykorzystaniem myszy z nie-doborami odporności. Mechanizm działania jest związany z jej zdolnością do zwiększania ekspresji TGF- $\beta$ , cytokiny, której przypisuje się rolę w promowaniu inwazji guza i powstawaniu przerzutów, a także uczestnictwo w mechanizmie powodującym przekształcenie fenotypu komórki do inwazyjnego [21]. Cyklosporyna coraz częściej jest wypierana przez nowsze leki immunosupresyjne, np. takrolimus, który ma mniej działań niepożądanych od cyklosporyny [61]. Takrolimus (FK506) jest związkiem wyizolowanym z fermentującej hodowli *Streptomyces tsukubaensis*, mikroorganizmu zidentyfikowanego w 1984 r., w glebie pochodzącej z regionu Tsukuba w Japonii [4,43]. Hamujący wpływ takrolimu na aktywację i różnicowanie limfocytów T przejawia się m.in. selektywnym i gwałtownym blokowaniem akumulacji mRNA dla IL-2, a także innych genów wczesnej fazy aktywacji limfocytów T. Działanie tego preparatu immunosupresyjnego powiązane z jego łączeniem się do kalcyneuryny przez kompleks FKBP-FK506 [43].

Również hamowaniu aktywności kalcyneuryny przypisuje się właściwości immunosupresyjne nowo opisanej substancji o nazwie izogarcinol [12]. Wyizolowano ją z ekstraktu kory *Garcinia mangostana* (mangostan właściwy), drzewa o jadalnych, wyjątkowo aromatycznych owocach, najpowszechniej występującego w Azji południowo-wschodniej. Izogarcinol jest wynikiem szeroko zakrojonych poszukiwań wśród substancji pochodzenia naturalnego, nowych, mniej toksycznych związków niż cyklosporyna A i takrolimus. Pierwsze badania *in vitro* oraz *in vivo* na myszach z allogenicznym przeszczepem skóry wykazały, iż izogarcinol działa immunosupresyjnie przy stosunkowo niskiej cytotoksyczności [12].

Do grupy leków działających na immunofiliny należy także sirolimus (rapamycyna) [83]. Ten antybiotyk makrolidowy jest wytwarzany przez *Streptomyces hygroscopicus* i oddziałuje na drugą fazę aktywacji limfocytów T przez blokowanie transdukcji sygnału zależnej od IL-2 [22]. Tak jak cyklosporyna i takrolimus, sirolimus wiąże się do immunofilin, jednak nie oddziałuje na kalcyneurynę, lecz wiąże się do kinazy białkowej mTOR [61]. W komórkach ssaków stanowi element dwóch odrębnych funkcjonalnie kompleksów białkowych: mTORC1 i mTORC2. Spośród nich tylko ten pierwszy jest bardzo wrażliwy na działanie rapamycyny, która wiążąc się z wchodzącym w jego skład białkiem mTOR doprowadza do blokowania cyklu komórkowego i proliferacji komórek. Dokładny mechanizm działania rapamycyny nie jest poznany. Istnieją przesłanki by sądzić, iż uniemożliwia połączenie kompleksu mTORC1 z jego białkami docelowymi, czego konsekwencją jest zaburzenie procesu fosforylacji m.in. kinazy rybosomalnej S6 (S6K1) oraz białka wiążącego eukariotyczny czynnik inicjacji translacji 4E (4E-BP1) [29,44]. Hamując kinazy i fosfatazy limfocytów T, uniemożliwia przejście z fazy G1 cyklu komórkowego do fazy S. W podobny sposób hamuje też różnicowanie limfocytów B w komórki plazmatyczne, osłabiając wytwarzanie przeciwciał [57].

## LEKI NIESKLASYFIKOWANE

Ostatnią grupą leków immunosupresyjnych są substancje, których ze względu na różnice strukturalne bądź funkcjonalne nie można przypisać do wcześniej wymienionych klas preparatów. W tej grupie mieszczą się interferony, kwas mykofenolowy oraz białka wiążące TNF- $\alpha$  [61,67]. Interferony zdefiniowano jako produkty komórek, które uległy zakażeniu wirusowemu, chroniące inne komórki przed uszkodzeniami wirusowymi [67]. Wykazują właściwości immunomodulacyjne i antyproliferacyjne. Przeciwwirusowe i przeciwnowotworowe działanie interferonów wynika prawdopodobnie z blokowania syntezy białek, pobudzenia układu odpornościowego zarówno przez zwiększenie aktywności fagocytarnej makrofagów i wzmożenie cytotoksycznego działania limfocytów Tc na komórki docelowe, jak i z bezpośredniego zahamowania niektórych onkogenów [67]. IFN- $\beta$  oddziałuje hamująco na wytwarzanie limfocytów pomocniczych typu Th1, co wiąże się z brakiem wytwarzania przez nie cytokin oraz aktywacji monocytów. Wykazano również zdolność IFN- $\gamma$ , która doprowadza limfocyty do apoptozy [67]. W tej grupie substancji wykazujących działanie immunosupresyjne można również umieścić rekombinowane białko fuzyjne etanercept, skierowane przeciwko TNF- $\alpha$ . Jego strukturę tworzą dwie podjednostki p75 receptora TNF- $\alpha$  przyłączone do regionu Fc ludzkiej immunoglobuliny IgG1 [53,90]. Białko to ze względu na swój kompetytywny charakter hamuje wiązanie TNF- $\alpha$  ze swoistym względem cytokiny receptorem, obecnym na powierzchni komórek [53]. Białka wiążące TNF- $\alpha$  znalazły zastosowanie w leczeniu reumatoidalnego zapalenia stawów, chorobie Leśniowskiego-Crohna oraz innych chorobach autoimmunizacyjnych [90]. Kwas mykofenolowy jest lekiem immunosupresyjnym, wpływającym hamująco na aktywność proliferacyjną zarówno limfocytów T jak i B. Ponadto, w przypadku limfocytów B dochodzi do zahamowania wytwarzania przez te komórki przeciwciał, co znalazło zastosowanie w leczeniu m.in. toczenia rumieniowatego układowego [13]. Kwas mykofenolowy zapobiega także odrzutom przeszczepów przez selektywne hamowanie dehydrogenazy monofosforanu inozyny, czyli enzymu podstawowego do syntezy nukleotydu guanozyny [13,67]. Wykazano również immunosupresyjne właściwości witaminy D, a dokładnie jej postaci fizjologicznie aktywnej (1,25-dihydroksycholekalcyferolu). Aktywowane limfocyty T i B na swojej powierzchni zawierają receptory witaminy D, które mogą posłużyć do hamowania szlaków sygnałowych związanych z IL-2. Koncepcja ta została wykorzystana w terapii SM [81]. Limfocyty T u pacjentów chorujących na SM odznaczają się silnym wzmożeniem aktywności różnych kanałów jonowych, od ich sprawnego funkcjonowania zależy utrzymanie właściwego potencjału błonowego aktywowanych limfocytów T oraz zapewnienie m.in. stałego napływu do cytosolu komórki jonów wapnia, niezbędnych w indukcji ekspresji genu IL-2. Stąd blokowanie nadreaktywnych kanałów jonowych może się okazać skuteczną

strategią terapeutyczną. Obiecującym narzędziem wydają się toksyny pozyskiwane z jądów różnych organizmów. Jedną z lepiej scharakteryzowanych toksyn pod względem właściwości immunosupresyjnych jest bloker kanałów potasowych typu ShK, pozyskany z ukwiału *Stichodactyla helianthus*. Ze względu na duży potencjał terapeutyczny, toksyny i ich analogi są obiektem intensywnych badań *in vitro* jak i *in vivo*, zwłaszcza ich wykorzystanie w leczeniu chorób o podłożu autoimmunizacyjnym, w tym stwardnienia rozsianego, reumatoidalnego zapalenia stawów, autoimmunizacyjnego zapalenia mózgu i rdzenia kręgowego. Mimo niewątpliwych zalet wynikających z dużego powinowactwa wiązania do określonych typów kanałów jonowych i bardzo niskiego (pikomolarne lub nanomolarne) efektywnego stężenia, praktyczne zastosowanie preparatów opartych o toksyny wymaga dalszej optymalizacji związanej z podniesieniem ich selektywności działania, zwiększeniem stabilności w surowicy oraz opracowaniem takiej postaci leku, która umożliwi jego bezproblemowe przyjmowanie, np. doustnie [81].

Zaobserwowano interesujące właściwości immunosupresyjne opioidów, wprawdzie są stosowane w celu uśmierzania bólu (szacuje się, że prawie 90% pacjentów z silnymi, przewlekłymi dolegliwościami bólowymi otrzymuje opioidy), to jednocześnie substancje te wiążą się z ich oddziaływaniem na układ odpornościowy [5]. Najpowszechniejszym przejawem immunosupresji indukowanej opioidami jest wzrost podatności/wrażliwości na infekcje. Jedną z najstarszych zachowanych wzmianek na ten temat pochodzi już z XVI w. i dotyczy śmierci chorych na malarię więźniów poddanych eksperymentalnemu leczeniu z użyciem opium [2]. Pierwsze doniesienia sugerujące immunomodulatorowe działanie opioidów pochodzą z końca XIX w. Cantacuzene opisał wówczas spadek odporności na infekcje bakteryjne u świnek morskich poddanych działaniu morfiny oraz jej supresorowe działanie na odpowiedź komórkową [11]. Modulowanie odpowiedzi odpornościowej przez opioidy odbywa się na podobnej zasadzie jak czynią to cytokiny, tzn. przez łączenie się ze swoistymi dla nich receptorami. Co istotne, obecność receptorów opioidowych nie ogranicza się tylko do tkanki nerwowej ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego. Zostały zidentyfikowane również na komórkach odpornościowych [84]. Nie wszystkie leki opioidowe mają jednakową tendencję do wywoływania immunosupresji. Podczas gdy morfina, fentanyl, remifentanyl, petydyna, metadon wykazują znaczące właściwości immunosupresyjne, to oksykodon, buprenorfina i hydromorfon ujawniają je w zdecydowanie mniejszym stopniu, a tramadol odznacza się działaniem immunostymulującym. Zależy to nie tylko od właściwości preparatu, ale też od statusu immunologicznego pacjenta i czasu ekspozycji na lek [2,30]. Działanie immunosupresyjne opioidów wyraża się wielopłaszczyznowo. Pod wpływem morfiny dochodzi m.in. do blokowania funkcji makrofagów oraz osłabienia indukowanej przez IL-1 $\alpha$  i TNF- $\alpha$  chemotaksji leukocytów. W granulocytach nasileniu ulega natomiast

aktywność endopeptydaz, enzymów odgrywających ważną rolę w kontroli procesów zapalnych towarzyszących schorzeniom skóry. Morfina, przez nasilenie wytwarzania IL-4 i IL-5 i osłabianie IL-2 i IFN- $\gamma$  promuje powstawanie limfocytów pomocniczych Th2 i upośledza odpowiedź komórkową [24]. Opioid ten hamuje kaskadę sygnałową w aktywowanych limfocytach T, wyzwaną przez receptor TCR. Zablockowaniu ulega transkrypcja IL-2, jak również aktywacja takich czynników transkrypcyjnych jak: AP-1, NFAT i NF- $\kappa$ B [7]. Metadon, oksykodon i diamorfina hamują wytwarzanie IL-6 przez jednojądrzaste fagocyty, jednak nie wykazują inhibitorycznego wpływu na aktywność fagocytarną oraz wybuch tlenowy [6]. Badania przeprowadzone z wykorzystaniem modelu zwierzęcego wykazały, iż podawaniu morfiny towarzyszy deplecja limfocytów B oraz limfocytów T CD4<sup>+</sup> i T CD8<sup>+</sup> w węzłach chłonnych i śledzionie. Niedobór limfocytów B jest następstwem niedoboru komórek prekursorowych limfocytów B indukowanego działaniem morfiny, natomiast deficyt limfocytów T dotyczy zwłaszcza limfocytów naiwnych oraz pamięci, a także obejmował tymocyty podlegające procesowi selekcji [93]. Immunosupresja wywołana przez opioidy może wyjaśniać wzmożoną zapadalność na infekcje u osób uzależnionych od heroiny [84]. Stosowanie opioidów może zwiększać ryzyko infekcji u określonych grup pacjentów, np. po zabiegach chirurgicznych, urazach, a także poddawanych terapii innymi lekami immunosupresorowymi [30].

## PODSUMOWANIE

Leczenie immunosupresyjne znalazło zastosowanie w wielu dziedzinach medycyny, takich jak np. transplantologia, alergologia, onkologia czy też w terapii chorób autoimmunizacyjnych, w tym RZS, toczenia rumieniowatego układowego, czy SM [23,41,56,57,82]. W przypadku przeszczepu narządu, leki immunosupresyjne wprowadza się zarówno przed, jak i po zabiegu, w celu uniknięcia odrzucenia przeszczepu przez organizm biorcy [23]. Chorym zawsze podaje się dwa preparaty, w tym jeden należący do grupy glikokortykosteroidów, najczęściej prednizon lub metyloprednizolon, drugim lekiem mogą być inhibitory kalcyneuryny, przeciwciała monoklonalne czy też leki łączące się z immunofiliną [23]. Należy pamiętać, iż chory po przeszczepie zażywa leki do końca życia. W przypadku chorób nowotworowych często stosowane są pochodne iperytu azotowego, wchodzące w skład leków cytostatycznych o działaniu alkilującym [37,60,75]. Ich szczególnie korzystny wpływ jest obserwowany w terapii nowotworów u dzieci [36]. Reumatoidalne zapalenie stawów jest chorobą autoimmunizacyjną, w leczeniu której może być stosowana immunosupresja z użyciem cyklofosfamidu i metotreksatu [82]. Choroba często prowadzi do niewydolności wielonarządowej, jednak umiejętna farmakoterapia łagodzi skutki tego schorzenia oraz poprawia komfort życia [82]. Leki immunosupresyjne mogą stanowić element terapii atopowego zapalenia skóry, schorzenia skóry o charakterze przewlekłym lub ostrym

[3]. Zazwyczaj pojawia się już w dzieciństwie, a tworzenie ognisk zapalnych wiąże się z nadreaktywnością układu odpornościowego związaną z limfocytami T [3]. Najczęściej używa się tu niesteroidowe (cyklosporyna A) i steroidowe leki immunosupresyjne mające na celu zahamowanie reakcji między komórkami prezentującymi antygen a limfocytami T [3].

Oprócz oczekiwanego skutku terapeutycznego, stosowanie leków immunosupresyjnych wiąże się z występowaniem licznych, w tym bardzo poważnych działań niepożądanych [35]. Często w wyniku osłabienia aktywności układu odpornościowego dochodzi do zakażeń i zwiększenia ryzyka rozwoju nowotworów [15,21,66]. Najczęściej do niepożądanych skutków leczenia immunosupresyjnego dochodzi u osób po przeszczepach narządów ze względu na długoterminowe podawanie leku w dużej dawce [15]. W przypadku leczenia chorób o podłożu autoimmunizacyjnym, skutki niepożądane występują zdecydowanie rzadziej, co wynika ze stosowania mniejszych dawek leków, jak również możliwości leczenia przerwawanego [15].

Ze względu na występowanie licznych, niekiedy ciężkich działań niepożądanych, podejmuje się wysiłki na rzecz opracowania mniej obciążających organizm metod leczenia z udziałem leków immunosupresorowych. Jeden z kierunków wyznaczają próby dopasowania schematu leczenia immunosupresyjnego do indywidualnego profilu genetycznego danej osoby. Zastosowanie znalazły techniki „omics”, bazujące na określeniu profilu genetycznego pacjenta, przez analizę skanów genomowych oraz haplotypów [92]. Badanie całego genomu ułatwia określenie grup funkcyjnych cząsteczki substancji czynnej leków immunosupresyjnych, które mogą odpowiadać za ich skutek terapeutyczny lub toksyczny [92]. Poza profilem genomowym są rozpatrywane także inne czynniki, w tym wiek, płeć, masa ciała oraz interakcje zachodzące między lekami [92]. Techniki „omics” służą także do wyselekcjonowania potencjalnych celów terapeutycznych dla leków immunosupresyjnych. Procedura ma doprowadzić do całkowicie spersonalizowanego leczenia immunosupresyjnego, cechującego się maksymalnie ograniczonym występowaniem działań niepożądanych. Dotychczas przeprowadzono tylko kilka takich

badani, a ich obszarem zainteresowań jest medycyna przeszczepowa [92].

Podejmowane są wysiłki uzyskania nowych substancji o aktywności immunosupresyjnej, zwłaszcza tych wykazujących jak najmniejsze działania niepożądane [41]. Zainteresowanie budzi caerulemocyyna A, wytwarzana przez *Streptomyces caeruleus*, szczep wyizolowany w Kanadzie już w 1959 r. O substancji tej wiadomo było, iż wykazuje działanie przeciwwgrzybicze i przeciw pasożytniczym pierwotniakom, teraz natomiast odkrywa się jej właściwości immunosupresyjne [20,28,41]. Hamuje odpowiedź limfocytów T i zwiększa przeżywalność przeszczepionego narządu [41]. Związek oddziałuje przez wyłapywanie jonów żelaza, które pełnią główną funkcję regulacyjną podczas proliferacji limfocytów [41]. Innym odkrytym niedawno związkiem o działaniu immunosupresyjnym jest TIPP (thymic immunosuppressive pentapeptide), otrzymywany z grasicy cielęcej, który mógłby znaleźć zastosowanie w zwalczaniu chorób o przebiegu alergicznym [47]. Wykazano, iż może hamować szlak sygnałowy inicjowany związaniem przeciwciał klasy IgE, przez blokowanie procesu fosforylacji kinaz ERK1/2 oraz MEK1/2 i w konsekwencji może hamować aktywację czynnika NF-κB. Prowadzi to do ograniczenia degranulacji mastocytów oraz wydzielaniu cytokin prozapalnych [47]. Ograniczeniu występowania działań niepożądanych związanych ze stosowaniem immunosupresji służyłoby zwiększenie swoistości działania leku immunosupresyjnego. Interesującym rozwiązaniem wydaje się połączenie właściwości przeciwciał i toksyn [88].

Pomimo licznych działań niepożądanych, immunosupresja często pozostaje jedynym skutecznym rozwiązaniem w transplantologii, leczeniu chorób autoimmunizacyjnych, alergicznych, a także nowotworowych [15,38,56,68,89]. Wprowadzenie innowacyjnych, spersonalizowanych koncepcji terapii, poszukiwanie nowych, bardziej wybiórczo działających preparatów oraz substancji odznaczających się słabszymi działaniami niepożądanymi pozwala mieć nadzieję, iż leczenie immunosupresyjne może być mniej obciążające dla organizmu pacjenta, chociaż opracowanie idealnej terapii, tj. efektywnej i pozbawionej działań niepożądanych wydaje się perspektywą dość odległą.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Alangari A.: Genomic and non-genomic actions of glucocorticoids in asthma. *Ann. Thor. Med.*, 2010; 5: 133-139
- [2] Al-Hashimi M., Scott S.W., Thompson J.P., Lambert D.G.: Opioids and immune modulation: more questions than answers. *Br. J. Anaesth.*, 2013; 111: 80-88
- [3] Barańska-Rybak W., Nowicki R.: Nowe miejscowe niesteroidowe leki immunosupresyjne w leczeniu zespołu atopowego zapalenia skóry u dzieci i dorosłych. *Alerg. Astma Immun.*, 2003; 8: 69-77
- [4] Barreiro C., Prieto C., Sola-Landa A., Solera E., Martínez-Castro M., Pérez-Redondo R., García-Estrada C., Aparicio J.F., Fernández-Martínez L.T., Santos-Aberturas J., Salehi-Najafabadi Z., Rodríguez-García

- A., Tauch A., Martín J.F.: Draft genome of *Streptomyces tsukubaensis* NRRL 18488, the producer of the clinically important immunosuppressant Tacrolimus (FK506). *J. Bacteriol.*, 2012; 194: 3756-3757
- [5] Benyamin R., Trescot A.M., Datta S., Buenaventura R., Adlaka R., Sehgal N., Glaser S.E., Vallejo R.: Opioid complications and side effects. *Pain Physician*, 2008; 11: S105-S120
- [6] Boland J.W., Foulds G.A., Ahmedzai S.H., Pockley A.G.: A preliminary evaluation of the effects of opioids on innate and adaptive human in vitro immune function. *BMJ Support. Palliat. Care*, 2014; 4: 357-367
- [7] Börner C., Warnick B., Smida M., Hartig R., Lindquist J.A., Schraven

- B., Höllt V., Kraus J.: Mechanisms of opioid-mediated inhibition of human T cell receptor signaling. *J. Immunol.*, 2009; 183: 882-889
- [8] Botnick LE, Hannon EC, Hellman S.: Limited proliferation of stem cells surviving alkylating agents. *Nature*, 1976; 262: 68-70
- [9] Bradley J.R.: TNF-mediated inflammatory disease. *J. Pathol.* 2008; 214: 149-160
- [10] Busse W.W., Morgan W.J., Gergen P.J., Mitchell H.E., Gern J.E., Liu A.H., Gruchalla R.S., Kattan M., Teach S.J., Pongracic J.A., Chmiel J.F., Steinbach S.F., Calatroni A., Togias A., Thompson K.M., Szeffler S.J., Sorkness C.A.: Randomized trial of omalizumab (anti-IgE) for asthma in inner-city children. *N. Engl. J. Med.*, 2011; 364: 1005-1015
- [11] Cantacuzene J.: Nouvelles recherches sur le monde de destruction des vibrions dans l'organisme. *Ann. Inst. Pasteur*, 1898; 12: 273-300
- [12] Cen J., Shi M., Yang Y., Fu Y., Zhou H., Wang M., Su Z., Wei Q.: Isogarcinol is a new immunosuppressant. *PLoS One*, 2013; 8: e66503
- [13] Chen Y., Chu S.H., Wei T.Y., Yen T.H., Chiang Y.J., Wu C.T., Chen H.W.: Does mycophenolate mofetil increase the incidence of infections in stable renal transplant recipients initially treated with a two-drug regimen? *Transplant. Proc.*, 2004; 36: 2122-2123
- [14] Chwieśko S., Kowal-Bielecka O., Sierakowski S.: Zastosowanie cyklofosfamidu w leczeniu pacjentów z twardziną układową. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2006; 60: 300-306
- [15] Ciliao H.L., Ribeiro D.L., Camargo-Godoy R.B., Specian A.F., Serpeloni J.M., Cólus I.M.: Cytotoxic and genotoxic effects of high concentrations of the immunosuppressive drugs cyclosporine and tacrolimus in MRC-5 cells. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 2015; 67: 179-187
- [16] Cole P.D., Zebala J.A., Kamen B.A.: Antimetabolites: a new perspective. *Drug Discov. Today Ther. Strateg.*, 2005; 2: 337-342
- [17] Coscia L.A., Constantinescu S., Davison J.M., Moritz M.J., Armenti V.T.: Immunosuppressive drugs and fetal outcome. *Best Pract. Clin. Obstet. Gynecol.*, 2014; 28: 1174-1187
- [18] Cosío B.G., Torregro A., Adcock I.M.: Molecular mechanisms of glucocorticoids. *Arch. Bronconeumol.*, 2005; 41: 34-41
- [19] Coutinho A.E., Chapman K.E.: The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2011; 335: 2-13
- [20] Divekar P.V., Read G., Vining L.C.: Caerulomycin, a new antibiotic from *Streptomyces caeruleus* Baldacci. II. Structure. *Can. J. Chem.*, 1967; 45: 1215-1222
- [21] Durlík M.: Nowotwory u biorców przeszczepu nerkowego – rola zakażeń wirusowych i leczenia immunosupresyjnego. *Postępy Nauk Med.*, 2009; 10: 827-833
- [22] Dutta S., Basak B., Bhunia B., Chakraborty S., Dey A.: Kinetics of rapamycin production by *Streptomyces hygroscopicus* MTCC 4003. *Biotech.*, 2014; 4: 523-531
- [23] Ebrahimi A., Hosseini S.A., Rahim F.: Immunosuppressive therapy in allograft transplantation: from novel insights and strategies to tolerance and challenges. *Centr. Eur. J. Immunol.*, 2014; 39: 400-409
- [24] Fallahzadeh M.K., Namazi M.R.: Opioid-mediated immunosuppression as a novel mechanism for the immunomodulatory effect of ultraviolet radiation. *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.*, 2009; 75: 622-623
- [25] Ferraro C., Quemeneur L., Prigent A.F., Taverne C., Revillard J.P., Bonnefoy-Berard N.: Anthracyclines trigger apoptosis of both G0-G1 and cycling peripheral blood lymphocytes and induce massive deletion of mature T and B cells. *Cancer Res.*, 2000; 60: 1901-1907
- [26] Figueiredo R.S., Wilson C.: Modern immunosuppression. *Surgery*, 2014; 32: 344-350
- [27] First M.R.: Immunosuppressive agents and their actions. *Transplant. Proc.*, 2002; 34: 1369-1371
- [28] Funk A., Divekar P.V.: Caerulomycin, a new antibiotic from *Streptomyces caeruleus* Baldacci: I. Production, isolation, assay and biological properties. *Can. J. Microbiol.*, 1959; 5: 317-321
- [29] Gabryel B., Kapalka A., Sobczyk W., Łabuzek K., Gawęda A., Janas-Kozik M.: Dysregulacja szlaku sygnałowego mTOR w patogenezie zaburzeń ze spektrum autystycznego. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2014; 68: 375-383
- [30] Gifford C., Christelis N., Cheng A.: Preventing postoperative infection: the anaesthetist's role. *Cont. Edu. Anaesth. Crit. Care & Pain*, 2011; 11: 151-156
- [31] Grochow L.B.: Covalent-DNA binding drugs. W: Perry M.C. (red.), *The Chemotherapy Source Book*. Baltimore, MD: Williams & Wilkins; 1996; 293-316
- [32] Grzanka A., Jarzab J.: Niegenomowy mechanizm działania glikokortykosteroidów. *Pneumonol. Alergol. Pol.*, 2009; 77: 387-393
- [33] Hartl F.U., Hayer-Hartl M.: Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein. *Science*, 2002; 295: 1852-1858
- [34] Haubitz M.: Acute and long-term toxicity of cyclophosphamide. *Transplantations Medizin*, 2007; 19: 26-31
- [35] Hsu D.C., Katelaris C.H.: Long-term management of patients taking immunosuppressive drugs. *Aust. Prescr.*, 2009; 32: 68-71
- [36] Huyan X.H., Lin Y.P., Gao T., Chen R.Y., Fan Y.M.: Immunosuppressive effect of cyclophosphamide on white blood cells and lymphocyte subpopulations from peripheral blood of Balb/c mice. *Int. Immunopharmacol.*, 2011; 11: 1293-1297
- [37] Ismael G.F., Rosa D.D., Mano M.S., Awada A.: Novel cytotoxic drugs: old challenges, new solutions. *Cancer Treat. Rev.*, 2008; 34: 81-91
- [38] Joo H.N., Kim S., Kang S., Lee K.H.: The use of immunosuppressive drugs and legal implications in xenotransplantation. *Mol. Cell. Toxicol.*, 2010; 6: 327-335
- [39] Judd L.L., Schettler P.J., Brown E.S., Wolkowitz O.M., Sternberg E.M., Bender B.G., Bulloch K., Cidlowski J.A., de Kloet E.R., Fardet L., Joëls M., Leung D.Y., McEwen B.S., Roozendaal B., Van Rossum E.F., Ahn J., Brown D.W., Plitt A., Singh G.: Adverse consequences of glucocorticoid medication: psychological, cognitive, and behavioral effects. *Am. J. Psychiatry*, 2014; 171: 1045-1051
- [40] Kappos L., Bates D., Edan G., Eraksoy M., Garcia-Merino A., Grigoriadis N., Hartung HP., Havrdová E., Hillert J., Hohlfeld R., Kremen-chutzky M., Lyon-Caen O., Miller A., Pozzilli C., Ravnborg M. i wsp.: Natalizumab treatment for multiple sclerosis: updated recommendations for patient selection and monitoring. *Lancet Neurol.*, 2011; 10: 745-758
- [41] Kaur S., Srivastava G., Sharma A.N., Jolly R.S.: Novel immunosuppressive agent caerulomycin A exerts its effect by depleting cellular iron content. *Br. J. Pharmacol.*, 2015; 172: 2286-2299
- [42] Kivity S., Zafrir Y., Loebstein R., Pauzner R., Mouallem M., Maayan H.: Clinical characteristic and risk factors for low dose methotrexate toxicity: a cohort of 28 patients. *Autoimmun. Rev.*, 2014; 13: 1109-1113
- [43] Kochel I., Strządała L.: Rola białek wiążących FK506 w regulacji aktywności czynników transkrypcyjnych w komórkach T. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2004; 58: 118-127
- [44] Laplante M., Sabatini D.: mTOR signaling in growth control and disease. *Cell*, 2012; 149: 274-293
- [45] Lawen A.: Biosynthesis of cyclosporins and other natural peptidyl propyl *cis/trans* isomerase inhibitors. *Biochim. Biophys. Acta*, 2015; 1850: 2111-2120
- [46] Leszczyński P., Pawlak-Buś K.: Czy pacjenta z reumatoidalnym zapaleniem stawów można leczyć dwoma lekami biologicznymi jednocześnie? *Ann. Acad. Med. Stetin.*, 2010; 56: 15-20
- [47] Lian Q., Cheng Y., Zhong C., Wang F.: Inhibition of the IgE-me-



diated activation of RBL-2H3 cells by TIPP, a novel thymic immunosuppressive pentapeptide. *Int. J. Mol. Sci.*, 2015; 16: 2252-2268

[48] Mackiewicz S.: Glikokortykosteroidy – mity i fakty. *Reumatologia*, 2007; 45: 198-204

[49] Manzia T.M., Angelico R., Ciano P., Mugweru J., Owusu K., Sforza D., Toti L., Tisone G.: Impact of immunosuppression minimization and withdrawal in long-term hepatitis C virus liver transplant recipients. *World J. Gastroenterol.*, 2014; 20: 12217-12225

[50] Misiura K.: Leki oksazafosforinane. Poszukiwanie nowych pochodnych, badania metabolizmu i stosowanie nowych strategii terapeutycznych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2004; 58: 463-471

[51] Moghadam-Kia S., Werth V.P.: Prevention and treatment of systemic glucocorticoid side effects. *Int. J. Dermatol.*, 2010; 49: 239-248

[52] Mueller X.M.: Drug immunosuppression therapy for adult heart transplantation. Part 2: clinical applications and results. *Ann. Thorac. Surg.*, 2004; 77: 363-371

[53] Nash P.T., Florin T.H.: Tumour necrosis factor inhibitors. *Med. J. Aust.*, 2005; 183: 205-208

[54] Nevzohay D., Kańska U., Budzyńska R., Boratyński J.: Współczesny stan badań nad koniugatami i innymi systemami dostarczania leków w leczeniu schorzeń nowotworowych i innych jednostek chorobowych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2007; 61: 350-360

[55] Norman D.J.: Mechanisms of action and overview of OKT3. *Ther. Drug Monit.*, 1995; 17: 615-620

[56] Olczak-Kowalczyk D., Bedra B., Śmirska E., Pawłowska J., Grenda R.: Zmiany w jamie ustnej u pacjentów po transplantacji narządów unaczynionych w zależności od rodzaju stosowanej immunosupresji – badanie pilotażowe. *Czas. Stomatol.*, 2006; 11: 759-768

[57] Oliveira V.D., Zankl H., Rath T.: Mutagenic and cytotoxic effects of immunosuppressive drugs on human lymphocyte cultures. *Exp. Clin. Transplant.*, 2004; 2: 273-279

[58] Olson R.D., Headley M.B., Hodzic A., Walsh G.M., Wingett D.G.: In vitro and in vivo immunosuppressive activity of a novel anthracycline, 13-deoxy, 5-iminodoxorubicin. *Int. Immunopharmacol.*, 2007; 7: 734-743

[59] Payne S., Miles D.: Mechanisms of anticancer drugs. W: Scott-Brown's Otorhinolaryngology: Head and Neck Surgery 7th Edition, t.1, red.: M.J. Gleeson, CRC Press Taylor & Francis Group, London 2008, 34-46

[60] Peters G.J., van der Wilt C.L., van Moorsel C.J.A., Kroep J.R., Bergman A.M., Ackland S.P.: Basis for effective combination cancer chemotherapy with antimetabolites. *Pharmacol. Ther.*, 2000; 87: 227-253

[61] Pillans P.: Immunosuppressants – mechanisms of action and monitoring. *Aust. Prescr.*, 2006; 29: 99-101

[62] Płużański A.: Słownik terminów onkologicznych. *Gastroenterologia Kliniczna*, 2010; 2: 117-120

[63] Polman C.H., O'Connor P.W., Havrdova E., Hutchinson M., Kapos L., Miller D.H., Phillips J.T., Lublin F.D., Giovannoni G., Wajgt A., Toal M., Lynn F., Panzara M.A., Sandrock A.W.: AFFIRM Investigators: A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.*, 2006; 354: 899-910

[64] Ponticelli C., Tarantino A., Campise M., Montagnino G., Aroldi A., Passerini P.: From cyclosporine to the future. *Transplant. Proc.*, 2004; 36: 557S-560S

[65] Radzikowska E.: Zapalenia płuc w immunosupresji – ogólne problemy kliniczne. *Pneumonol. Alergol. Pol.*, 2010; 78: 236-243

[66] Rainiene T.: Immunosuppression in the past and today. *Acta Med. Lituanica*, 2005; 12: 10-17

[67] Rathee P., Chaudhary H., Rathee S., Rathee D., Kumar V.: Immunosuppressants: a Review. *Pharma Innovation J.*, 2012; 1: 90-101

[68] Rivinius R., Helmschrott M., Ruhparwar A., Schmack B., Klein B., Erbel C., Gleissner C.A., Akhavanpoor M., Frankenstein L., Darche F.F., Thomas D., Ehlermann P., Bruckner T., Katus H.A., Doesch A.O.: Analysis of malignancies in patients after heart transplantation with subsequent immunosuppressive therapy. *Drug. Des. Devel. Ther.*, 2014; 9: 93-102

[69] Rusinek B., Obtulowicz K., Czarnobilska E.: Receptor glikokortykosteroidowy i molekularny mechanizm działania glikokortykosteroidów w astmie oskrzelowej. *Alergologia. Immunologia*, 2010; 7: 39-43

[70] Sandborn W.J., Colombel J.F., Enns R., Feagan B.G., Hanauer S.B., Lawrance I.C., Panaccione R., Sanders M., Schreiber S., Targan S., van Deventer S., Goldblum R., Despain D., Hogge G.S., Rutgeerts P.: Natalizumab induction and maintenance therapy for Crohn's disease. *N. Engl. J. Med.*, 2005; 353: 1912-1925

[71] Sassoone I., Blanc V.: Antibody-drug conjugate (ADC) clinical pipeline: a review. *Methods Mol. Biol.*, 2013; 1045: 1-27

[72] Schweingruber N., Haine A., Tiede K., Karabinskaya A., van den Brandt J., Wüst S., Metselaar J.M., Gold R., Tuckermann J.P., Reichardt H.M., Lühder F.: Liposomal encapsulation of glucocorticoids alters their mode of action in the treatment of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.*, 2011; 187: 4310-4318

[73] Sebastiani M., Anelli M.G., Atzeni F., Bazzani C., Farina I., Fedele A.L., Favalli E.G., Fineschi I., Cino N., Dal Forno I., Gasparini S., Cassara E., Giardina R., Bruschi E., Addimanda O. i wsp.: Efficacy and safety of rituximab with and without methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis patients: results from the GISEA register. *Joint Bone Spine*, 2014; 81: 508-512

[74] Siena S., Castro-Malaspina H., Gulati S.C., Lu L., Colvin M.O., Clarkson B.D., O'Reilly R.J., Moore M.A.: Effects of in vitro purging with 4-hydroperoxycyclophosphamide on the hematopoietic and microenvironmental elements of human bone marrow. *Blood*, 1985; 65: 655-662

[75] Smorenburg C.H., Sparreboom A., Bontenbal M., Verweij J.: Combination chemotherapy of the taxanes and antimetabolites: its use and limitations. *Eur. J. Cancer*, 2001; 37: 2310-2323

[76] Stefanowicz J., Ruckemann-Dziurdzińska K., Owczuk R., Iżycka-Świeszewska E., Balcerska A.: Nefrotoksyczność pochodnych iperytu azotowego (ifosfamid, cyklofosfamid, trofosfamid) u dzieci. *Nefrol. Dial. Pol.*, 2011; 15: 247-251

[77] Steiner R.W., Awdishu L.: Steroids in kidney transplant patients. *Semin. Immunopathol.*, 2011; 33: 157-167

[78] Swaminathan S., Riminton S.: Monoclonal antibody therapy for non-malignant disease. *Aust. Prescr.*, 2006; 29: 130-133

[79] Szczepański L., Szczepańska-Szerej A.: Postępująca wieloogniskowa leukoencefalopatia a leczenie biologiczne. *Reumatologia*, 2008; 2: 91-94

[80] Szulawska A., Czyż M.: Molekularne mechanizmy działania antracyklin. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2006; 60: 78-100

[81] Thell K., Hellinger R., Schabbauer G., Gruber C.W.: Immunosuppressive peptides and their therapeutic applications. *Drug Discov. Today*, 2014; 19: 645-653

[82] Trefler J., Matyska-Piekarska E., Łącki J.K.: Rola cyklofosfamidu w leczeniu reumatoidalnego zapalenia stawów i jego powikłań. *Pol. Merk. Lekarski*, 2007; 132: 566-570

[83] Trevillian P.: Immunosuppressants – clinical applications. *Aust. Prescr.*, 2006; 29: 102-108

[84] Vallejo R., de Leon-Casasola O., Benyamin R.: Opioid therapy and immunosuppression: a review. *Am. J. Ther.*, 2004; 11: 354-365

[85] Varga G., Ehrchen J., Brockhausen A., Weinlage T., Nippe N., Belz M., Tsianakas A., Ross M., Bettenworth D., Spieker T., Wolf M., Lippe R., Tenbrock K., Leenen P.J., Roth J., Sunderkötter C.: Immune suppression via glucocorticoid-stimulated monocytes: a novel mechanism

nism to cope with inflammation. *J. Immunol.*, 2014; 193: 1090-1099

[86] Vasudevan D., Gopalan G., Kumar A., Garcia V.J., Luan S., Swaminathan K.: Plant immunophilins: a review of their structure-function relationship. *Biochim. Biophys. Acta*, 2014; 14: 3-10

[87] Verma S., Miles D., Gianni L., Krop I.E., Welslau M., Baselga J., Pegram M., Oh D.Y., Diéras V., Guardino E., Fang L., Lu M.W., Olsen S., Blackwell K.: Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer. *N. Engl. J. Med.*, 2012; 367: 1783-1791

[88] Wang R.E., Liu T., Cao Y., Du J., Luo X., Deshmukh V., Kim C.H., Lawson B.R., Tremblay M.S., Young T.S., Kazane S.A., Wang F., Schultz P.G.: An immunosuppressive antibody-drug conjugate. *J. Am. Chem. Soc.*, 2015; 137: 3229-3232

[89] Wang X., Tang X., Xu D.: Immunosuppressive effect of mycophenolate mofetil with two different dosages in cadaveric renal transplantation: a short study. *Transplant. Proc.*, 1998; 30: 3573-3574

[90] Wu C.H., Wu T.C., Liu F.L., Sytwu H.K., Chang D.M.: TNF- $\alpha$  inhibitor reverse the effects of human umbilical cord-derived stem cells on experimental arthritis by increasing immunosuppression. *Cell. Immunol.*, 2012; 273: 30-40

[91] Younes A., Bartlett N.L., Leonard J.P., Kennedy D.A., Lynch C.M., Sievers E.L., Forero-Torres A.: Brentuximab Vedotin (SGN-35) for relapsed CD30-positive lymphomas. *N. Engl. J. Med.*, 2010; 363: 1812-1821

[92] Zaza G., Granata S., Tomei P., Dalla-Gassa A., Lupo A.: Personalization of the immunosuppressive treatment in renal transplant recipients: the great challenge in „Omics” medicine. *Int. J. Mol. Sci.*, 2015; 16: 4281-4305

[93] Zhang E.Y., Xiong J., Parker B.L., Chen A.Y., Fields P.E., Ma X., Qiu J., Yankee T.M.: Depletion and recovery of lymphoid subsets following morphine administration. *Br. J. Pharmacol.*, 2011; 164: 1829-1844

[94] Żółtowska K., Sobczak M.: Perspektywy wykorzystania polimerowych nośników epidoksorubicyny i cyklofosfamid w terapii nowotworów. *Polim. Med.*, 2014; 44: 51-62

---

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.