



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA



II.interní klinika

Martin Bernot

**Literární přehled pokusů o prevenci
autoimunitních onemocnění**
*Review of attempts to prevent autoimmune
diseases*

Diplomová práce

Praha, leden 2009

Autor práce: Martin Bernot

Studijní program: Všeobecné lékařství

Vedoucí práce: **MUDr. Jan Novák, PhD.**

Pracoviště vedoucího práce: **II.interní klinika**

Datum a rok obhajoby: 22.ledna 2009

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci zpracoval samostatně a použil jen uvedené prameny a literaturu. Současně dávám svolení k tomu, aby tato diplomová práce byla používána ke studijním účelům.

V Praze dne 28.prosince 2008

Martin Bernot

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval MUDr. Janu Novákovi, PhD. za jeho odborné konzultace, připomínky a námět diplomové práce a za milý přístup a čas, který věnoval vedení mé diplomové práce. Dále autorům projektu „Onelog“, který je cenným a praktickým portálem pro přístup k vědeckým informacím.

Obsah

Obsah.....	5
Úvod.....	7
1 Autoimunita.....	8
1.1 Co je to autoimunita?.....	8
1.2 Co způsobuje autoimunitní onemocnění?.....	8
1.2.1 Genetické faktory.....	9
1.2.2 Imunologické vlivy.....	10
1.2.3 Faktory humorální.....	10
1.2.4 Faktory prostředí.....	10
1.2.5 Infekční etiologie.....	12
2 Revmatoidní artritida.....	14
2.1 Epidemiologie.....	14
2.2 Klinické projevy.....	14
2.2.1 Kloubní postižení.....	15
2.2.2 Manifestace RA v oblasti úst.....	16
2.2.3 Extraartikulární projevy RA.....	16
2.2.4 Tendosynovitida.....	17
2.2.5 Osteoporóza.....	17
2.2.6 Reaktivní lymfadenopatie.....	17
2.2.7 Feltyho syndrom.....	17
2.2.8 Vaskulitida.....	17
2.2.9 Další projevy.....	18
2.3 Patogeneze.....	18
2.3.1 Inhibice IL-1 β zprostředkované zánětlivé odpovědi.....	20
2.4 Etiologie.....	22
2.4.1 Genetické faktory.....	22
2.4.2 Imunologické faktory.....	23
2.4.3 Faktory prostředí.....	24
2.5 Vnímavost k RA:.....	25
2.6 Terapie.....	26
2.6.1 Režimová opatření.....	26
2.6.2 Fyzikální terapie a rehabilitace.....	26
2.6.3 Farmakologická léčba.....	26
2.6.4 Biologická léčba.....	27
2.6.5 Chirurgická léčba.....	28
3 Možné terapeutické a sekundárně preventivní přístupy.....	28
3.1 Nové disciplíny.....	29
3.2 Použití antagonisty receptoru IL-1 nebo solubilní formy TNF- α receptoru cestou genových vektorů.....	29
3.3 Úloha TNF v kloubní destrukci a TNF inhibitory jako terapeutická činidla.....	31

3.4 Transplantace kostní dřeně a role dárcovských stromálních buněk u nepoddajných AI onemocnění	33
Závěr.....	40
Souhrn.....	42
Summary.....	43
Použitá literatura a informační zdroje.....	44

Úvod

Součástí státnice z preventivního lékařství v rámci magisterského studia všeobecného lékařství je vypracování a prezentace diplomové práce. Vybral jsem si téma diplomové práce „Literární přehled pokusů o prevenci autoimunitních onemocnění“ z oblasti autoimunity, která je zajímavým a ne zcela probádaným fenoménem. V této práci jsem se snažil zaměřit na zajímavé rešeršní poznatky z oblasti autoimunity. Blíže jsem se věnoval revmatoidní artritidě a možným sekundárně preventivním a terapeutickým přístupům u tohoto onemocnění, protože jde o nejčastější autoimunitní onemocnění.

1 Autoimunita

1.1 Co je to autoimunita?

Nemoc může být spojená s imunitou, ale nemusí být autoimunitou. Například s imunitou spojená reakce organismu na infekční agens může vyústit v poškození okolní tkáně. Mykobakterium Tuberculosis je intracelulární organismus, který přežívá v makrofázích a může vyústit v progresivní zánětlivé poškození plic (mechanismem konzumpce). Oproti tomu u autoimunitních onemocnění jsou imunitní efektorové buňky nasměřované proti vlastním antigenům. Kritéria autoimunity byla definována Rosem a Bonou, kteří ustanovili, že přímá zkouška autoimunity je schopnost získaně překonat nemoc pomocí přenesení imunitních buněk; nepřímá zkouška je, když zvířecí model napodobuje lidské onemocnění a to může být i případně přeneseno imunitními buňkami; a nahodilá nemoc je taková, která demonstruje odpověď na imunopresivní činitele. Autoprotilátky se přenášejí transplacentárně z matky na plod, ale T buněčně řízená cytotoxicita vyžaduje rozpoznání vlastních peptidů v rámci HLA molekul. Heterogenita HLA pomáhá rozlišovat mezi tělu vlastním a cizím a omezuje přenos onemocnění spřaženého s T buňkami mezi identickými dvojčaty nebo HLA si odpovídajícími páry dárce-příjemce. Proto nejvíce důkazů pro lidská autoimunitní onemocnění se staví na nepřímých důkazech nebo důkazech vyplývajících z kontextu.

1.2 Co způsobuje autoimunitní onemocnění?

Etiologie ztáty normální tolerance vlastního u autoimunitních onemocnění se považuje za multifaktoriální. Na vývoji těchto onemocnění se podílí faktory genetické, imunologické, humorální a faktory prostředí. Nicméně začátek nejméně 50% autoimunitních onemocnění se spojuje s „neznámými spouštěcími faktory“.

Vlivy genetické versus vlivy prostředí na vznik a udržování lidského

autoimunitního onemocnění nejsou zcela jednoznačné. Všeobecně je odpověď na antigen (tj. Imunita versus tolerance) závislá na kontextu, ve kterém je uváděna. Stádium buněčné diferenciace, místní pool cytokinů, přítomnost nebo absence kostimulačních molekul, koncentrace antigenu a trvání prezentace jsou některé faktory, které ovlivňují imunitní odpověď. Některá autoimunitní onemocnění (jako relapsující-remitující Mnohotná skleróza a systémový lupus) nemají stálý průběh a pacienti mohou být v dlouhodobé klinické remisi. Toto předpokládá, že imunitní systém je, alespoň v některých případech, dynamický, pohybující se mezi imunitou a tolerancí. Autoregulační buňky (supresorové, veto, imunoindifferentní, idiotypické) mohou proto modulovat imunitní odpověď.

1.2.1 Genetické faktory

Pro účast genetických faktorů svědčí poměrně vysoká konkordance výskytu choroby u jednovaječných dvojčat, která se pohybuje u různých autoimunitních onemocnění mezi 25-70%. Geneticky předurčené cesty ve zpracování antigenu, jeho prezentaci a rozpoznání (což se děje vysoce polymorfním MHC (major histocompatibility complex)) mohou mít vliv na predispozici k autoimunitním odpovědím. Mnoho autoimunit se objevuje častěji s jistými HLA kombinacemi (asociace HLA-B27 s Bechtěrevovou chorobou). Od chvíle stimulace antigenem je buněčná imunitní odpověď regulována množstvím geneticky určených cest převodu signálu, proliferace a apoptózy. Pokud vznikne mutace v genech kódujících molekuly zúčastněné v apoptóze (Fas, FasL, Bcl-2 aj.), může porucha apoptózy způsobit, že aktivovaný lymfocyt včas nezahyne a imunitní reakce není adekvátně regulována. Například Fas je protein zahrnutý v signalizaci apoptózy. MRL/lpr myši rozvíjí spontánně onemocnění podobné lupusu díky genetické deficienci exprese Fas proteinu. Polymorfismus genů kódujících cytokiny může působit skrze jejich změněnou hladinu a tím narušit regulaci Th1 versus Th2 a Tr-lymfocytů a k poruše mechanismů periferní tolerance. Vliv polymorfismu genů kódujících TCR a H-řetězce imunoglobulinů lze vysvětlit preferenční vazbou některých exogenních peptidů podobných autoantigenům.

1.2.2 Imunologické vlivy

Vyšší incidence autoimunitních chorob je pozorována u imunodeficientních stavů převážně buněčných, ale i humorálních (deficit IgA, defekt složky komplementu C2 a C4). Autoimunitní jevy u imunodeficiencí vyplývají jednak z genetické poruchy regulace imunitní reakce, která způsobí jak imunodeficienci, tak autoimunitu, jednak z toho, že infekce není řádně eliminována a trvalá aktivace složek imunity vede k aktivaci i autoreaktivních lymfocytů. U defektů komplementu přistupuje v patogenezi porucha eliminace imunokomplexů, na níž se složky komplementu fyziologicky podílejí.

1.2.3 Faktory humorální

Většina autoimunitních chorob, zejména systémových, je až několiknásobně častější u žen. Jejich intenzita se často zvyšuje v dospívání a po porodu a snižuje během těhotenství. Tento fakt svědčí pro potencující roli ženských pohlavních hormonů v rozvoji autoimunity. Výjimku představuje Bechtěrevova choroba, která je naopak až 9krát častější u mužů.

1.2.4 Faktory prostředí

Léky a UV záření se mohou na vzniku autoimunity podílet modifikací autoantigenů a porušením regulačních mechanismů. Dle některých pramenů sem patří kouření, které vede ke zvýšené vnímavosti k autoimunitním chorobám. Fyzický a psychický stres se podílí na rozvoji autoimunitních onemocnění. Mnohé studie na zvířatech i lidech ukázaly efekt různých stresorů na imunitní funkce. Mnoho retrospektivních studií shledalo, že vysoká část pacientů (až 80%) udávalo nezvyklý emocionální stres před nástupem onemocnění. Některé studie naznačují, že stres není pouze účastníkem faktor, ale může také vyvolat zhoršení

onemocnění. Bohužel, nejen že stres způsobuje onemocnění, ale samo onemocnění způsobuje signifikantní stres u pacientů, což uzavírá *circulus vitiosus*.

Třebaže lékaři i pacienti souhlasí, že stres hraje roli v průběhu onemocnění, je k dispozici velice málo klinických výzkumných prací, které by ukazovaly, jakým mechanismem se tak děje. Jedním z důvodů je, že zvířecí model se mnohem lépe kontroluje, co se týče vlivů prostředí a je geneticky identický. U lidí faktory jako prostředí, dieta, průvodní medikace, jsou obtížné proměnné, které je třeba kontrolovat.

Patogeneze onemocnění spojených se stresem. Předpokládá se, že neuroendokrinní hormony uvolněné během stresu vedou k imunitní dysregulaci a změněné nebo zvýšené produkci cytokinů, což vede k atopickým autoimunním onemocněním nebo ke snížení obranyschopnosti. Mezi rozličné typy transmitterových substancí neuroendokrinně-imunitní sítě patří: Adrenalin, Noradrenalin, Acetylcholin, Substance P, Vazoaktivní intestinální peptid, Glukagon, Inzulin, Cytokiny, Růstové faktory a spousta jiných mediátorů. Přitom mnohé role Th2 buněk v udržování alergického zánětu a měnění rovnováhy mezi odpovědí Th1 a Th2, jsou důležité mechanismy pro alergický zánět a poškození tkání.

Role stresu u autoimunitních onemocnění. Předpokládalo se, že opakované epizody akutního nebo chronického stresu mohou indukovat odpověď akutní fáze, spouštěcí pozdější chronický zánětlivý proces jako aterosklerózu a určitá metabolická onemocnění. Jsou důkazy, že játra, endotel a depa tukových buněk jsou primárními zdroji cytokinů, především IL-6. IL-6 a protein akutní fáze- C reaktivní protein, jsou silně propojeny a pravděpodobně hrají dominantní roli v rozvoji takových zánětlivých procesů, které vedou k inzulinové rezistenci, non inzulin dependentnímu DM typu 2 a metabolickému syndromu X. Skutečnost, že psychický stres může aktivovat odpověď akutní fáze, která je součástí vrozené zánětlivé imunitní odpovědi, je důkazem, že zánětlivá odpověď je obsažena v

rámci stresové odpovědi, a že stres může indukovat imunitní odpověď.

Propojení stresu a imunitní dysregulace. Epidemiologický výzkum stále více předpokládá, že expozice traumatickým stresorům a psychologickým traumatům je spojena se zvýšeným užíváním zdravotní péče, s nepříznivými zdravotními důsledky, s nástupem určitých onemocnění a s předčasnou smrtí. Dodnes spojují studie expozici traumatickému stresu a posttraumatickou stresovou poruchu s okolnostmi jako jsou: kardiovaskulární onemocnění, diabetes, gastrointestinální onemocnění, fibromyalgie, chronický únavový syndrom a muskuloskeletální postižení. Nynější poznatky ukazují, že oběti posttraumatické stresové poruchy (PTSD) mají více cirkulujících T lymfocytů a nižší hladiny kortizolu, což by znamenalo, že chronicky postižení pacienti s PTSD mají riziko vzniku autoimunitních onemocnění. Navíc komorbidní pacienti s PTSD měli mnohem pravděpodobněji klinicky vyšší počty T buněk, hyperreaktivní imunitní odpovědi na standardizované kožní testy pozdní hypersenzitivity, klinicky vyšší hladiny IgM a klinicky nižší hladiny dehydroepiandrosteronu. Pozdější klinické důkazy potvrzují přítomnost biologických ukazatelů odpovídajících širšímu rozsahu zánětlivých poruch včetně kardiovaskulárních a autoimunitních onemocnění.

1.2.5 Infekční etiologie

Epidemiologické důkazy navrhují infekční etiologii pro některé lidské autoimunity, právě jako je MS. Nejlepší důkazy pro infekční etiologii následné autoimunitní poruchy byly ukázány na zvířecím modelu. Theilerův stěnový encephalomyelitický virus (TMEV) je picornavirus, který způsobuje zánětlivé demyelinizační onemocnění vnímavých myší. Imunitní systém hraje stěžejní roli v předcházení i způsobení TMEV-indukovaného demyelinizačního onemocnění. In vitro je virus cytopatický k neuronům a způsobuje buněčnou lýzu a počáteční infekce je onemocnění šedé hmoty. U rezistentních kmenů myší je virus odstraněn z CNS během 2 týdnů po intracerebrální inokulaci a neobjevuje se žádná

demyelinizace, ani žádný chronický následek. Thymektomie u těchto myší vede k smrti z neřízené infekce šedé hmoty. U kmenů myší vnímavých k onemocnění není virus nikdy odstraněn z CNS. Přibližně 45 dní po inokulaci se původní infekce šedé hmoty vyvíjí v chronické demyelinizační onemocnění bílé hmoty. Toto onemocnění bílé hmoty napodobuje MS histologicky i klinicky. S nástupem onemocnění bílé hmoty začíná být imunitní systém vnímavý na epitopy myelinových proteinů včetně determinant myelinového bazického proteinu (MBP) a proteolipidového proteinu (PLP). Demyelinizace může být zpomalena nebo jí může být zabráněno pomocí imunosupresivních léků. Mechanismy, kterými původní virová imunitně zprostředkovaná reakce se stává sekundární imunitně zprostředkovanou reakcí na proteiny myelinu (tj. Vlastní proteiny) nejsou zcela zřejmé. Nejsou žádné důkazy, že by docházelo k molekulárním mimikrům mezi imunogenním virovým proteinem a epitopy MBP nebo PLP. Jedna hypotéza je, že imunitou zprostředkovaný útok na virové proteiny způsobí nechtěnou destrukci myelinu. Přičemž je místně prozánětlivé prostředí, makrofágy mohou zvýšit kostimulačních molekul a na základě prezentace vlastních myelinových proteinů, prolomit toleranci k vlastnímu (self-tolerance). TMEV indukované demyelinizační onemocnění signalizuje, že progresse autoimunitního onemocnění může být nezávislá na spouštěcí infekční události.

2 Revmatoidní artritida

Revmatoidní artritida (RA) je nejčastější autoimunitní onemocnění postihující 1-2% populace celosvětově, snižuje kvalitu a délku života a je spojena se signifikantní morbiditou. Revmatoidní artritida je chronické destruktivní onemocnění kloubů, které je charakterizované proliferativní synovitiidou, infiltrací zánětlivých buněk do synoviální tkáně kloubů a destrukcí chrupavky. Artritida postihuje velké i malé klouby, kde klíčovým znakem je zánět synoviální membrány. Neléčená RA vede k progresivním kostním a chrupavkovým erozím, které vedou ke kloubnímu poškození a funkční disabilitě.

2.1 *Epidemiologie*

Celosvětově je prevalence RA 1%. Ženy převažují nad muži v přibližném poměru 2:1. Vyšší je prevalence u starších osob. RA je spojena se zvýšeným rizikem postižení koronárních arterií, zvýšenou vnímavostí k infekcím, vyšším výskytem lymfomů a sníženou kvalitou života. I přes dramatické zlepšení kvality života dosažené moderní terapií se předpokládá, že morbidita, invalidita i mortalita v příštích dekádách porostou, díky tomu, že se RA stává onemocněním starších dospělých.

2.2 *Klinické projevy*

Spektrum klinických projevů může být rozdílné a zahrnuje mírné průběhy s lehkou synovitiidou a krátkodobou ranní ztuhlostí, ale i těžké a imobilizující artritidy s rychlou destrukcí kloubních tkání a závažnými mimokloubními příznaky.

Vzniku RA mohou předcházet faktory, jako je trauma, infekce, vakcinace či emoční stres. Často se objevují celkové prodromální obtíže: zvýšená teplota,

únava, úbytek hmotnosti, nechutenství. Počátek choroby je nejčastěji plíživý. Artritida se vyvíjí pomalu během týdnů až měsíců. Výjimečně začne RA akutně či perakutně, kdy se rozvinutá artritida objeví během několika dnů. Na počátku postihuje artritida především metakarpofalangeální, proximální interfalangeální a radiokarpální klouby. Typické pro RA je polyartikulární symetrické postižení, i když v počátcích může artritida postihnout jen jeden nebo několik málo kloubů. Současně s artritidou se objevuje ranní ztuhlost, kterou nemocní líčí jako pocit tuhosti a napnutosti kloubů rukou a neschopnosti ohnout drobné ruční klouby. Ranní ztuhlost trvá různě dlouhou dobu, často několik hodin a rychlejšímu ústupu ztuhlosti napomáhá někdy zahřátí a ponoření rukou do teplé vody.

2.2.1 Kloubní postižení

RA probíhá většinou chronicky a progresivně. Méně často se objevují různě dlouho trvající spontánní či léčbou navozené remise. Postižené klouby jsou většinou bolestivé, teplejší a zduřelé s omezenou pohyblivostí. Zduření je podmíněno výpotkem, synoviálním ztluštěním a prosáknutím měkkých tkání. Kůže nad kloubem nebývá barevně změněna. Bolest je buď spontánní, nebo se zvyšuje palpací a pohybem. Při mírné synovitidě se objevuje jen v krajních polohách kloubu. RA může postihnout téměř všechny synoviální klouby těla, výjimkou bývají většinou distální interfalangeální klouby rukou a nohou, ačkoliv i ty bývají někdy postiženy. Na rukou se objevují charakteristická vřetenovitá zduření proximálních interfalangeálních kloubů a nápadná atrofie interoseálních svalů. S postupnou progresí vedou destruktivní změny k radiální rotaci karpálních kostí a ulnární deviaci prstů rukou, především v metakarpofalangeálních kloubech (mohou se objevit subluxace a luxace). Typickými změnami jsou deformita typu „labutí šíje“ a deformita typu „knoflíkové dírky“. Závažnou komplikací je syndrom karpálního tunelu, který vzniká v důsledku útisku n. Medianus otokem a synoviální hyperplazií v zápěstním kloubu, když silný transversální karpální vaz nedovolí dekompresi. Projevuje se necitlivostí, bodavou bolestivostí prvního až čtvrtého prstu společně se svalovou atrofií tenaru.

2.2.2 Manifestace RA v oblasti úst

zahrnuje bolest, disfunkci a oslabení žvýkacích svalů, když je zasažen temporomandibulární kloub (TMJ). Mezi ostatní ústní symptomy patří ulcerace, nadměrný růst dásně, s onemocněním spojená nemoc parodontu a xerostomie.

Zasažení TMJ je nejvíce signifikantní komplikací u orálního a maxilofaciálního komplexu pacientů s RA a to až u 45%-75% pacientů s RA. Může se projevit jako oboustranná bolest, slabost, otok, tuhost a snížená pohyblivost TMJs nebo může být asymptomatické. Období remisí a exacerbací se mohou objevovat stejně jako při zasažení jiných kloubů. Může se též objevit fibróza nebo ankylóza. Klinicky se u pacienta může projevit slabostí nad laterálním pólem kondylu, krepitem, omezeným otevíráním a RTG prokazatelnými strukturálními změnami. Radiografické změny mohou zpočátku ukázat zvětšený kloubní prostor. Později jsou tyto změny především erozivní a mohou postihnout oba kondyly i fossu. Zasažení TMJ se dá předpokládat při zobrazení erozí a cyst mandibulárního kondylu na počítačové tomografii (CT), třebaže příznaky klinické dysfunkce nekoreluji s nálezem na CT.

2.2.3 Extraartikulární projevy RA

Počet a závažnost extraartikulárních příznaků kolísá s délkou a tíží nemoci. Zahrnují klinické známky typické pro Sjörgenův sy. (SS) přibližně u 20% pacientů s RA. Xerostomie u pacientů se SS vede ke zrychlenému rozkladu zubů, intraorální kandidóze, problematickému užívání zubních náhrad a rekurentní sialoadenitidě. Plicní postižení je charakterizované zánětem a fibrózou plicního parenchymu. Zánět serózních membrán se příležitostně projevuje jako akutní pleuritida nebo pleurální výpotek. Reumatoidní uzlíky (noduly) jsou nejčastější mimokloubní známkou, rozvíjí se přibližně u 25% pacientů s RA, prakticky vždy společně s revmatoidními faktory. Mají nekrotickou centrální část obklopenou palisádovitými fibroblasty a nasedající kolagenní tkání s perivaskulárním zánětlivým infiltrátem. Objevují se v podkoží nad místy tlaku a

kostními prominencemi. Nejčastěji se vyskytují v podkoží nad proximální hranou ulny a nad olekranonem.

2.2.4 Tendosynovitida

Bývá častá hlavně v oblasti rukou a zápěstí. Ruptura šlach, nejčastěji flexorů či extenzorů prstů vede k vývoji deformit. V okolí kloubů se vyskytují burzitidy. Svalové postižení je časté především ve smyslu svalové slabosti. Etiologie je asi smíšená – snížená aktivita v okolí bolestivých kloubů společně se zánětlivou myozitidou a atrofií vláken typu II. U některých nemocných nelze vyloučit ani podíl steroidní myopatie.

2.2.5 Osteoporóza

Při RA je periartikulární a difúzní. První vzniká působením lokálních mediátorů zánětu uvolňovaných v synovii. Difúzní osteoporóza vede k frakturám a je při RA častější. Podíl chronické léčby glukokortikoidy je pravděpodobný.

2.2.6 Reaktivní lymfadenopatie

Je běžná a je nejčastěji přítomná v axilárních lymfatických uzlinách drenujících zánětem postižené klouby ruky a zápěstí. Když se lymfadenopatie objeví v atypické lokalizaci, jako jsou krční nebo supraklavikulární uzliny, mělo by být vysloveno klinické podezření na lymfoproliferativní onemocnění.

2.2.7 Feltyho syndrom

Je klinicky závažný, ale málo častý fenomén spojený s leukopenií, trombocytopenií, splenomegalií a zvýšenou vnímavostí k infekcím.

2.2.8 Vaskulitida

u RA je spojená se závažným dlouho trvajícím onemocněním a ohlašuje se nástupem mononeuritis multiplex nebo kožními příznaky, jako jsou infarkty nehtového lůžka, ulcerace na dolních končetinách a viscerální postižení.

2.2.9 Další projevy

Mezi dalšími projevy se může objevit lesklá, hladká, atrofická kůže; neuropatie - parestezie; kardiální projevy; sekundární amyloidóza – postižení ledvin; oční postižení – suchá keratokonjunktivitida, episkleritida, skleritida; hematologické změny- anémie, trombocytóza.

2.3 Patogeneze

Proces zánětu je pravděpodobně zahájen reakcí komplexu, který tvoří antigen, buňka prezentující antigen a T-lymfocyt s příslušným receptorem. To vede ke stimulaci především lymfocytů Th1, sekreci prozánětlivých cytokinů (IFN- γ , IL-2) a aktivaci monocyto-makrofágového systému. Tyto buňky produkují cytokiny (TNF- α , IL-1, IL-6..) jejichž účinky vysvětlují patologické reakce v revmatoidním kloubu. RANKL (receptor-activator of nuclear factor κ B ligand) nacházející se na povrchu infiltrujících lymfocytů nebo v solubilní formě, je hlavním aktivátorem osteoklastů, které jsou nejvíce zodpovědné za vývoj kostních destrukcí.

Zatím ne zcela jasnou úlohu mají v indukci a udržování zánětu autoprotilátky vyskytující se při revmatoidní artritidě. Nejčastějšími a typickými autoprotilátkami jsou revmatoidní faktory (RF). RF jsou protilátky namířené proti Fc části imunoglobulinu G (IgG). Jsou produkovány především plazmatickými buňkami v synoviální membráně. Mohou aktivovat klasickou cestou komplement a jeho štěpné produkty pak přispívají k tkáňovému poškození, chemotaxi zánětlivých buněk a dalším projevům zánětu. V tomto jsou zvláště účinné „vzájemně spojené“ imunitní komplexy tvořené IgG-RF.

Nově se popisují v séru nemocných s RA protilátky proti citrulinovanému filagrinu. Jejich výskyt je vysoce specifický pro tuto chorobu a předpokládá se, že reagují s citrulinovanými proteiny uvnitř kloubu za současné aktivace

komplementového systému.

Synovialocyty podobné fibroblastům (FLS) a zánětlivé buňky jako makrofágy a T-lymfocyty produkují prozánětlivé cytokiny jako jsou IL-1 β a TNF α , které hrají klíčovou roli v patogenezi RA. Klinické studie ukázaly, že antagonisti IL-1 receptoru a monoklonální protilátky specifické pro TNF α jsou účinné ve zlepšení RA. Jako odpověď na tyto cytokiny, FLS produkují chemokiny, které podporují šíření zánětu, hyperplazii a destrukci chrupavky. Chemokiny mohou být rozděleny do dvou hlavních podrodin, CC a CXC. CC chemokiny jsou zapleteny u chronických zánětlivých onemocnění, zatímco CXC chemokiny, jako je epiteliální neutrofilový aktivující peptid-78 (ENA-78), jsou mocné chemotaktické faktory pro neutrofilů a jsou zapleteny do akutního zánětu. V protikladu k TNF α , který je hlavně detekován během časných fází RA, IL-1 β je detekován dlouho po nástupu onemocnění. IL-1 β uplatňuje své hlavní účinky cestou transkripčního jaderného faktoru κ B (NF- κ B). NF- κ B aktivace u FLS přispívá k patogenezi RA aktivací transkripce rodiny matrixových metaloproteináz (MMPs).

MMP rodina obsahuje více než 20 členů, které diferenciálně zprostředkovávají degradaci každé součásti extracelulární matrix, včetně MMP-1 a MMP-3, které jsou údajně hlavními enzymy zavzatými v tkáňové destrukci. MMP-1 a MMP-3 se nacházejí ve vysokých hladinách v synoviální tekutině pacientů s RA. Tyto MMPs jsou hlavním produktem cytokiny stimulovaných FLS a účinně degradují kolagenní komponenty chrupavky a kosti, což vede ke kloubním deformitám a velké části bolesti u pacientů s RA.

V nestimulovaných buňkách je NF- κ B přítomen v cytoplasmě ve své neaktivní formě v komplexu s I κ B, inhibičním faktorem NF- κ B. Různé spouštěče způsobují disociaci tohoto komplexu, dle všeho fosforylací I κ B, což způsobí, že je NF- κ B uvolněn z komplexu. NF- κ B se poté translokuje do jádra, kde interaguje se specifickými DNA rozpoznávacími místy, která zprostředkovávají genovou transkripci. Bylo identifikováno množství různých I κ B proteinů, včetně I κ B α ,

I κ B β , I κ B γ a I κ B ϵ . Mezi nimi jsou α a β nejvíce prostudovány. Mutantní formy I κ B α (S32A, S36A) nebo I κ B β (S19A, S23A), ve kterých jsou alaninová rezidua substituována za serinová 32 a 36 nebo respektivně serinová rezidua 19 a 23, jak se ukázalo, efektivně předcházejí fosforylaci I κ B α nebo I κ B β , degradaci a NF- κ B aktivaci v rozličných systémech.

2.3.1 Inhibice IL-1 β zprostředkované zánětlivé odpovědi

V této studii jsme užili adenovirovou částici z I κ B α (S32A, S36A) a I κ B β (S19A, S23A) k blokování cesty aktivace FLS pomocí NF- κ B. Ad-I κ B α (S32A, S36A), ale nikoliv Ad-I κ B β (S19A, S23A) byl účinný v zabránění IL-1 β stimulované zánětlivé odpovědi u FLS.

IL-1 β je důležitý mediátor kostní destrukce u RA a NF- κ B je IL-1 β -indukovaný transkripční faktor, který řídí expresi genů zahrnutých v zánětu. Není překvapením, že byl NF- κ B extenzivně studován, aby se určilo, jestli hraje roli v patogenezi RA a inhibice NF- κ B byla probádána jako terapeutický přístup v léčbě RA. Výsledky této studie ukazují, že I κ B α super-represor inhibuje dráhu NF- κ B, což na oplátku inhibuje zánětlivé odpovědi v IL-1 β stimulovaných FLS.

K prozkoumání zásadní role NF- κ B v IL-1 β -indukované zánětlivé odpovědi u FLS byly použity mutantní formy I κ B a to Ad-I κ B α (S32A, S36A) a Ad-I κ B β (S19A, S23A). Prevence NF- κ B aktivace overexpresí super-represoru I κ B byla již dříve popsána v různých systémech. U hvězdicovitých jaterních buněk, u cévních buněk hladkého svalu, v prostatických rakovinných buňkách. Také jsme ukázali, že adenovirový genový přenos I κ B α super-represoru, ale ne tak I κ B β super-represoru do kultivovaných pankreatických β -buněk zabránil cytokiny zprostředkované aktivaci NF- κ B. V této studii indukovala infekce Ad-I κ B α (S32A, S36A) nebo Ad-I κ B β (S19A, S23A) vyšší expresi nedegradovatelného I κ B α nebo I κ B β . Z nichž Ad-I κ B α (S32A, S36A) zabránila IL-1 β -indukované translokaci NF- κ B do jádra. Tento fakt dále vedl k inhibici produkce chemokinů a

IL-1 β aktivaci MMP-1 a MMP-3. Navíc Ad-I κ B α (S32A, S36A) značně bránila buněčné proliferaci působené IL-1 β . Ale Ad-I κ B β (S19A, S23A) nebylo účinné v žádném kroku k zabránění výše uvedeného mechanismu. To znamená, že I κ B α (a I κ B β naopak) je klíčový pro IL-1 β -indukovanou aktivaci NF- κ B a následný tok zánětlivých odpovědí u FLS.

Léčba s IL-1 β vede ke zvýšené produkci ENA-78 a RANTES u FLS, což je v souladu s předchozími poznatky. Navíc jsme ukázali, že zvýšená produkce těchto chemokinů v reakci na IL-1 β byla suprimována I κ B α super-represorem. Tyto chemokiny jsou v první řadě produkovány FLS a jejich exprese obecně předchází začátku klinických symptomů u zvířecího modelu RA. Excesivní produkce chemokinů (FLS buňkami) vede k proliferaci těchto buněk a k usnadnění jejich invaze do přilehlých tkání. Byly navrženy některé mechanismy pro regulaci exprese chemokinových genů včetně destabilizace mRNA anebo regulace jejich transkripce. Promotory genů pro ENA-78 a RANTES obsahují vazebná místa pro NF- κ B. Proto by suprese jaderné translokace NF- κ B (I κ B α super-represorem) mohla vést ke snížení chemokinové transkripce.

Dodnes bylo u lidí identifikováno 23 členů MMP rodiny. Z nich je MMP-1 a MMP-3 obzvláště důležitý pro RA, protože jsou produkovány FLS a makrofágy v synovii a hrají klíčovou roli v tkáňové destrukci. Hladiny MMP-1 a MMP-3 jsou signifikantně vyšší v synoviální tekutině pacientů s RA. Jako jeden z hlavních zdrojů MMP u RA byly identifikovány FLS a jejich schopnost destruovat kolagenní komponenty chrupavky a kosti se zdá být spojena s hladinou exprese MMP. V této studii jsme ukázali, že MMP-1 a MMP-3 byly aktivovány IL-1 β léčbou, což se ovšem zastavilo I κ B α super-represorem. Tato zjištění potvrzují předchozí studie, které ukazovaly, že aktivace NF- κ B a jaderná translokace jsou nutné kroky pro IL-1 β indukovanou expresi MMP.

NF- κ B má v patogenezi RA dvojí roli. Jak je ukázáno výše, je aktivace NF- κ B u FLS potřeba pro zánětlivou odpověď. Na druhé straně suprese NF- κ B podporuje buněčnou hyperplazii. I κ B α super-represor inhiboval u FLS

proliferativní odpověď na IL-1 β . Tento výsledek naznačuje, že aktivace NF- κ B je zahrnuta v proliferaci FLS indukované IL-1 β . Což navrhuje, že aktivace NF- κ B chrání buňky proti apoptóze, čímž vede k hyperplazii. Již dříve jsme ukázali, že farmakologický inhibitor NF- κ B byl účinný v inhibici proliferace u FLS. Navíc Migakov a kol. Dokázal, že suprese NF- κ B intraartikulární injekcí I κ B α super-represoru podstatně zvýšila apoptózu v synovii krys s SCW (streptococcal cell wall) a pristane-indukovanou artritidou. Je tudíž myslitelné, že účinek I κ B α super-represoru na proliferativní odpověď k IL-1 β je způsoben inhibicí NF- κ B aktivace.

Na závěr byla zkoumána role cesty přenosu signálu NF- κ B u RA použitím dvou I κ B mutant. Jmenovitě super-represorů I κ B α (S32A, S36A) a I κ B β (S19A, S23A). I κ B α super-represor projevuje mocný inhibiční efekt k IL-1 β indukované imunitní odpovědi u izolovaných FLS.

Tato „in vitro“ data poskytují logické odůvodnění pro využití NF- κ B v pokusech o prevenci rozvoje RA. Dodatečné in vivo experimenty jsou třeba k posouzení, jestli použití I κ B α super-represoru k blokádě NF- κ B aktivace doopravdy zabrání rozvoji RA.

2.4 Etiologie

Příčina RA je neznámá, i přesto, že nové zajímavé poznatky začínají osvětlovat komplexní vlivy genetických faktorů a faktorů prostředí, které přispívají k patogenezi onemocnění.

2.4.1 Genetické faktory

Genetické faktory, které zvyšují vnímavost k RA zahrnují „sdílený epitop“ a motiv 5-amino kyselin přítomný na některých HLA-DRB1 alelách. Sdílený epitop je přítomný u 50% pacientů s RA a je markerem pro těžké onemocnění a vyšší vnímavost k onemocnění. Nedávno byl potvrzen vztah mezi vnímavostí k onemocnění a několika geny.

Mutace ve fosfatáze PTPN22 predisponuje k mnoha autoimunitním onemocněním včetně RA. Přítomnost PTPN22 hypoteticky vede k selhání destrukce autoreaktivních T buněk. Dohromady převládající efekty HLA-DRB1 a PTPN22, z nichž každý má vliv na imunitní odpověď T buněk, zodpovídají za 50% geneticky podmíněné vnímavosti k RA v Evropské populaci.

Dalším nedávno potvrzeným genem, který má vliv na vnímavost je STAT4. Polymorfismus STAT4 by mohl působit přesmykem T buněk k TH1 a zvyšovat produkci IL-17, který je charakteristickým znakem zánětlivé odpovědi u RA. Přehnaná zánětlivá TH1/IL-17 odpověď vede k nadměrné produkci TNF.

2.4.2 Imunologické faktory

Ústřední role antigen specifických T buněk se dá předpokládat díky imunohistochemickým studiím synoviálních tkání u RA, které ukázaly akumulaci CD4+ paměťových T buněk, které agregovaly kolem krevních cév. Avšak antigen nezávislé procesy, spojené s expresí chemokinů a adhezivních molekul cévním endotelem, napomáhají ohraničení infiltrátu mononukleárů, místní akumulace T buněk v kloubu není tedy nutně vtažená ke konkrétnímu antigenu. Aktivované T lymfocyty přispívají k neustálému trvání reumatoidní synovitidy sekrecí prozánětlivých cytokinů včetně interferonu (IFN- γ) a IL-17, což stimuluje makrofágy a synoviální fibroblasty.

Zánětlivé pochody, které nejsou ve vztahu k T buňkami zprostředkovaným imunitním funkcím, také hrají u RA zásadní roli. Význam faktorů komplementu na myších modelech vedly k hypotéze, že C5 část komplementu přispívá ke vzniku RA. C5a je účinný chemoatraktant, který udržuje zánět a je přítomen ve vysokých hladinách v revmatoidních synoviálních tekutinách. U lidí je C5 lokalizován na chromozomu 9 blízko ostatních genů zahrnutých do zánětlivé odpovědi: TNF receptor-asociovaný faktor 1 (TRAF1), který je základním efektoem v TNF signalizační kaskádě.

Genomové asociační analýzy a přístup kandidátních genů potvrdily, že oblast TRAF1-C5 je jak faktor vnímavosti, tak faktor tíže onemocnění pro RA.

Přesný efekt TRAF1-C5 oblasti ještě nebyl ozřejměn a ještě není jisté, zda kauzální alela nebo skupina alel TRAF1 nebo C5 (nebo obě) mají vliv na zvýšení vnímavosti k RA.

2.4.3 Faktory prostředí

Kouření cigaret je důležitý vliv prostředí, který se v mnohočetných studiích ukázal jako faktor, který zvyšuje vnímavost k RA. Hromadí se důkazy pro interakci mezi genetickými faktory a prostředím u kouření cigaret a sdíleného epitopu. Cigaretový kouř vede k citrulinaci proteinů a patogenní příspěvek kouření ke vzniku RA je podpořen pozorováním, že titry anti-CCP jsou signifikantně vyšší u pacientů s RA, kteří mají kouření v anamnéze, oproti nekuřákům. Zvýšené riziko RA u expozice tabáku je vyhrazeno pro podmnožinu anti-CCP a je spojeno s dědičností konkrétních HLA-DR alel. Citrulin, jak se ukázalo, přednostně spojuje molekuly „sdíleného epitopu“ se sekvencí aminokyselin QKRAA nebo QRRAA na pozicích 69-74, což vede k přehnané reakci T pomocných lymfocytů. Data naznačují, že pojitko mezi kouřením cigaret a RA je skrze up-regulaci dráhy citrulinace u kuřáků cigaret, což vede k tvorbě citrulinovaných peptidů, které poskytují antigenní cíl u jedinců s genetickým pozadím příslušného MHC, zejména těch, kteří jsou pozitivní pro HLA-DRB1.

Revmatoidní artritida je příklad onemocnění spojeného se stresem. Stres je dnes považován za významný rizikový faktor v patogenezi revmatických autoimunních onemocnění, jako je RA. Aktivace systému stresové odpovědi ovlivňuje blízký vztah mezi hypotalamo-hypofyzární-adrenální osou, sympatickým nervovým systémem a imunitním systémem. Kvalita vztahu pacienta s rodinou, jako další sociální faktory, se zdá být užitečným prognostickým faktorem u pacientů s RA. Krycí postupy jsou důležité pro každodenní život a pro psychologicky dobré přežívání u chronických pacientů. Umožňují pacientům se adaptovat k problémům a stresorům vznikajících při onemocnění jako jsou bolest, únava, limitace v pohybech, potíže s běžnými denními činnostmi a pomáhají pacientovi udržet si sebeúctu.

2.5 *Vnímavost k RA:*

Vliv CCP protilátek a kouření cigaret. Protilátky rozpoznávající citrulinované proteiny (CCP) mají dostatečnou senzitivitu a vysokou specifitu pro RA. Citrulinační proces se fyziologicky objevuje během posttranslační úpravy proteinu. Mnoho patologických okolností, včetně RA, je spojeno s rozvojem autoimunity k citrulinovaným peptidům, které se mohou chovat jako autoantigeny.

Ukázalo se, že anti-CCP protilátky jsou namířené proti CCP, které lze detekovat v zanícených kloubech. Nedávné práce navrhuji, že podmnožina protilátek proti citrulinovaným proteinům by mohla být užitečnými biomarkry a identifikovala by osoby, které mají vysoké riziko erozivního onemocnění. Pozoruhodné je, že přítomnost anti-CCP protilátek byla popsána v seru roky před nástupem onemocnění. Okolo 34% pacientů s RA je anti-CCP pozitivních. Povaha intervalu před onemocněním, během kterého je detekovatelný reumatoidní faktor (RF) nebo anti-CCP protilátky i roky před nástupem onemocnění, zatím není ozřejmena. Ale konečný krok v rozvoji klinického onemocnění (synovitydy) u geneticky predisponovaných jedinců, u kterých se vyskytuje RF nebo anti-CCP protilátky, může být oslaben supresorovou aktivitou T buněk (CD4+CD25).

Třebaže stále není možné uvést nepochybně jestli specifický antigen nebo antigeny stimulují komplexní orchestraci zánětlivých pochodů, které vedou k RA, je pravděpodobné, že u geneticky predisponovaných osob RA začíná díky exogenním nebo endogenním antigenům. Těmito antigeny jsou: citrulinované peptidy, které spouští kaskádu imunitních odpovědí navázáním na toll-like receptory na periferních dendritických buňkách a makrofázích. Následná aktivace vrozeného imunitního systému, cytokiny a ostatní zánětlivé mediátory, komplement, NK buňky a neutrofilů interagují, což vede k sebeudržujícímu zánětlivému procesu. Mnoho buněčných populací včetně B buněk, T buněk,

fibroblastů a endoteliálních buněk je zapletených v tomto zánětlivém procesu.

2.6 Terapie

Léčba RA by měla být komplexní

2.6.1 Režimová opatření

V akutním stavu je vhodný několikadenní klid na lůžku. Je nutno dbát na prevenci kontraktur. To znamená udržovat extenzi v kolenních kloubech, dorzální flexi v hlezenních kloubech, cvičení extenze v loketních kloubech. Doporučují se izometrické svalové kontrakce, polohování.

2.6.2 Fyzikální terapie a rehabilitace

Účelem této léčby je potlačení bolesti, odstranění ztuhlosti, obnovení pohybu, zvýšení svalové síly a zlepšení funkce kloubu. V chronickém stádiu je soustavné denní cvičení velmi důležité. Cvičí se jen do únavy, kloub se nesmí přetížít.

2.6.3 Farmakologická léčba

Léčba RA je běžně zahajována nesteroidními antiflogistiky a běžnými analgetiky, aby došlo k úlevě od bolesti a ztuhlosti. Mezi nejčastěji používaná NSA patří diclofenac (Voltaren, Dolmina, Apo-diclo.), ibuprofen (Ibuprofen, Ibalgin..), naproxen (Naprosyn..), piroxikam (Flamexin). Frekvenci nežádoucích účinků v žaludku snižuje současné podávání syntetických prostaglandinů (misoprostol-Cytotec). Novou skupinou jsou koxiby, u kterých jsou ale poslední dobou hlášeny kardiální nežádoucí účinky.

Ostatní antirevmatické léky jsou nemoc modifikující (DMAnn Rheum Diss)(častěji DMD-disease modifying drugs) zlepšují symptomy a teoreticky snižují erozivní poškození. Terapie DMAnn Rheum Dis se zahajuje, jakmile to je možné. Běžně užívaná DMAnn Rheum Dis terapie zahrnuje metotrexát, sulfasalazin, leflunomid (Arava; Aventis), a hydroxychlorochin (Plaquenil;

Sterling Winthrop). Metotrexát je užíván nejčastěji, vzhledem k jeho vysoké účinnosti, snášenlivosti a bezpečnosti. Hydroxychlorochin, Minocyklin a Sulfasalazin jsou předepisovány pro pacienty s mírným onemocněním. Zvyšuje se důraz, zvláště u těžkého průběhu onemocnění, na používání kombinace 2 a více běžných DMAnn Rheum Dis.

Steroidy (intraartikulární, intramuskulární nebo perorální aplikace) se používají ke zvládnutí exacerbací. Používá se methylprednisolon (Depo-Medrol) a betametason (Diprofos).

Může se podat radioaktivní izotop yttria, což vede k nekróze synoviální výstelky, výsledek může být dlouhodobý.

2.6.4 Biologická léčba

TNF inhibitory mají ve srovnání s DMAnn Rheum Dis rychlejší nástup účinku, poskytují dramatickou úlevu od únavy a bolesti v souvislosti s objektivním poklesem synovitydy. Pravděpodobnost dlouhodobé citlivosti je v rozmezí 52-57% po 3 letech pro všechny 3 TNF inhibitory. Účinnost anti-TNF terapie je dostatečně podporována v randomizovaných řízených studiích na více než 10,000 pacientech s RA. Erozivní poškození hodnocené radiograficky a pomocí MRI se podstatně snížilo a zlepšila se kvalita života i funkční poškození. Ve většině studií byly TNF inhibitory hodnoceny oproti metotrexátu nebo při současném podávání. V 6 z nich byli hodnoceni pacienti s časnou RA, kteří nebyli léčeni metotrexátem. V 6 dalších studiích byli hodnoceni pacienti s ustálenou RA, kteří neodpovídali na léčbu metotrexátem. U pacientů byl popsán vysoký celkový efekt. Zásadní nezodpovězená otázka je, zda-li TNF inhibitory kombinované s metotrexátem jsou lepší než kombinace s tradičními DMAnn Rheum Dis. Protože byla provedena zatím jen jedna studie s malým souborem, která ukázala pouze skromný benefit, zůstává tato otázka nezodpovězená.

Mnoho mezinárodních skupin, společností specialistů a řídicích společenstev utvořilo guideliney pro užívání TNF inhibitorů u pacientů s RA. TNF inhibitory by měly být užity u pacientů s aktivní RA, kteří neodpovídají na léčbu

konvenčními DMAnn Rheum Dis, především metotrexát. Guideliny American College of Rheumatology (ACR) z roku 2008 také doporučují terapii TNF inhibitory v kombinaci s metotrexátem pro pacienty, kteří nikdy neužívali DMAnn Rheum Diss, a u kterých trvá onemocnění méně než 6 měsíců a je vysoce aktivní.

2.6.5 Chirurgická léčba

Provádí se synovektomie, při které se odstraní větší část zanícené synoviální membrány. Totální náhrady kloubů se provádí především na kyčelních a kolenních kloubech, ale také na ramenních, loketních a drobných kloubech ruky. Někdy je nutné přistoupit k artrodéze, která fixuje kloub ve výhodné poloze a odstraní bolest. Provádí se především v oblasti karpálních kostí.

3 Možné terapeutické a sekundárně preventivní přístupy

Nynější léčebné možnosti zahrnují symptomatickou léčbu a onemocnění modifikující faktory. Nynější léky jsou často neúčinné a mohou být toxické, navíc většina selhává v uplatnění chondoprotektivního efektu, vyžadovaného pro udržení integrity zánětem postiženého kloubu. Nynější pokusy porozumět buněčné a molekulární patofyziologii artritidy dovolují racionální nástin terapie zaměřené a zasahující na základní mechanismy nemoci.

3.1 *Nové disciplíny*

Nové disciplíny jako neuroendokrinoimunologie usilují o lepší porozumění roli stresu v patogenezi onemocnění a o rozvoj lepších léčebných metod pro autoimunitní onemocnění. Léčba autoimunitních onemocnění by měla obsahovat stresový management a behaviorální intervenci k zábraně imunitní nerovnováhy spojené se stresem. Intervence jako je řízení váhy, redukce stresu, vhodná dieta a zdravé domácí prostředí by měly být velmi důležité v prevenci exacerbací a ve zpomalení progresu artritidy. Na rozdíl od hereditárních a genetických etiologických faktorů, které nemohou být změněny, může být mnoho faktorů životního stylu a prostředí změněno k lepšímu řízení autoimunitního onemocnění.

3.2 *Použití antagonisty receptoru IL-1 nebo solubilní formy TNF- α receptoru cestou genových vektorů*

Nyní je zřejmé, bez ohledu na etiologii, že většina intraartikulární patologie artritidy je způsobena cytokiny, zejména IL-1 a TNF- α . Podávání jak antagonisty receptoru IL-1 (IL-1Ra) nebo solubilní formy TNF- α receptoru (TNF- α SR) jako purifikovaných proteinů bylo efektivní pro zlepšení zánětu u zvířecích modelů s RA.

Rozvoj terapie pomocí genových vektorů by dovoval dlouhodobou místní regulaci zánětlivých cytokinů, což by představovalo hlavní výhodu v léčbě

RA. Jak ex vivo tak in vivo přístupy byly využity k léčbě RA pomocí nevirových i virových nosičů. Úspěšné zavedení IL-1Ra ex vivo na králičí model RA pomocí retrovirových vektorů vrcholil ve fázi I a fázi II lidských klinických studií. Přisun IL-1Ra nebo TNF- α SR do kloubů zvířecích modelů RA byl dosažen pomocí několika různých metod. Mnoho publikovaných studií prokázalo úbytek zánětlivé odpovědi nebo v některých případech ochranu kloubní chrupavky. Avšak některé nosiče zhoršily zánětlivou reakci a transgenní exprese byla ve většině případů krátkodobá.

Počáteční výsledky používání replikačně defektních HSV vektorů, které exprimovaly L-1Ra nebo TNF- α SR ukázaly přechodnou místní expresi těchto produktů v synovii a prospěšné fenotypické následky, které následovaly po intraartikulární inokulaci. Usilovali jsme o využití pozdního chování HSV-1 vektorů infikováním nervových zakončení inervujících klouby. Doufali jsme, že vektory se stanou latentními uvnitř buněk souvisejících ganglií zadních kořenů a způsobí dlouhodobou produkci a sekreci transgenních produktů ze senzitivních zakončení do oblastí kloubních prostorů. Pozoruhodně nebyly konstantně infikovány neurony inervující kloubní prostory a vektory neperzistovaly v buňkách synovie. Třebaže jsme zjistili, že intraartikulární inokulace vektorů exprimujících NGF vedlo k signifikantnímu zvýšení hladin NGF v kloubních tekutině, což je podobně závažné jako bylo pozorováno u IL-1Ra a TNF- α SR. Překvapivě NGF byl detekován v krevní plasmě a byl v prokazatelně zvýšených hladinách více než jeden rok po počáteční inokulaci. Pozdější analýza ukázala, že primární místo transdukce byla tkáň kloubních ligament. Pozoruhodně jak lidský CMV počáteční promotor, který řídí přechodnou expresi v mnoha různých situacích a LAP-2 promotor, zůstávaly aktivní v buňkách ligament po delší dobu.

Již sme začali hodnotit užití tukové tkáně jako skladovacího místa pro sekreci terapeutických proteinů do kloubních prostor a cirkulace. Tuková tkáň představuje atraktivní cíl pro vektorovou transdukci a podávání transgenních produktů. Tuk je přístupný, hojný, dobře vaskularizovaný, umožňuje sekretovaným faktorům získat přístup do intravaskulárního kompartmentu. Zdá

se tedy, že replikačně defektní HSV vektory jsou schopny perzistovat v nenervových depotních tkáních a exprimovat transgeny dlouhodobě. Právě zkoumáme způsoby využívající této vlastnosti pro vývoj nových léčebných postupů k léčbě některých nemocí. Za prvé, trvalá intraartikulární dodávka solubilních inhibitorů zánětu by pravděpodobně znamenala podstatnou pomoc u chronické artritidy. Za druhé, exprese nervového růstového faktoru (NGF) do cirkulace by měla zlepšit chronické periferní neuropatie spojené s mnoha systémovými onemocněními. A nakonec, tato technologie by mohla umožnit dodávat cirkulační proteiny jako náhradu klíčových faktorů chybějících u geneticky podmíněných onemocnění, jako je hemofilie, deficience α 1-antitrypsinu, deficience C1-esterázy.

3.3 Úloha TNF v kloubní destrukci a TNF inhibitory jako terapeutická činidla.

Prozánětlivé cytokiny jako je TNF, sekretovány aktivovanými makrofágy a fibroblasty, stimulují sekreci dalších chemokinů, prostaglandinů, proteáz a růstových faktorů a aktivují neutrofilů, B buňky a endoteliální buňky. Studie Feldmana a Mainiho v 90. letech demonstrovali, že TNF je průvodní zánětlivý mediátor v rozvoji postižení kloubu. Exprese adhezivních znaků na endoteliálních buňkách je upregulovaná a imunitní odpověď je vystupňována buněčným přísunem do kloubu. Rozpustný TNF účinkuje autokrinním způsobem na zesílení exprese prozánětlivých cytokinů na makrofázích a parakrinním způsobem stimulaci proliferace synovialocytů a produkci proteáz, chemokinů a dalších prozánětlivých cytokinů. Zánětlivé cytokiny IL-1 a IL-6 mají zásadní roli v resorpci kosti a chrupavky. Konečně, synoviální proliferace a hypertrofie vede k tvorbě lokálně invazivní tkáně, kterou nazýváme „Panus“, čímž umožňuje kostní destrukci díky účinkům matrixových metaloproteináz a aktivaci osteoklastů.

Klasická cesta přenosu signálu solubilním TNF zahrnuje stimulaci obou 2 TNF receptorů: typ1 (p55) a typ2 (p75), které se nacházejí na imunitních,

zánětlivých a endoteliálních buňkách. TNF receptory jsou také lokalizované v synoviální tkáni, přechodu chrupavka-panus a na chondrocytech. Vazba TNF a IL-1 vede k aktivaci signální kaskády jaderného faktoru kappa B (NF- κ B), která kontroluje expresi prozánětlivých cytokinů, adhezivních molekul a matrix-degradačních enzymů.

Teoreticky by blokáda TNF mohla přerušit zánětlivý proces, přerušit *circulus vitiosus* zánětu a omezit kloubní postižení. Jak solubilní, tak membránově vázané formy TNF, hrají roli v zánětlivém procesu. Zvířecí modely destruktivní synovitidy, která se objevuje u transgenních myší, které zvýšeně exprimují TNF- α a suprese experimentální synovitidy u TNF inhibitorů, demonstrují klíčovou roli TNF v modulaci zánětlivé artritidy. Pozorování vysokých hladin TNF v revmatoidních kloubech, stejně jako v *in vitro* experimentech naznačuje, že solubilní TNF má rozhodující pozici v kaskádě zánětlivých cytokinů. Membránově vázané formy TNF jsou též bioaktivní a jejich exprese na aktivovaných T buňkách koreluje s aktivitou RA.

Experimentální práce na zvířecích modelech a následně první otevřené klinické studie TNF inhibitorů, které ukázaly dramatickou úlevu od bolesti a otoku a rychlou redukci odezvy akutní fáze, vedly ke kontrolovaným klinickým studiím, které ukazovaly vhodnost TNF inhibitorů v klinické praxi. Rokem 1998 byly licencovány 3 TNF inhibitory pro RA: monoklonální protilátky proti TNF (infliximab, adalimumab) a směs proteinů TNF receptoru (etanercept).

Srovnání biologických léčeb reumatoidní artritidy:

Biologický cíl	Složení	Mechanismus	Běžné nežádoucí účinky
TNF inhibice			
Infliximab (Remicade)	Chimerická monoklonální anti-TNF protilátka	Blokuje interakce TNF- α receptoru, cytotoxická pro TNF-exprimující buňky	Infúzní reakce
Etanercept (Enbrel)	Solubilní TNF receptor– směs Fc proteinů	Zprostředkuje TNF- α blokádu receptoru a zasahuje TNF- β	Reakce v místě injekce
Adalimumab (Humira)	Lidská monoklonální anti-TNF protilátka	Váže TNF- α a blokuje interakci receptorů p55 a p75	Raš, nízký výskyt alergických reakcí. Reakce v místě injekce.
Úbytek B lymfocytů			
Rituximab (Rituxan)	Chimerická monoklonální anti-CD20 protilátka	Vyčerpá cirkulující B buňky po dobu měsíců	Infúzní reakce
Aktivace T lymfocytů			
Abatacept (Orencia)	CTLA4 fúzní protein s Fc podjednotkami lidských IgG	Down-reguluje T-buněčnou aktivaci blokádou vzájemné stimulace	Infúzní reakce

Zdroj: Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology 12-2008, vol.106, issue6

3.4 Transplantace kostní dřeně a role dárcovských stromálních buněk u nepoddajných AI onemocnění

Byla stanovena nová metoda transplantace kostní dřeně (BMT)(bone marrow transplantation) pro léčbu úporných autoimunitních onemocnění u MRL/lpr myši. Metoda se skládá z frakcionovaného ozáření (5.5 Gy x 2), následované BMT celobuněčné kostní dřeně (BMCs)(bone marrow cells) od allogenních C57BL/6 myši portální žilou (zkráceně = 5.5 Gy x 2 + PV). V současné studii zkoumáme touto metodou mechanismus podložený časným přihojením štěpu donor-derivovaných buněk u MRL/lpr myši. U myši léčených touto metodou, počet donor-derivovaných buněk majících znaky zralé linie (Lin) se rychle zvýšil v kostní dřeni (BM), játrech a slezině, po 14 dnech od léčby tvořily donor-derivované buňky téměř 100%. Počet donor-derivovaných hematopoetických progenitorových buněk (definované jako c-kit⁺/Lin⁻ cells) se zvýšil mezi BMCs, jaterními monocelulárními b. a především mezi buňkami sleziny po 14 dnech od léčby. Současně jsme v játrech pozorovali hematopoetická ložiska přilehlá k donor-derivovaným stromálním buňkám, když byly injikovány cestou Portální žíly, ale ne, pokud byly injikovány cestou periferní žíly (i.v.). Když byly injikovány BMCs ochuzené o adherentní buňky cestou Portální žíly, projevila se u příjemců značně snížená délka přežití. Avšak když byly myším transplantovány BMCs ochuzené o adherentní buňky spolu s kultivovanými stromálními buňkami, všichni příjemci přežili. Tyto poznatky předpokládají, že nejenom dárcovské hematopoetické kmenové buňky (HSCs), ale také dárcovské stromální buňky podané do portální žíly byly vychytány v játrech, což vedlo k časnému uchycení štěpu dárcovských HSCs za přispění donor-derivovaných stromálních buněk. Tento nový postup k usnadnění časně obnovy hematopoézy by byl velkou výhodou při aplikaci u lidí.

MRL/MP-lpr/lpr (MRL/lpr) myši, u kterých se spontánně rozvíjí masivní

lymfadenopatie, jsou dobře známé jako zvířecí model pro systémový lupus erytematos (SLE) a reumatoidní artritidu (RA). Nástup autoimunitních onemocnění u MRL/lpr myši byl zpomalen různou léčbou jako jsou injekce monoklonálních protilátek (mAbs) proti T buňkám nebo imunosupresivními látkami. Již dříve jsme navrhli, že autoimunitní onemocnění jsou „poruchy kmenových buněk“ a ukázali, že alogenní transplantace kostní dřeně může být užita v prevenci a léčbě autoimunitních onemocnění u

(NZB x NZW)F1(B/WF1), BXSB, (NZW x BXSB)F1(W/BF1) myši a myši s diabetem typu I. Bohužel MRL/lpr myši byly radiosenzitivní, protože po ozáření zpravidla uhynuly na střevní infekci, když dávka překročila 8,5 Gy. Kromě toho, dávky nižší než 8,5 Gy nedokázaly kompletně eliminovat abnormální hematopoetické kmenové buňky (HSCs) u MRL/lpr myši. Konvenční BMT (8,5 Gy ozáření plus alogenní BMT) proto neměla efekt na prevenci a léčbu autoimunitních onemocnění u MRL/lpr myši. Již dříve jsme zjistili, že donor derivované stromální buňky jsou nutné pro úspěšnou alogenní BMT, jelikož existuje MHC restrikce mezi HSCs a stromálními buňkami. Samozřejmě, že kombinace BMT s kostním štěpem (k získání dárcovských stromálních buněk) kompletně zabránila recidivě autoimunitního onemocnění u MRL/lpr myši. Zjistili jsme, že tato kombinace je bez efektu na léčbu autoimunitních onemocnění u MRL/lpr myši, protože se myši stávají více radiosenzitivní po vzniku lupusové nefritidy způsobené rozvojem uremické enterokolitidy.

Proto jsme provedli frakcionované ozáření a vymysleli nový postup, který zahrnuje injekci cyklofosfamidu (CY), frakcionované ozáření (5 Gy x 2), kostní štěpy (k doplnění stromálních buněk) a dvou transplantací celodřeňových buněk (BMCs) z B6 myši. Bohužel tato strategie není možná u lidí, jelikož zahrnuje kostní štěpy k doplnění dárcovských stromálních buněk.

Již dříve jsme zjistili, že většina dárcovských HSCs je vychytána a zadržována v játrech (jak u aplikace Portální žilou tak u aplikace i.v.), a že HSCs indukují klonální anergii k hostitelským CD8⁺ T buňkám. K tomu jsme zjistili, že PV plus i.v. injekce dárcovských BMCs mohou navodit perzistentní donor

specifickou toleranci v kožním aloimplantačním systému. Když jsme vzali v úvahu tato zjištění, ustanovili jsme velmi nedávno nové postupy pro léčbu závažných autoimunitních onemocnění u chimericky-rezistentních MRL/lpr myši.

MRL/lpr myši obdrží BMCs cestou PV po frakcionovaném ozáření (5,5 Gy * 2 + PV) a nepoužívají se žádná imunosupresiva. Stupeň přežití u myši takto léčených byl signifikantně vyšší než u myši léčených s (5,5 Gy * 2 + i.v.). V této zprávě analyzujeme mechanismus(y) podmiňující úspěšné hematopoetické zotavení po této léčbě a ukazujeme, že dárcovské stromální buňky hrají klíčovou roli v časném uchycení dárcovské hematopoezy.

Pacienti s leukémií nebo aplastickou anémií bývají úspěšně léčeni alogenní BMT a různé hematopoetické faktory jako GM-CSF nebo G-CSF bývají všeobecně využívány k rychlému zavedení dárcovské hematopoezy. Avšak bylo popsáno, že tyto kolonie stimulující faktory zhoršují zánětlivá onemocnění jako vaskulitidy, ale také způsobují vzplanutí autoimunitních onemocnění jako jsou RA a Feltyho sy. Tyto kolonie stimulující faktory stimulují jak dárcovské, tak příjemcovské HSCs (hematopoetické kmenové buňky). Proto je důležité rychle vytvořit pouze buňky odvozené od dárce. Již dříve jsme zjistili, že od dárce odvozené stromální buňky hrají zásadní roli v uchycení štěpu dárcovských buněk díky existenci MHC restrikce mezi HSCs a stromálními buňkami. K posílení stromálních buněk v hematopoetických orgánech jsme předtím provedli kotransplantaci kosti a BMCs od stejného dárce. Následně jsme ukázali, že kombinace BMT s kostními štěpy po TBI (8,5Gy) (total body irradiation) může kompletně zabránit autoimunitnímu onemocnění u MRL/lpr myši, a že dvojitá injekce BMCs s kostním štěpem po injekci cyklofosfamidu (CY) a TBI (5Gy * 2) může být užita k léčbě autoimunitního onemocnění po jeho nástupu u chimerických rezistentních MRL/lpr myši.

Bohužel je obtížné uplatnit tyto kotransplantace u lidí, protože se musí provést kostní štěpy k posílení dárcovských stromálních buněk. Vzhledem k tomuto problému jsme vymysleli nový postup k léčbě nezvladatelných autoimunitních onemocnění u MRL/lpr myši. Metoda sestává z BMT cestou

Portální žíly bez imunosupresiv a kostních štěpů.

V této studii přežilo více než 100 dní více než 80% MRL/lpr myši léčených (5.5 x 2 + PV), zatímco více než 70% myši léčených (5.5 x 2 + i.v.) zemřelo během 40 dnů. Tato zjištění ukazují, že alogenní BMT cestou PV je schopné léčit autoimunitní onemocnění u MRL/lpr myši dokonce i po vypuknutí choroby. Již dříve jsme ukázali, že alogenní HSCs injikované cestou Portální vény jsou vychytávány a udržovány v játrech příjemce. Ve skutečnosti je počet HSCs detekovaný v játrech po PV injekci BMCs třikrát větší, než když jsou injikovány cestou periferní (i.v.). Toto je případ v současné studii, kde počet donor-derivovaných hematopoetických progenitorových buněk (které jsou definovány jako c-kit+/Lin- buňky) v játrech, kostní dřeni a slezině se pozoruhodně zvýšil 14 dní po léčbě. Kromě toho bylo zjištěno, že dárcovské HSCs mohou indukovat CD8+ T buňky ke klonální anergii (jev, kdy lymfocyt rozpozná autoantigen, ale chybí kostimulační signál nutný k plné aktivaci buněk a důsledkem je funkční útlum), protože HSCs exprimují MHC třídy I, ale ne kostimulační molekuly jako B7. Proto se uchycení štěpu dárcovských buněk zvýší po PV injekci BMCs injekcí dárcovských hematopoetických progenitorů, což vede k tvorbě hematopoetických ložisek v játrech a donor-specifické toleranci ke zbylým donor-specifickým T buňkám (pokud vůbec nějaké zbyly po ozáření).

Již byly zprávy oznamující, že stromální kmenové buňky (mezenchymální kmenové buňky) jsou esenciální pro proliferaci a diferenciaci HSCs. Když se injikují cestou PV (ale nioliv i.v.), mohou být donor-derivované stromální buňky generovány v částech kostí příjemce. Dále v játrech a slezině příjemce se donor-derivované stromální buňky objevily těsně u donor-derivovaných buněk. Tato zjištění naznačují, že dárcovské stromální buňky nebo jejich prekurzorové buňky se účinněji uchytí při PV injekci a některé se uchytí v játrech příjemce, zatímco některé migrují do sleziny a kostní dřeni příjemce.

V této studii se procento donor derivovaných buněk (a těch, které mají znaky zralé linie) rychle zvýšilo v hematopoetických orgánech jako kostní dřev, slezina, játra. Počet donor derivovaných buněk v těchto orgánech dosáhl

normálních hodnot 14 dní po léčbě (5.5 Gy x 2 + PV). Hematopoetická ložiska sestávající ze směsi buněk myeloidní a erytrocytární linie byla pozorována okolo žil v játrech. Různé linie buněk jako granulocyty, erytrocyty a megakaryocyty se tvořily také ve slezině. Tato zjištění dávají silný podnět, že dárcovské celodřeňové BMCs včetně stromálních buněk (nebo jejich prekurzorů) tvoří v hematopoetických orgánech vhodné mikroprostředí, když jsou injikovány cestou Portální vény a tímto usnadňují proliferaci a diferenciaci dárcovských HSCs ve spolupráci s MHC-sdruženými dárcovskými stromálními buňkami v játrech. Samozřejmě bylo pozorováno významné snížení doby přežití u příjemců, kteří dostali BMCs ochuzené o adherentní buňky i přesto, že byly injikovány cestou Portální vény. Kromě toho, když byly příjemcům transplantovány Portální žilou o adherentní buňky ochuzené BMCs s kultivovanými stromálními buňkami, všichni příjemci přežili více než 80 dní. Tato zjištění ukazují, že stromální buňky hrají významnou roli v uchycení dárcovských buněk.

Dlouhodobá aplikace chemických látek jako jsou protizánětlivé léky, imunosupresiva a cytotoxické léky, které se používají k léčbě SLE a RA, vede ke kumulativním vedlejším účinkům a velké zátěži na pacienty. Mimoto úporná autoimunitní onemocnění jako RA podtyp HLA-DRB1*04 se rozvíjí v kruté autoimunitní onemocnění s mnohočetnou kostní destrukcí a zřídka se dostavujícími delšími remisemi, přestože jsou léčeny rozličnými nemoc-modifikujícími antirevmatickými léčivy. Jelikož nebyl ustanoven žádný vhodný postup pro autoimunitní onemocnění, jsou pacienti s autoimunitními onemocněními těžce hendikepováni v běžném životě. U lidí již bylo zjištěno, že se autoimunitní onemocnění jako RA, SLE, mnohočetná skleróza, psoriáza a Crohnova nemoc zlepšují po alogenní BMT. Nebyl popsán žádný opakovaný výskyt po alogenní BMT u autoimunitních onemocnění, leukémií nebo aplastických anémií během dlouhodobého pozorování (během 7-20 let), což ukazuje, že alogenní BMT je ideální postup pro léčbu úporných autoimunitních onemocnění.

V této studii jsme ukázali, že nejen dárcovské HSCs, ale také dárcovské stromální buňky podané cestou Portální žíly jsou zachycovány v játrech, a že

časné uchycení HSCs se objevuje ve spolupráci donor-derivovaných stromálních buněk v hematopoetických orgánech. Tato nová léčba usnadňuje znovunastolení hematopoezy, proto není nutné dlouhodobé užívání imunosupresiv, což by osvobodilo pacienty od zátěže způsobené závažnými vedlejšími účinky. Věříme, že tento postup alogenní BMT bude užitečný pro aplikaci u lidí, až se laparoskopicky vedené podávání cestou Portální vény stane dobře ustanovenou a bezpečnou technikou.

Závěr:

Autoimunitní onemocnění jsou závažná onemocnění, jejichž incidence stoupá. Jejich etiologie je multifaktoriální a jako taková obtížně kauzálně interpretovatelná. Z hlediska terapie představují autoimunitní onemocnění zpravidla problém. Široce je užívána symptomatická a nemoc modifikující léčba, která neléčí příčinu, ale pouze projevy nemoci. V posledních letech se mnoho studií zabývalo touto problematikou a vývojem přípravků zasahujících přímo do patogeneze onemocnění. První velkou skupinou takových léčiv je skupina biologických léčiv jako jsou monoklonální protilátky proti TNF a další, které zpravidla zasahují do kaskády patologické imunitní odpovědi. Tato léčiva se však zatím do širokého praktického používání nedostala a využívají se zpravidla u nemocných se závažným průběhem onemocnění a špatnou odpovědí na symptomatickou a imunosupresivní léčbu. Další jejich nevýhodou je absence dat hodnotících jejich dlouhodobé užívání a vysoké náklady, které se projevují na ceně přípravků.

Velice zajímavou terapeutickou a sekundárně preventivní oblastí je oblast nefarmakologické léčby, u které by se měly přesně identifikovat vlivy zevního prostředí podílející se na etiologii onemocnění. Velice zajímavý je vliv emočních faktorů na rozvoj nebo exacerbace autoimunitního onemocnění (např. stres). A poté formulovat postupy obsahující prevenci expozice konkrétním faktorům prostředí, zhodnocení užití psychoterapeutických a se stresem pracujících přístupů. Což by mohlo vést k významnému benefitu u těchto onemocnění, jak z hlediska ekonomiky, tak z hlediska rozvoje exacerbací nebo komplikací autoimunitních onemocnění. Je nutné zdůraznit, že identifikace environmentálního spouštěče autoimunitního onemocnění je velmi důležitá. Identifikace tohoto zatím u mnoha onemocnění neznámého faktoru by v budoucnu umožnila jednoduchou, pravděpodobně ekonomicky nenáročnou, prevenci tohoto onemocnění.

Z hlediska multifaktoriální etiologie autoimunitních onemocnění je zřejmé, že tato problematika zasahuje do mnoha medicínských oborů (namátkou genetika, buněčná biologie, endokrinologie, interní medicína, psychiatrie, imunologie..). Z tohoto hlediska by mohlo být užitečné ustanovit nové disciplíny jako neuroendokrinoimunologie a hlavně dát důraz na cílenou mezioborovou spolupráci.

Autoimunitní onemocnění nabízí obrovský prostor pro výzkum. V poslední době se objevilo mnoho slibných potencionálně terapeutických a sekundárně preventivních přístupů, jako je transplantace kostní dřeně, využití kmenových buněk, terapie pomocí genových vektorů a mnoho dalších. Zatím jsou bohužel k dispozici především data ze zvířecích modelů. Otázkou zůstává, zda tyto slibné metody budou použitelné i u lidí, z hlediska bezpečnosti a invazivity a zda budou dosahovat terapeutického efektu popsaného na zvířecím modelu.

Ještě se musí udělat mnoho práce, ale doufejme, že cílená a komplexní terapie včetně sekundárně preventivních přístupů pro pacienty s autoimunitními onemocněními, která podstatně zlepší kvalitu života těchto pacientů, je otázkou blízké budoucnosti.

Souhrn:

Autoimunitní onemocnění jsou onemocnění s multifaktoriální etiologií, u kterých jsou imunitní efektorové buňky nasměrovány proti vlastním antigenům. Na vývoji těchto onemocnění se podílí faktory genetické, prostředí, hormonální, imunologické spolu s neznámými spouštěcími faktory. Revmatoidní artritida je nejčastější autoimunitní onemocnění postihující 1-2% populace celosvětově. Cílem této práce bylo udělat přehled některých pokusů o prevenci autoimunitních onemocnění. Inhibice IL-1 β zprostředkované zánětlivé odpovědi pomocí adenovirového nosiče I κ B α (S32A, S36A) byla u synovialocytů in vitro efektivní, což dává odůvodnění pro využití NF- κ B v pokusech o prevenci rozvoje RA. Podávání antagonisty receptoru IL-1 (IL-1Ra) nebo solubilní formy TNF- α receptoru (TNF- α SR) jako purifikovaných proteinů pomocí replikačně defektních HSV vektorů bylo efektivní pro zlepšení zánětu u zvířecích modelů s RA. Solubilní TNF má rozhodující pozici v kaskádě zánětlivých cytokinů. Studie TNF inhibitorů ukázaly dramatickou úlevu od bolesti a otoku a rychlou redukci odezvy akutní fáze. Metoda transplantace kostní dřeně (BMT)(bone marrow transplantation) pro léčbu úporných autoimunitních onemocnění u MRL/lpr myši je schopná léčit autoimunitní onemocnění dokonce i po vypuknutí choroby. Od dárce odvozené stromální buňky hrají zásadní roli v uchycení štěpu dárcovských buněk. U lidí již bylo zjištěno, že se autoimunitní onemocnění zlepšuje po alogenní BMT. Během dlouhodobého pozorování nebyl popsán žádný opakovaný výskyt autoimunitního onemocnění, což ukazuje, že alogenní BMT je ideální postup pro léčbu úporných autoimunitních onemocnění. Léčba autoimunitních onemocnění by měla obsahovat léčbu stresu a behaviorální intervenci k zábraně imunitní nerovnováhy spojené se stresem.

Summary:

Autoimmune diseases are diseases with multifactorial etiology, where the immune-effector cells are directed against self-antigens. In development of these diseases participate genetical, environmental, hormonal, immunological together with unknown releasing factors. Rheumatoid arthritis is the most frequent autoimmune disease affecting 1-2% of population worldwide. Review of attempts to prevent autoimmune diseases was aim of this work. IL-1 β -mediated inflammatory response inhibition through adenoviral vehicle I κ B α (S32A, S36A) was effective by synovialocytes in vitro, which gives rationale for NF- κ B application in attempts to prevent RA development. Antagonists of IL-1 receptor (IL-1Ra) or soluble forms of TNF- α receptor (TNF- α SR) as purified proteins delivery was effective to ameliorate inflammation in animal models for RA. Soluble TNF has crucial position in inflammatory cytokines channel. TNF inhibitors trials showed dramatical relief of pain and swelling and rapidly reduction of acute period response. Bone marrow transplantation (BMT) approach for intractable autoimmune diseases by MRL/lpr mice is able to heal autoimmune disease even after the onset of disease. Donor-derived stromal cells plays essential role in engraftment of donor cells. Amelioration of autoimmune disease was already observed in humans after allogeneic BMT. No recurrence has been reported after allogeneic BMT for autoimmune diseases during long-term observation, suggesting that allogeneic BMT is an ideal strategy for the treatment of intractable autoimmune diseases. Autoimmune disease therapy should contain stress management and behavioral intervention to prevent immune disbalance binded to stress.

Seznam použité literatury a informačních zdrojů:

- (1) KLENER, P., et al. Vnitřní lékařství. 3.vyd. Praha: Galén, 2006. str.529-538, 967-974. ISBN 80-7262-431-8
- (2) BERKOW, R., et al. Merck manual. 1.cz vyd. Praha: X-Egem, 1996. str.1158-1164, ISBN 80-85395-98-3
- (3) BARTUŇKOVÁ, J., HOŘEJŠÍ, V., Základy imunologie. 2.vyd. Praha: Triton, 2002. str.193-203. ISBN 80-7254-215-X
- (4) BURT, K.R., TRAYNOR, E.A., Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A New Therapy for Autoimmune Disease. The Oncologist 1999;4:77-83.
- (5) TAKETOSHI, K., et al., Crucial Role of Donor-Derived Stromal Cells in Successful Treatment for Intractable Autoimmune Diseases in MRL/lpr Mice by BMT Via Portal Vein. Stem Cells, May 2001, Vol.19, No.3, 226-235,
- (6) YOUNG-RAE, L., et al., Inhibition of IL-1 β -mediated inflammatory responses by the I κ B α super-repressor in human fibroblast-like synoviocytes, Elsevier-BBRC 2008, vol.378,11,90-94.
- (7) BURT, K.R., From animals to clinic: nonmyeloablative conditioning and allogeneic bone marrow transplantation in autoimmune disease, Arthritis Rheum. 2004;50: 2466-2470
- (8) DORIA, A., Preventive strategies in systemic lupus erythematosus, Autoimmunity Reviews 2008, 7, 192–197
- (9) SEGAL, B., RHODUS, L.N., PATEL, K., Tumor necrosis factor (TNF) inhibitor therapy for rheumatoid arthritis, Oral Surgery, Oral

Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology 12-2008,
vol.106, issue6, p.778-787

- (10)** STOJANOVICH, L., Stress as a trigger of autoimmune disease. Abstracts book: 5th International Congress on Autoimmunity, Sorrento, Italy, *Autoimmun Rev* (2006), p. 355
- (11)** BURTON, E.A., Multiple Applications For Replication-Defective Herpes Simplex Virus Vectors, *Stem Cells*, September 2001, Vol. 19, No. 5, 358-377,
- (12)** <http://www.google.cz>
- (13)** <http://www.lf3.cuni.cz> – přístup do informačního portálu Onelog