

Jernej Kristl¹

Rekombinantni človeški proteini – nov nabor učinkovin za zdravljenje luskavice

Recombinant Human Proteins – New Palette of Drugs for the Treatment of Psoriasis

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: luskavica, citokini, rekombinantni proteini, monoklonalna protitelesa

Luskavica je kronična vnetna bolezen, ki prizadene približno 2,5 % svetovnega prebivalstva. Klinično se kaže z odebeljenimi, srebrno-belimi in luskastimi žarišči na koži, ki lahko pri bolniku povzročijo hudo nelagodje in bolečino. Za zdravljenje luskavice se večinoma uporabljajo kortikosteroidi, analogi vitamina D, obsevanje z ultravijolično A-svetlobo, retinoidi, vendar so obstoječi načini zdravljenja nespecifični in le zavirajo mehanizme njenega nastanka. Napredek rekombinantne DNA-tehnologije in boljše poznavanje patofiziologije luskavice sta botrovala razvoju številnih imunomodulacijskih beljakovinskih učinkovin, ki specifično zavirajo nastanek luskavice. Biološke učinkovine delujejo z neposrednim vplivom na limfocite T, njihovo aktivacijo, migracijo ter izražanje vnetnih mediatorjev. Kljub vsemu ozdravljenja ne zagotovijo, vendar učinkoviteje lajšajo njene bolezenske znake, poleg tega so vedno bolj varna. Upoštevati moramo namreč, da je zdravljenje luskavice navadno dolgotrajno, med katerim je prisotnost neželenih učinkov pri večini učinkovin omejitveni dejavnik. V tem članku so predstavljena znana dejstva o luskavici, v nadaljevanju pa sledi pregled učinkovin za njeno zdravljenje s poudarkom na novejših imunomodulacijskih učinkovinah.

171

ABSTRACT

KEY WORDS: psoriasis, cytokine, recombinant proteins, monoclonal antibodies

Psoriasis is a chronic, inflammatory disease, which is estimated to affect 2,5 % of the world's population. Clinically it is characterized by thickened, silvery white, scaly plaques, that can produce considerable discomfort and pain in patients. For the treatment of psoriasis are currently mainly used corticosteroids, vitamin D analogs, ultraviolet A radiation and retinoids, all of which are nonspecific and unable to block the outbreak of disease. Advances in recombinant DNA technology and increased understanding of the pathophysiology of psoriasis have led to the development of numerous immunomodulatory drugs, which specifically inhibit the occurrence of disease. Novel agents have direct effect on T cell, T cell activation, T cell migration, and expression of inflammatory mediators. However, they can still not assure total remission, but offer enhanced efficacy and improved safety. We have to take into consideration that treatment of psoriasis is usually longterm, meaning that adverse effects of a drug represent a limiting factor for using that drug. In this article, known facts on psoriasis are presented, along with the review of therapies with stress on new immunomodulatory agents.

¹ Jernej Kristl, mag. farm., Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana, Slovenija.

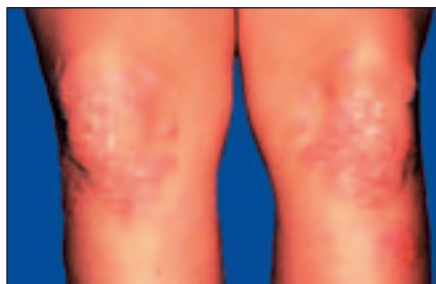
UVOD

Luskavica je zapletena, kronična, večplastno pogojena bolezen, ki je mnogokrat bolniku v hudo breme zaradi svoje značilne klinične slike. Zdraviti so jo poskušali že od nekdaj, toda kljub zapletenim terapevtskim režimom z večkratnim prilagajanjem odmerkov in uporabi specialne opreme, bolezen nikomur ni uspelo učinkovito omejiti. Dosegali so le manjše izboljšanje stanja. Hkrati se je luskavica pogosto po prenehanju zdravljenja ponovila, kar je navadno vodilo v dolgotrajno zdravljenje, to pa k mnogim neželenim učinkom. Z novimi dognanji o patofiziologiji luskavice so prišli tudi do novih strategij njenega zdravljenja, ki obljublajo varnejše učinkovine ter daljša obdobja odsotnosti znakov oziroma manj ponovitev. Teh zahtev do nedavnega prevladujoče zdravljenje, kot so topikalno zdravljenje s korikosteroidi in analogi vitamina D, fototerapija ter sistemsko zdravljenje z metotreksatom, acitretinom in ciklosporinom, še ne izpolnjujejo popolnoma. Trenutno prinaša velik premik v naboru učinkovin za zdravljenje luskavice razvoj imunomodulacijskih spojin, ki uravnavajo aktivacijo limfocitov T in drugih imunskih funkcij. Kljub vsemu ne smemo prezreti, da luskavico še vedno zdravimo le simptomatsko. Bolnikom z luskavico je mogoče sicer vedno uspešneje lajšati težave, vendar bolezen še ne zmoremo pozdraviti, ki zato ostane prisotna vse življenje.

LUSKAVICA

Luskavica je kronična kožna bolezen, ki se kaže z luskastimi, srebrnobelimi, odebeljenimi in eritematoznimi kožnimi lehami na značilnih telesnih predelih, kot so komolci, kolena, lasišče in območje križa (slika 1). Lahko so prizadete tudi druge kožne površine (1). Oboleli predeli lahko bolijo, srbijo ali krvavijo. Zanj je značilna močna čezmerna poroženelost povrhnjice zaradi motenj v delitvi in diferenciaciji keratinocitov. Epidemiološke raziskave so pokazale, da se bolezen pojavi pri 2,5% ljudi (2).

Histološki pregled luskavične kože pokaže bolezensko prisotnost vnetnih celic. V študijah so ta izvid povezali z razlago, da so hiperplazija in druge spremembe povrhnjice posledica delovanja imunskega sistema na lokalni rav-

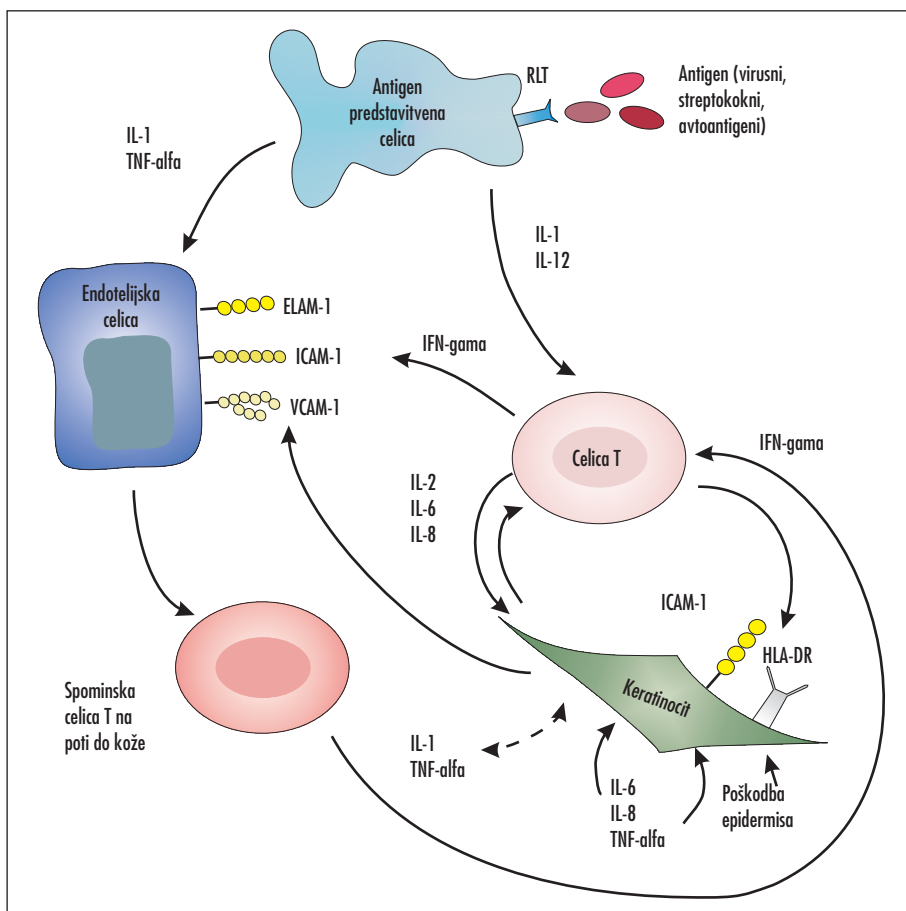


Slika 1. Značilni znaki luskavice. Značilni znaki luskavice so odebeljene, srebrnobe in eritematozne kožne lehe, ki se najpogosteje pojavijo na komolcih, koljenih, lasišču in območju križa.

ni. Bolezenski proces sprožijo različni antigeni (streptokokni, virusni, avtoantigeni), tako da aktivirajo antigen predstavitevne Langerhansove in ostale dendritske celice v koži (slika 2), ki nato prehajajo v regionalne bezgavke ter interagirajo z neopredeljenimi (nativnimi) limfociti T prek številnih posredniških receptorskih molekul. Kloni limfocitov T, ki izkazujejo zadostno afiniteto do predstavljenega antigena, se aktivirajo, delijo in splavijo v obtok. Odtod naprej gre za značilen vnetni proces, ki obsega lokalno izražanje adhezijskih molekul endotelijske-levkocitne adhezijske molekule 1 (*ang.* endothelial-leukocyte adhesion molecule-1, ELAM-1), medcelične adhezijske molekule 1 (*ang.* intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) in žilnocelične adhezijske molekule 1 (*ang.*: vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) na endotelijskih celicah in keratinocitih za usmerjanje aktiviranih limfocitov T v predel vnetja. Prispeli limfociti T izločajo interferon γ (IFN γ), TNF α , IL-2, IL-6 ter IL-8, s katerimi spodbudijo keratinocite, da začnejo izražati dodatne mediatorje (IL-1, IL-6, IL-8, TNF α), ki po avtokrini in parakrini poti sprožijo svojo proliferacijo in podaljšanje luskavičnega procesa (3). Keratinociti se lahko aktivirajo tudi neposredno s poškodbo povrhnjice.

KRATEK PREGLED UVELJAVLJENIH NAČINOV ZDRAVLJENJA LUSKAVICE

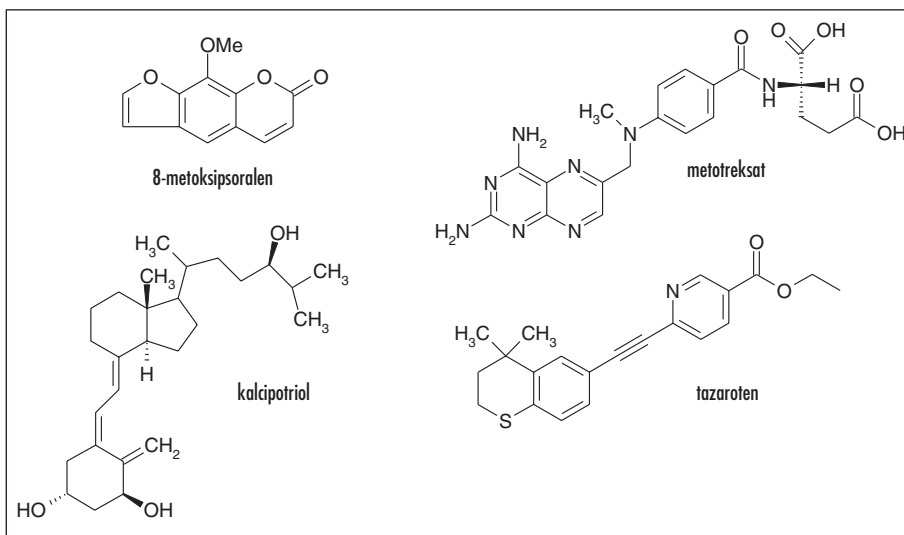
Prevladujoče zdravljenje luskavice obsega topikalne kortikosteroide, ki so od leta 1963 učinkovine prvega izbora za zdravljenje luskavice.



Slika 2. Razvoj luskavične vztrsti kot posledice delovanja imunskega sistema. IL – interleukin; $INF\ \gamma$ – interferon γ ; $TNF\ \alpha$ – dejavnik tumorske nekroze α ; ELAM-1 – endotelijska-levkocitna adhezijska molekula-1; ICAM-1 – medcelična adhezijska molekula-1; VCAM-1 – žilno-celična adhezijska molekula-1; RLT – receptor limfocita T. Različni antigeni v koži lahko aktivirajo antigen predstavitevne celice, ki v koži začnejo izločati interleukin 1 (IL-1) ter faktor tumorske nekroze α ($TNF\alpha$), s katerima delujejo na endotelijske celice. Te se odzovejo z izražanjem adhezijskih molekul ELAM-1, ICAM-1 in VCAM-1 na svoji površini. V nadaljevanju se aktivirane antigen predstavitevne celice v lokalnih bezgavkah srečujejo z neopredeljenimi limfociti T. Tiste klone limfocitov T, ki izkazujejo zadostno afiniteto do predstavljenega antigena, aktivirajo. Le-ti se delijo in izplavijo v krvni obtok ter se s pomočjo adhezijskih molekul na endotelijskih celicah usmerijo v predel vnetja, kjer začnejo pod vplivom prisotnih citokinov, ki jih izločajo antigen predstavitevne celice, tvoriti IL-2, IL-6, IL-8 in interferon γ ($INF\gamma$). Citokini spodbudijo v keratinocitih izražanje dodatnih mediatorjev. Skupaj vnetni mediatorji spodbudijo delitev keratinocitov in podaljšanje luskavičnega procesa.

vice (4). Mehanizem delovanja še ni povsem znan, toda očitne so protivnetne, antiproliferativne in imunosupresivne lastnosti kortikosteroidov (5). Hkrati ali posamično se za zdravljenje luskavice uporablja kalcipotriol, ki je delujoč analog vitamina D (slika 3) (6). Uporabljajo ga v kremi ali mazilu z 0,005 % kalcipotriola 6 do 8 tednov, dvakrat dnevno na prizadetih predelih z oblogami (1). Prav tako za zdrav-

ljenje luskavice uporabljajo ditranol, poznan tudi kot antralin, ki deluje citostatično po radikalnem mehanizmu. Kot najstarejše zdravilo se še vedno uporabljajo katrani, ki delujejo protivnetno in keratinolitično, zmanjšajo pa tudi srbečico. V določene pripravke dodajajo salicilno kislino predvsem kot keratolitik in za povečanje učinkovitosti drugih antipsoriatikov v globljih kožnih plasteh (1). Topikalno



Slika 3. Strukturne formule 8-metoksipsoralena, kalcipotriola, metotreksata in tazarotena.

se nanaša tudi retinoid tazaroten (slika 3). Foto(kemo)terapija je priporočena za delež bolnikov, ki se na topikalno zdravljenje ne odzovejo ali ko postane slednje zaradi prevelike površine zbolele kože farmakološko in ekonomsko nesprejemljivo. Uporabljata se ultravijolična B-svetloba (UVB) valovne dolžine 290 do 320 nm (najbolj učinkovita je 313 nm) (7) ter ultravijolična A (UVA), ki prodre v globlje plasti kože, vendar nosi manjšo zalogo energije, zaradi česar je sevanje prešibko za zadosten protiluskavični učinek. Terapevtski učinek dosežejo s kombinacijo UVA in peroralne ali topikalne uporabe psoralena, ki skupaj tvorita PUVA (psoralen + UVA) (8). Najpogosteje se med psoraleni uporablja 8-metoksipsoralen (slika 3) (9).

Poleg topikalnega poznamo tudi sistemsko zdravljenje. Tega se poslužujejo pri hudih oblikah luskavice, ko postane bolnik telesno in socialno ohromljen, ali pri neodzivanju na zdravljenje s topikalnimi antipsoriatiki ali fototerapijo. V sistemsko zdravljenje spadajo metotreksat (slika 3) (10, 11), ciklosporin (12) ter peroralna retinoida acitretin in etretinat.

NOVOSTI NA PODROČJU ZDRAVLJENJA

V zadnjem obdobju so ugotovili, da igra imunski sistem v patofiziologiji luskavice pomembno

vlogo. Spoznanja na tem področju so sprožila razvoj bioloških učinkovin, ki selektivno ciljajo limfocite T in citokine, tako da zmanjšajo vnetje. Značilna selektivnost bioloških učinkovin naj bi prispevala k bolj učinkovitemu zdravljenju z manj neželenimi učinki, kot jih imajo tradicionalna zdravila.

Zasnovali so zdravljenje, kako po štirih poteh doseči zadostno izboljšanje bolezenskega stanja, in sicer je treba (13):

- zmanjšati število aktiviranih limfocitov T,
- zavreti aktivacijo limfocitov T,
- preusmeriti odziv T_{H1} proti odzivu T_{H2} s citokini, značilnimi za odziv T_{H2} ,
- zavreti delovanje vnetnih citokinov.

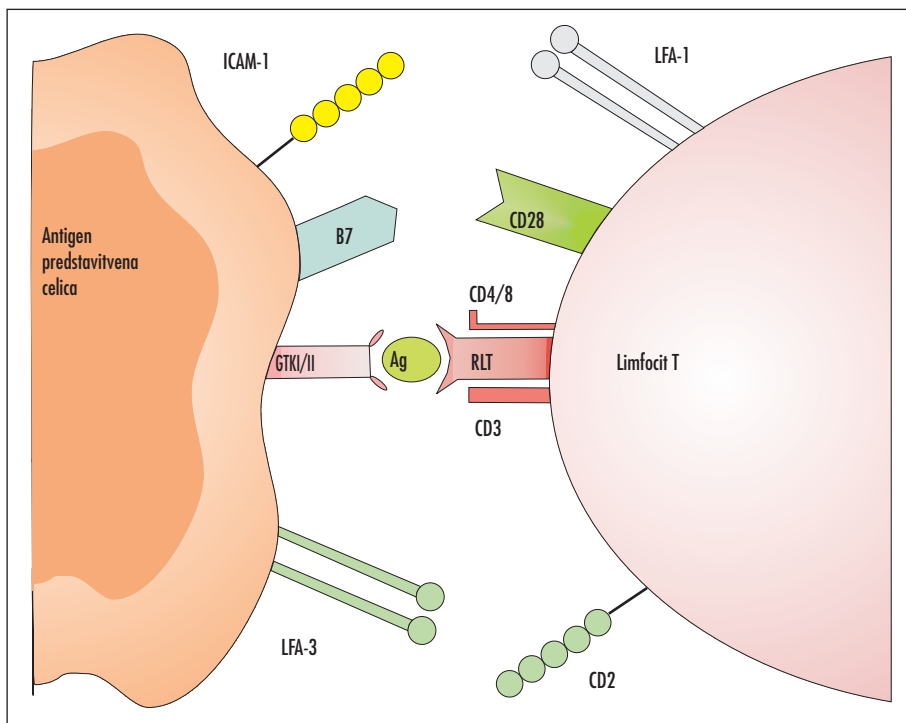
Vedenje o limfocitih T, ki pri luskavici sproščajo patogene mediatorje, se je močno povečalo. Večina jih ima kožni antigen, kožni limfocitni antigen, aktivacijske (CD25, CD69, IFN γ) in spominske označevalce (CD45RO⁺) (14). Na svoji površini izražajo tudi receptor za IL-2 in površinski označevalec CD2, ki je potreben za kostimulacijo pri aktivaciji celice (14). Vse te značilne molekule so potencialne tarče za zdravljenje. Učinkovina, ki se veže na eno od njih, lahko zmanjša število aktiviranih celic T in s tem zavre imunski odziv pri luskavici.

Namesto da bi zmanjšali število celic T, lahko omejimo njihovo aktivacijo. Za slednjo

sta potrebna dva signala (slika 4). Prvega doseže povezava med antigenom na glavnem tkivnoskladnostnem kompleksu antigen predstavitvene celice in membranskega receptorja limfocita T. Drugi pa je posledica molekularskih parov: LFA-1 (z delovanjem limfocita povezan antigen tipa 1, *ang. lymphocyte function associated antigen type 1*) in ICAM-1, CD28 in B7, CD2 in LFA-3 (14). Večina interakcij med naštetimi molekulami spodbuja celico T ali okrepi povezavo med njo in antigen predstavitveno celico. Nekatere molekule (ICAM-1, LFA-1) so pomembne tudi za migracijo limfocitov T v kožo, tako da preprečujevanje interakcij ne zmanjša samo stopnjo aktivacije celic T, ampak tudi omeji njihovo prehajanje v kožo. Učinkovine, ki delujejo po tem načelu, bolniki v splošnem dobro prenašajo. Kljub temu je popolno ozdravljenje redko, saj se vsi bol-

niki ne odzovejo na zdravljenje in največji učinek je opazen šele po nekaj tednih. Navedeni podatki so razumljivi, saj je kostimulacija pomembna na začetku aktivacije limfocitov T, medtem ko pozneje proces spodbujajo vnetni citokini. Zato bi bile učinkovine tega razreda morda koristnejše v začetnih stopnjah razvoja luskavice ali pa pri preprečevanju ponovnih izbruhov bolezni.

V kožnih luskah bolnikov z luskavico so določili povišano raven mnogih citokinov ter spoznali, da med vsemi vlada določeno neravnovesje. Med tistimi, ki jih sproščajo limfociti T, ločimo citokine T_H1 , ki so $IFN\gamma$, $TNF\alpha$, IL-2, IL-12 in limfotoksin, ter citokine T_H2 , ki so IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 in IL-13. V luskavični koži prevladujejo $IFN\gamma$, $TNF\alpha$ in IL-2, ki spadajo v skupino citokinov T_H1 , zato pravimo, da pri psorizii prevladuje odziv T_H1 (15).



Slika 4. Stimulatorne in potrebne kostimulatorne molekule pri aktivaciji limfocita T. GTKI – glavni tkivnoskladnostni kompleks; RLT – receptor limfocita T; LFA-1 – z delovanjem limfocita povezan antigen tipa 1; LFA-3 – z delovanjem limfocita povezan antigen tipa 3; ICAM-1 – medcelična adhezijska molekula-1. Za aktivacijo limfocita T sta potrebni dve povezavi med njim in antigen predstavitveno celico. Prva se tvori preko izpostavljenega antigena na glavnem tkivnoskladnostnem kompleksu antigen predstavitvene celice in membranskega receptorja limfocita T. Druga povezava, ki prvo okrepi ali dodatno spodbudi limfocit T, pa se tvori med molekularskimi pari na obeh celicah. Ti so: LFA-1 in ICAM-1, CD28 in B7 ter CD2 in LFA-3.

Obstaja način, da s citokini T_H2 vzpostavimo ravnovesje, zmanjšamo sintezo provnetnih citokinov T_H1 in tako omejimo luskavična žarišča.

Druga možnost je neposredno ciljano delovanje na citokine, ki so odgovorni za patološke spremembe, kot so npr. $IFN\gamma$, $TNF\alpha$ in IL-8 (14).

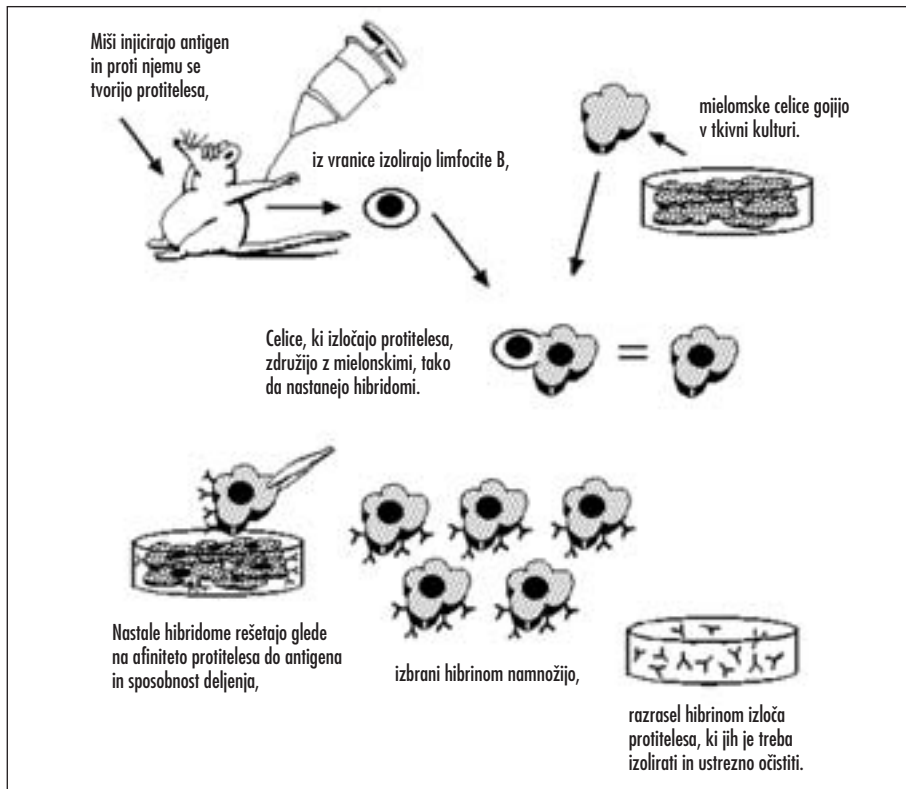
Vse biološke učinkovine učinkujejo po eni od zgoraj naštetih poti. Večinoma so biološke učinkovine beljakovine, ki se vežejo na zunanje dele celic. V splošnem poznamo tri tipe molekul, ki so jih razvili:

- rekombinantni človeški citokini ali rastni dejavniki,
- monoklonalna protitelesa in
- fuzijske beljakovine.

Rekombinantne človeške beljakovine so kopije človeških beljakovin ali njihovih fragmentov. Izdelujejo jih z rekombinantno tehnologijo v različnih ekspresijskih sistemih, kot so kva-

sovke, *Escherichia coli* in sesalčje celice. Učinek dosežejo z vezavo na celične receptorje ali druge ligande.

Monoklonalna protitelesa so beljakovine, ki se selektivno vežejo na določeno tarčo na celici ali v krvnem obtoku. Sprva so jih pridobivali iz seruma živali (miši), toda odkar sta znanstvenika Köhler in Millstein leta 1975 prišla do revolucionarnega odkritja združitve limfocitov B in mielomskih nesmrtnih celic (16), jih izdelujejo le še po njenem postopku (slika 5). Na začetku postopka miški vbrizgajo antigen, proti kateremu hočejo izdelati protiteleso. Antigen v miški izzove imunski odziv, kar pomeni, da se tvorijo različni kloni limfocitov B, ki proti antigenu izdelujejo protitelesa. Nato žival žrtvujejo, ji odstranijo vranico ter izolirajo limfocite B. Dobljene celice v prisotnosti polietilenglikola, ki spodbuja zlitje membran, združijo z nesmrtnimi mielomskimi celicami z okvarjenim genom za encim hipoksantin-gvanin fosforibozil trans-



Slika 5. Izdelava monoklonskih protiteles.

Tabela 1. Nove imunomodulatorne učinkovine za zdravljenje luskavice v kliničnih fazah testiranja (I-IV).

Vpliv na funkcijo antigen predstavitevnic celic	CTLA-4 (BMS 188667) LFA-3TIP (alefacept) protitelesa proti CD80 (IDEC 114)
Zaviralci celic T	protitelesa proti CD2 (siplizumab) protitelesa proti CD3 (OKT3, HuM291) protitelesa proti CD4 (BB14) difiterija toksin, vezan na IL-2 (DAB398IL-2) protitelesa proti CD25 (daklizumab)
Zaviralci adhezije	protitelesa proti CD11 (efalizumab) protitelesa proti CD6 (tor-1)
Lovilci citokinov	protitelesa proti IL-8 (ABX-IL8) protitelesa proti TNF α (infliksimab) topni TNF α -receptorji (etanercept) antagonisti LTB4-receptorjev (VLM 295) protitelesa proti IFN γ
Protivnetni citokini	IL-4 IL-10 IL-11

ferazo (HPRT). Encim je sicer potreben v celici za izdelavo purinskih baz. V naslednjem koraku zberejo nastale hibridome med mielomskimi celicami in limfociti B, tako da vse celice kultivirajo v mediju, ki ubije celice brez encima HPRT. Nezdržene mielomske celice pomrejo, limfociti B propadejo samodejno po približno dveh tednih, preživijo le hibridne mielomske celice, ki so dejaven encim HPRT dobile ob združitvi od imunskih celic B. Preživeli hibridni celični konstrukti imajo lastnosti tako mielomskih kot imunskih celic. So nesmrtni, se neomejeno delijo in izločajo monoklonska protitelesa. S presejalnimi tehnikami med vsemi hibridomi nato izolirajo tistega, ki proizvaja protitelo z največjo afiniteto do antigena in ima veliko sposobnost deljenja. Na koncu izbrani hibridom namnožijo in iz nastalega klona izolirajo ter ustrezno prečistijo monoklonska protitelesa. Včasih tako pridobljena monoklonska protitelesa v človeškem organizmu izzovejo imunski odziv in preobčutljivostne reakcije. Zato so začeli ustvarjati himerna ali humanizirana monoklonska protitelesa. Ohranili so le del variabilne regije mišjega protitelesa – tistega, ki je potreben za vezavo na antigen, preostali del imunoglobulinov pa so nadomestili s človeškimi regijami protiteles. S tem so dosegli večjo podobnost človeškemu protitelesu, daljši razpolovni čas in tako tudi aktivnost.

Zadnji tip bioloških učinkovin so fuzijske beljakovine. To so v eno polipeptidno verigo združeni deli različnih beljakovin, ki so lahko receptorji, toksini ali drugo.

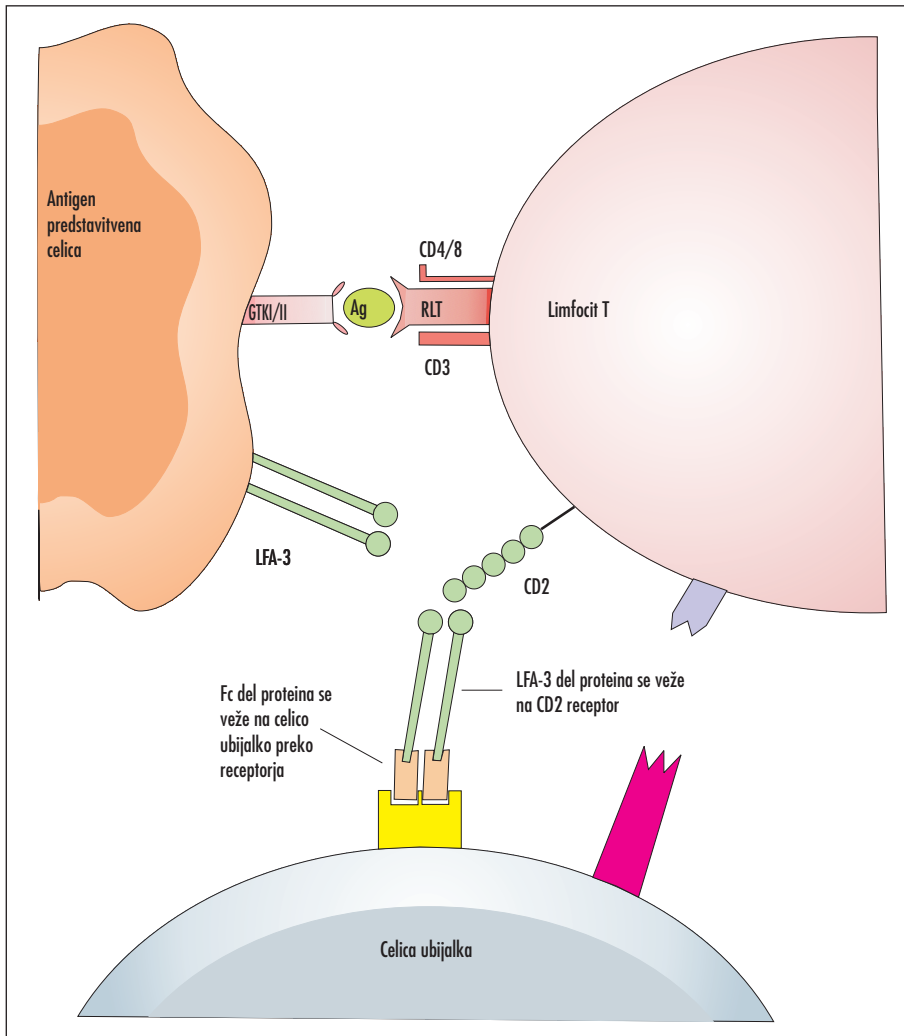
Vse biološke učinkovine dajejo intravenusno, intramuskularno ali subkutano z vbizgavanjem ali infundiranjem. Pogosto bolniki pri dolgotrajnem zdravljenju z njimi razvijejo imunski odziv s protitelesi. Drugi pogosti neželeni učinki (vročica, mrzlica, rdečica in izpuščaji) nastanejo med samim infundiranjem učinkovine.

V nadaljevanju so našteje in opisane spojine, ki so predstavniki bioloških učinkovin. Večina teh je zaenkrat še v I.–III. fazi kliničnega testiranja, nekatere pa so že registrirane (tabela 1).

Alefacept

Alefacept je človeška fuzijska beljakovina, sestavljena iz domene LFA-3 in konstantnega dela (Fc) IgG₁. Del učinkovine LFA-3 se veže na receptor CD2 celic T in onemogoči povezavo CD2 z LFA-3 (slika 6), ki je na antigen predstavitevnic celicah in služi kot dodatni dražljaj pri aktivaciji limfocitov T (14). Alefacept za svoje delovanje izrablja dejstvo, da primarno spodbujanje antigen predstavitvene celice prek receptorja limfocita T ne zadošča za aktivacijo limfocita T, pač pa je potreben še dopolnilni dražljaj prek sosednjih molekul. Odsotnost kostimulacije zaradi delovanja alefacepta zmanjša delež aktivacije in proliferacije T-limfocitov (17). Hkrati pa se Fc-del učinkovine veže na receptor, ki ga najdemo na pomožnih celicah, kot so celice ubijalke in makrofagi (14). Pomože celice, ko so pripete, selektivno usmerijo napad in v celicah T sprožijo program celične smrti. Znano je, da imajo največji delež molekule CD2 efektorski spominski limfociti T, ki poganjajo patogenezo luskavice. Dokazano je, da se število aktiviranih celic T in spominskih celic T v koži močno zmanjša. Upade tudi količina prisotnega IFN γ .

Klinične študije so potrdile učinkovitost alefacepta. Pri bolnikih, ki so ga prejeli, so po mnogih kriterijih ugotovili velik napredek. Znaki luskavice so se zmanjšali in ostali odsotni v povprečju 10 mesecev. Med študijo so tudi ugotovili, da alefacept ne povzroča hudih neželenih učinkov in bolniki ga dobro



Slika 6. Delovanje alefacepta. Alefacept je fuzijska beljakovina, sestavljena iz dela LFA-3-molekule in konstantnega dela (Fc) IgG₁. S prvim delom se učinkovina veže na receptor CD2 in s tem onemogoči kostimulacijo med LFA-3-receptorjem na antigen predstavitevni celici in CD2-receptorji na limfocitih T, ki je sicer potrebna interakcija v procesu aktivacije limfocitov. Hkrati se Fc-del učinkovine veže na receptorje celice ubijalka. Pripete celice ubijalka usmerijo napad in v limfocitih T sprožijo proces celične smrti.

prenašajo. Čeprav zmanjša število celic T, niso zaznali povečane nevarnosti za okužbe ali rakava obolenja (14). Z alefaceptom se je v kliničnih študijah zdravilo več kot 1500 ljudi. Niti med dolgoročnim spremljanjem bolnikov niso ugotovili značilno povečane verjetnosti za oportunistične okužbe ali maligna obolenja. Logična razlaga za to je, da se populacija limfocitov T zmanjša predvsem na račun spominskih limfocitov, medtem ko je število nativnih limfocitov ohranjeno. Poleg tega se

celokupno število limfocitov povrne na začetno raven takoj po prenehanju zdravljenja z alefaceptom. Zmanjšano število spominskih limfocitov T, ki so povezani z razvojem luska-vice, onemogoča hitro povrnitev boleznin in zagotovi daljša remisijška obdobja.

IDEC 114

IDEC 114 uporablja pri svojem delovanju podobno strategijo kot alefacept, le da preprečuje

kostimulacijsko povezavo CD28-B7 med antigen predstavitvenimi celicami in limfociti T (18). Molekula B7 na površini antigen predstavitvenih celic se fiziološko veže na receptor CD28 (CTLA4) na limfocitih T in spodbudi njihovo proliferacijo. Učinkovina IDEC 114 pa to preprečuje. Učinkovino gradita zunajcelična domena receptorja CTLA4 (*ang.* cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4) in konstantna domena (Fc) človeškega IgG. Z delom CTLA4 se z veliko afiniteto veže na molekule B7-1 (CD80) in B7-2 (CD86) na antigen predstavitvenih celicah, kar onemogoči njihovo interakcijo s CD28 in s tem zmanjša proliferacijo celic T. Njeno delovanje so ovrednotili v prvi in drugi klinični študiji. Kar 40% bolnikov z luskavico je doživelo več kot 50-odstotno zmanjšanje prizadete kožne površine in jakosti bolezenskih znakov. Izboljšanje se je ohranilo še več mesecev po zadnjem odmerku.

BB14

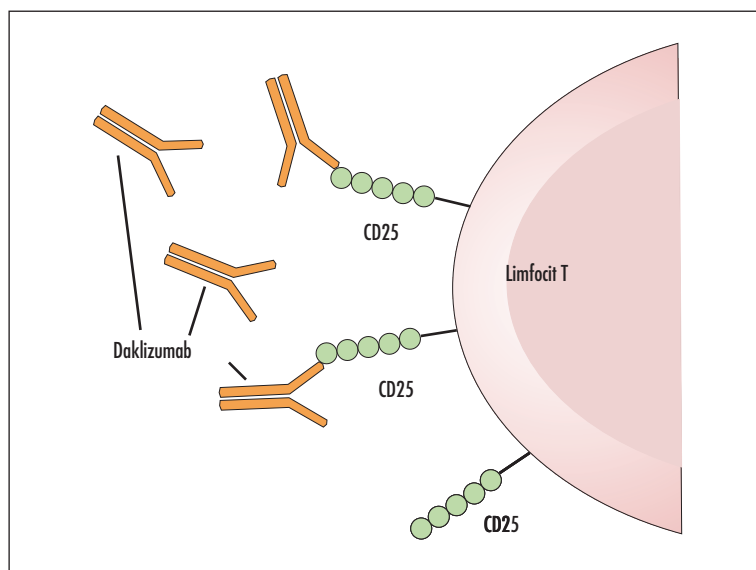
BB14 je humanizirano anti-CD4 IgG₄-monoklonsko protitelo. Veže se na celice CD4⁺ (19). Rezultat je zmanjšanje njihovega števila. Glede na klinične študije BB14 ne dosega velikih izboljšanj. Neželeni učinki so v splošnem blagi in se večinoma pojavijo med infuzijo.

DAB398IL-2

DAB398IL-2 je fuzijska beljakovina interleukina 2 in toksina difterije. Veže se na receptor, ki ima veliko afiniteto do IL-2, nato pa s toksično domeno ustavi sintezo celičnih beljakovin. Na ta način izzove celično smrt predvsem limfocitov T, ne pa tudi keratinocitov (20). V kliničnih študijah je dosegel izboljšanje klinične slike pri približno 40% bolnikov, s čimer je nedvoumno dokazano, da celice T zares sodelujejo v patogenezi luskavice. Na žalost pa so ga bolniki v kliničnih študijah slabo prenašali, saj je izzval hude neželene učinke, ki so zahtevali celo sprejem v bolnišnico. Zato so sledile še druge klinične študije z namenom, da bi natančno določili odmerni režim, toda zadovoljivih vrednosti odmerkov še niso določili.

Daklizumab

Daklizumab je humanizirano protitelo proti α -podenoti (CD25) receptorja za IL-2 (slika 7). IL-2 je pomemben za deljenje limfocitov T. Preprečitev vezave IL-2 na svoj receptor tako zavre deljenje celic T. Daklizumab so v klinični študiji dajali v infuziji najprej po 2 mg/kg kot začetni odmerek in nato 2., 4., 8. in 12. teden še po 1 mg/kg kot vzdrževalni odmerek.



Slika 7. Delovanje daklizumaba. Daklizumab je humanizirano monoklonsko protitelo, ki se veže na α -podeno receptorja za citokin IL-2 (CD25) in tako prepreči vezavo endogenemu IL-2 na svoj receptor. Posledica je zmanjšano deljenje limfocitov T.

Prve 4 tedne, ko so učinkovino dajali vsak drugi teden, jim je uspelo blokirati receptor CD25 in bolezenski znaki so se izboljševali. Po četrtem tednu, ko se je interval med odmerki povečal na 4 tedne, nasičenja niso več vzdrževali in zdravljenje se je upočasnilo, tako da po 8. tednu ni bilo zaznati nadaljnega izboljšanja. Nekoliko slabše rezultate študije lahko razložimo z dejstvom, da drugi interleukini (IL-15, IL-7) še vedno lahko spodbujajo celice T prek svojih receptorjev, čeprav je receptor za IL-2 onesposobljen. Receptor za IL-15 ima dve od treh receptorskih verig enaki tistim v receptorju za IL-2 (21). Zato ni čudno, da lahko IL-15, ki je vezan na svoj receptor, posnema veliko učinkov IL-2. Zanimiv je tudi podatek, da so v luskavičnih žariščih ugotovili povišano raven IL-15. Morda bi bilo tehtno uporabiti kot tarčo za drugo učinkovino β -verigo IL-2 receptorja, ker jo hkrati vsebujeta receptorja za IL-2 in IL-15. Smotrno bi bilo premisliti tudi o uporabi daklizumaba v kombinaciji z drugimi imunosupresivnimi učinkovinami.

Siplizumab

Siplizumab je človeško monoklonsko protiteleso proti molekuli CD2 (14). Zmanjša število tarčnih limfocitov T. Zdravljenje z njim bolniki dobro prenašajo in ne povzroča hudih neželenih učinkov. Tretjini ljudi, ki so v študiji prejeli siplizumab, so določili več kot 75 % zmanjšanja bolezenskih znakov.

Efalizumab

Efazumab je humanizirano monoklonsko protiteleso proti podenoti CD11a molekule LFA-1 (druga podenota molekule LFA-1 je CD18) (22). Učinkovina zavira aktivacijo limfocitov T in njihovo prehajanje v predel vnetja. Učinkuje z vezavo na molekulo LFA-1, s čimer jo prekrije in onemogoči povezavo s svojimi fiziološkimi ligandi. Celice T potrebujejo molekulo LFA-1 za aktivacijo. Njena druga vloga je sodelovanje pri prehajanju. Molekula LFA-1 je limfocitni β 2-integrin in prek nje se limfociti T vežejo na epitelijske oziroma endotelijske molekule ICAM-1, ICAM-2 in ICAM-3. Ta povezava jim služi za prehajanje v predel vnetja, saj se v poškodovani koži poveča izražanje ICAM-1. Efalizumab prepreči tudi to pot. Zdravilo so ovrednotili že v tretji fazi kliničnih

študij, kjer je sodelovalo več kot 1000 bolnikov. Dvanajst tednov so jih zdravili s podkožnimi odmerki. Prvi teden so začeli z 0,7 mg/kg učinkovine, nato pa nadaljevali z 1 ali 2 mg/kg efalizumaba. Klinično so se prvi učinki pokazali že po dveh tednih. Po kriterijih, kot so zmanjšanje luskavičnih žarišč, tanjšanje leh in izboljšanje kakovosti življenja, so določili celokupno učinkovitost zdravljenja. Približno tretjina sodelujočih je imela več kot 75-odstotno izboljšanje. Razveseljivi podatek je tudi, da so bolniki zdravljenje dobro prenašali. Dokazali niso nobenega povečanega tveganja za okužbe ali rakava obolenja (14), niti hepatotoksičnosti in nefrotoksičnosti. Število levkocitov se je sicer povečalo, toda po končanem zdravljenju se je vrnilo na začetno raven. Štirinajst odstotkov bolnikov z luskavico je razvilo imunski odziv na efalizumab s protitelesi, vendar je bil titer protiteles nizek in se ni povečeval med zdravljenjem.

Infliksimumab

Infliksimumab je himerno (mišje-človeško) monoklonsko IgG-protiteleso. Učinkovina nevtralizira TNF α ter sproži s komplementom povzročeno lizo tistih celic, ki TNF α izražajo na površini (23). S tem posredno zmanjša sintezo tudi drugih vnetnih citokinov, kar zameji prehajanje celic v območje vnetja ter omeji proliferacijo keratinocitov. Infliksimumab so najprej uporabljali za zdravljenje Crohnove bolezni in revmatoidnega artritisa, nato pa so se usmerili v možnosti zdravljenja luskavice, ko so njeno izboljšanje opazili pri zdravljenjih s Crohnovo boleznijo, ki so imeli tudi luskavico. Izboljšanje so lahko zaznali že dva tedna po infuziji infliksimumaba. Pozneje so naredili klinično študijo, v kateri je sodelovalo 33 bolnikov z luskavico, in dokazali učinkovitost infliksimumaba. Bolnikom so odmerjali najprej 5 ali 10 mg/kg učinkovine z 2-urno intravensko infuzijo, nato pa dajanje ponovili čez dva in šest tednov. V skupini, ki je prejela manjši odmerek, je 82 % bolnikov izkazovalo več kot 75-odstotno izboljšanje glede na površino in jakost prizadete kože. Hujših neželenih učinkov zdravljenje z infliksimumabom ni povzročalo. Najpogostejši so bili neželeni učinki povezani z infuzijo. Bolniki so doživljali vročico ali mrzlico, redkeje tudi hipotenzijo, hipertenzijo in bolečino v prsih. Pri dajanju

infliksirana se lahko razvijejo nevtralizirajoča protitelesa, ki pri naslednjem dajanju zdravila povzročijo preobčutljivostno reakcijo. Vredno je tudi opozoriti, da zmanjševanje aktivnosti TNF α poveča nevarnost razvoja okužb in limfomov.

Etanercept

Etanercept je topni receptor za TNF α . Podobno kot infliksimab se nanj veže in ga nevtralizira (24). Narejen je kot fuzijska beljakovina, sestavljena iz dveh zunajceličnih TNF-receptorских domen in konstantne (Fc) regije IgG₁. Celotna učinkovina povsem posnema človeški receptor TNF α , vendar ima do TNF α večjo afiniteto kot naravni receptorji, saj so le-ti monomerni. Trenutno je registriran za zdravljenje revmatoidnega in psoriatičnega artritisa. Učinkovitost etanercepta za zdravljenje luskavice so preverili med drugim tudi v 24-tedenski slepi klinični študiji s 112 bolniki; 57 jih je prejelo 25 mg etanercepta, 55 pa placebo. Po 12 tednih je bil delež bolnikov z več kot 75-odstotnim izboljšanjem v skupini, ki je prejela etanercept, bistveno večji (30 %) kot v kontrolni skupini (2 %) (14). Podatki nakazujejo, da etanercept do določene meje zdravi luskavico in izboljša kakovost življenja bolnikom z luskavico. Smotno bi bilo preveriti učinkovitost raznih kombinacij etanercepta z drugimi zdravili, tudi z infliksimabom, saj je pričakovan sinergistični učinek. Po drugi strani pa uporaba etanercepta zahteva previdnost. Zaviranje delovanja TNF α namreč pripelje do okrnitve imunske obrambe proti okužbam in rakavim obolenjem. To pa lahko pomeni omejitve za uporabo etanercepta. Vsekakor bodo morali nevarnost uporabe etanercepta za bolnike z luskavico še ovrednotiti na večjem številu bolnikov v daljšem obdobju.

Citokini

Citokini so pri luskavici izraženi po značilnem vzorcu. Vnetni citokini odziva Th1 se bolj izrazijo, citokini odziva Th2 pa manj ali pa ostanejo na isti ravni. Zato so poskusili ponovno vzpostaviti ravnotežje z odmerjanjem protivnetnih citokinov.

V raziskavah na živalih so ugotovili, da IL-4 zavre vnetno avtoimunsko reakcijo, povzroče no s celicami T (21). Poleg tega tudi spodbuja celice T k dodatnemu izločanju IL-4. V klinični študiji, ki je vključila 22 bolnikov z luskavico, se je izkazal kot učinkovito sredstvo z močnim zdravilnim potencialom.

IL-10 ima protivnetne lastnosti in močno zavre celično imunost. Deluje po treh poteh. Zavira izražanje antigenov na antigen predstavitevni celici, sintezo vnetnih mediatorjev (npr. TNF α) in spodbuja sintezo protivnetnih mediatorjev (21). Klinična študija je pripeljala do spoznanja, da odmerki IL-10 bolnikom z luskavico bistveno izboljšajo stanje. Histološki pregled njihove kože po zdravljenju z IL-10 je pokazal odstranitev bolezenskih sprememb, značilnih za luskavico. V koži so določili povečanje izražanja IL-8 in IL-4. Če povzamemo, so ob uporabi IL-10 pri luskavici potrdili, da zvišanje koncentracij citokinov Th2-tipa privede do terapevtskega učinka.

V zdravljenju luskavice so preizkusili še IL-11, ki je tudi protivnetni mediator. Bolniki so imeli po končanem zdravljenju 20- do 80-odstotno zmanjšanje znakov. V koži so jim določili zmanjšano izražanje genov za IFN γ , IL-8, IL-12, TNF α in IL-1 β .

ZAKLJUČEK

V sestavku smo na kratko predstavili mehanizem nastanka luskavice in možne načine njenega zdravljenja. Kljub široki paleti učinkovin še ne poznamo zdravila, ki bi jo ozdravilo. Obstoječa zdravila namreč le upočasnjujejo razvoj bolezni. V kliničnem testiranju so številne nove imunomodulatorne beljakovinske učinkovine, ki bodo zagotovo pripomogle k učinkovitejšemu lajšanju težav pri bolnikih z luskavico.

V prihodnje predvidevamo, da bodo natančni vzroki za nastanek bolezni dovolj raziskani in tako omogočili pripravo vzročnih zdravil. Že danes pa velja, da lahko z logičnimi pristopi k zdravljenju luskavice zadovoljivo nadzorujemo bolezen in v bolniku vzbudimo upanje in vero v proces zdravljenja.

LITERATURA

1. Arzenšek J. Eritematoskvamozne dermatoze. In: Kansky A. Kožne in spolne bolezni. Ljubljana: Združenje slovenskih dermatovenerologov; 2002. p. 196–203.
2. Christophers E. Psoriasis-epidemiology and clinical spectrum. *Clin Exp Dermatol* 2001; 26: 314–20.
3. Gottlieb A B. Psoriasis: Immunopathology and immunomodulation. *Dermatol Clin* 2001; 19: 649–57.
4. Kerkhof P C M. The management of psoriasis. *Neth J Med* 1998; 52: 40–5.
5. Katz H I. Topical corticosteroids. *Dermatol Clin* 1995; 13: 805–15.
6. Berth-Jones J, Hutchinson P E. Vitamin D analogues and psoriasis. *Br J Dermatol* 1992; 127: 71–8.
7. Linden K G, Weinstein G D. Psoriasis: current perspectives with an emphasis on treatment. *Am J Med* 1999; 107: 595–605.
8. Gasparro F P. The role of PUVA in the treatment of psoriasis. *Am J Clin Dermatol* 2000; 1 (6): 337–48.
9. Leibold M, Ting P T, Koo J Y. Psoriasis treatment: traditional therapy. *Ann Rheum Dis* 2005; 64 (2): 83–6.
10. Jeffes E W B III, Weinstein G D. Methotrexate and other chemotherapeutic agents used to treat psoriasis. *Dermatol Clin* 1995; 13: 875–90.
11. Roenigk H H Jr, Auerbach R, Maibach H, Weinstein G, Leibold M. Methotrexate in psoriasis: consensus conference. *J Am Acad Dermatol* 1998; 38: 478–85.
12. Faulds D, Goa K L, Benfield P. Cyclosporin. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in immunoregulatory disorders. *Drugs* 1993; 45: 953–1040.
13. Singri P, West D P, Gordon K B. Biologic therapy for psoriasis: the new therapeutic frontier. *Arch Dermatol* 2002; 138: 657–63.
14. Gottlieb A B, Bos J D. Recombinantly engineered human proteins: transforming the treatment of psoriasis. *Clin Immunol* 2002; 105: 105–16.
15. Austin L M, Ozawa M, Kikuchi T, Walters I B, Krueger J G. The majority of epidermal T cells in psoriasis vulgaris lesions can produce type 1 cytokines, interferon- γ , interleukin-2, and tumor necrosis factor- α , defining TC1 (cytotoxic T lymphocyte) and TH1 effector populations: a type 1 differentiation bias is also measured in circulating blood T cells in psoriatic patients. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 752–9.
16. Köhler G, Millstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975; 256: 495–7.
17. Chamian F, Lowes M A, Lin S L, Lee E, Kikuchi T, Gilleaudeau P, Sullivan-Whalen M, Cardinale I, Khatcherian A, Novitskaya I, Wittkowski K M, Krueger J G. Alefacept reduces infiltrating T cells, activated dendritic cells, and inflammatory genes in psoriasis vulgaris. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102 (6): 2075–80.
18. Gottlieb A B, Kang S, Linden K G, Leibold M, Menter A, Abdulghani A A, Goldfarb M, Chieffo N, Totoritis M C. Evaluation of safety and clinical activity of multiple doses of the anti-CD80 monoclonal antibody, galiximab, in patients with moderate to severe plaque psoriasis. *Clin Immunol* 2004; 111 (1): 28–37.
19. Morel P, Revillard J P, Nicolas J F, Wijdenes J, Rizova H, Thivolet J. Anti-CD4 monoclonal antibody therapy in severe psoriasis. *J Autoimmun* 1992; 5 (4): 465–77.
20. Gottlieb A B, Bacha P, Parker K et al. Use of the interleukin-2 fusion protein, DAB389IL-2, for the treatment of psoriasis. *Dermatol Ther* 1998; 5: 48–63.
21. Asadullah K, Volk H D, Sterry W. Novel immunotherapies for psoriasis. *Trends Immunol* 2002; 23: 47–53.
22. Weinberg J. An overview of infliximab, etanercept, efalizumab, and alefacept as biologic therapy for psoriasis. *Clin Ther* 2003; 25: 2487–505.
23. Gupta A K, Skinner A R. A review of the use of infliximab to manage cutaneous dermatose. *J Cutan Med Surg* 2004; 8 (2): 77–89.
24. Goffe B. Etanercept (Enbrel) – an update. *Skin Therapy Lett* 2004; 9 (10): 1–4.

Prispelo 6. 10. 2004