

# Farmakokinetika a klinické aplikace vybraných imunosupresiv II

Petra Halvová, Milan Grundmann

Ústav klinické farmakologie, FN a FZS Ostrava

Ostravská univerzita, Ostrava

Dostupná imunosupresiva jsou užívána u transplantací orgánů, u autoimunitních onemocnění, astma bronchiale, revmatoidní artritidy a v mnoha dalších indikacích. Zástupci skupiny imunosupresiv mají relativně úzké terapeutické rozmezí a významnou toxicitu závislou na podané dávce. Tento přehledový článek je věnován farmakodynamice, biotransformaci, lékovým interakcím a nežádoucím účinkům kalcineurinových inhibitorů, mTOR inhibitorů, mykofenolátu, cyklofosfamidu a metotrexátu.

**Klíčová slova:** imunosupresiva, kalcineurinové inhibitory, mTOR inhibitory, mykofenolát.

## Pharmacokinetics and clinical applications of selected immunosuppressants II

The currently available immunosuppressive agents have been used for the management of patient with a wide range of medicinal issues, such as organ transplantation, autoimmune diseases, asthma, and rheumatoid arthritis, among others. All of the agents have relatively narrow therapeutic ranges with significant dose-limiting toxicities. This review discusses pharmacodynamic properties, biotransformation, drug interactions, and side effects of calcineurin inhibitors, mTOR inhibitors, mycophenolat, cyclophosphamide, and methotrexate.

**Key words:** immunosuppressive agents, calcineurin inhibitors, mTOR inhibitors, mycophenolat.

Klin Farmakol Farm 2010; 24(1): 51–56

Imunosupresiva jsou chemicky různorodé látky, které působí v různých stupních imunitní reakce (1). V předchozím článku (1) jsme se blíže věnovali farmakokinetickým a farmakodynamickým vlastnostem kortikoidů, inhibitorů a analogů DNA bází, monoklonálních a polyklonálních protilátek. Nyní bychom rádi dokončili přehled používaných imunosupresiv se zaměřením na kalcineurinové inhibitory, mTOR inhibitory, mykofenolát, cyklofosfamid a metotrexát.

### 1. Malé molekuly

Malé molekuly imunosupresiv zahrnují kalcineurinové inhibitory (CNI) jako cyklosporin a takrolimus a antiproliferativní látky jako sirolimus a everolimus.

#### 1.1. Kalcineurinové inhibitory

Od 80tých let kalcineurinové inhibitory významně přispívají k úspěchu při orgánových transplantacích, zejména u transplantací ledvin. Kalcineurinové inhibitory mají prokazatelnou roli při prevenci akutní buněčné rejekce transplantovaných orgánů, při psoriáze a u nefrotického syndromu. Jsou také užívány u mnoha autoimunitních chorob, například cyklosporin A je používán jako lék II.–III. linie ve farmakoterapii revmatoidní artritidy, psoriatické artropatie nebo lupusové nefritidy. Zatímco jsou výhodné k udržení autoimunitních chorob v remisi, jejich vysazení vede často k relapsu (2). Při transplantaci orgánů

jsou lepší výsledky při kombinaci kalcineurinových inhibitorů s mykofenolátem a prednisonem než při použití v monoterapii. Paradoxně jsou kalcineurinové inhibitory nefrotoxické a mohou přispívat k dlouhodobému renálnímu selhávání jak u ledvin transplantovaných, tak zdravých (2). Mezi kalcineurinové inhibitory patří cyklosporin A a takrolimus. Cyklosporin A byl prvním lékem selektivně působícím na T-buňku, který oproti dříve užívanému azatioprinu nevyvolával myelosupresi. Takrolimus byl vyvinut jako terapeutická alternativa k cyklosporinu po transplantaci orgánů.

##### 1.1.1. Cyklosporin A

Cyklosporin je cyklický undekapeptid s molekulovou hmotností 1201 Da. Na rozdíl od lineárních peptidů, cyklosporin A nemá volnou karboxy ani amino skupinu, a proto se nerozpouští ve vodě, je však dobře rozpustný v tucích. Cyklosporin A je velmi stálý a jeho cyklická struktura se rozpadá až za působení silných kyselin a zvýšené teploty.

**Mechanismus účinku:** Molekulární mechanismus kterým CNI inhibují aktivaci T-buněk, je dobře znám. Vazba receptoru T-buněk s MHC (major histocompatibility complex) peptidem

dárce normálně spustí kalcium dependentní intracelulární signalizaci, která vyústí v aktivaci kalcium/kalmodulin dependentní fosfatázy kalcineurinu. To vede k defosforylaci NFAT (nuclear factor activated T-lymphocytes) umožňující translokaci do jádra, kde zvyšuje vazbu transkripčních faktorů pro geny kódující prozánětlivé cytokiny jako jsou IL-2, IL-3, IL-4, INF- $\gamma$  a TNF- $\alpha$ . Ve vztahu k revmatoidní artritidě je cyklosporin A schopen kompletně nebo částečně zablokovat tvorbu IL-15 a IL-17. Po vstupu do cytoplazmy tvoří CNI komplexy s jejich imunofiliny (2, 3). Cyklosporin A se váže na cyklofilin a takrolimus na 12 kDa FK506-vázací protein (FKBP-12 – FK binding protein-12). Komplexy CNI-cyklofilin inhibují kalcineurinovou aktivitu a tím předcházejí translokaci NFAT do jádra a transkripci genů cytokinů. Cílovým výsledkem je, že CNI blokují produkci cytokinů jako je IL-2 a inhibují aktivaci T-buněk a proliferaci (4).

**Farmakokinetika:** Cyklosporin A je vysoce lipofilní látka, díky čemuž je snadno distribuován přes membrány a do tkání. Podáván může být jak intravenózně, tak perorálně. V krvi je 58 % cyklosporinu vázáno na erytrocyty, 4 % na granulocyty, 5 % na lymfocyty a 33 % je volné

**Tabulka 1.** Farmakokinetické parametry cyklosporinu A. ( $t_{1/2}$ , poločas eliminace; Cl, clearance;  $V_d$ , distribuční objem;  $f_u$ , vazba na plazmatické proteiny; F, absolutní biologická dostupnost po perorálním podání)

	$t_{1/2}$ [hod]	Cl [ml/min/kg]	$V_d$ [l/kg]	$f_u$ [%]	F [%]
<b>cyklosporin A</b>	3–27	5–10	3,6–7,4	96–99	5–80

v plazmě. V plazmě je pak asi 98 % cyklosporinu vázáno na proteiny (85–90 % na lipoproteiny, 5–15 % na ostatní proteiny) (5). Po perorálním podání je popisována signifikantní presystémová eliminace, zejména díky biotransformaci léčiva P450 3A podrodinou. Cyklosporin A byl popsán jako středně silný inhibitor biotransformační aktivity P450 3A4. Navíc cyklosporin je substrátem a inhibitorem P-glykoproteinu. Přítomnost jiných P450 enzymů na biotransformačních procesech cyklosporinu není vyloučena, zejména díky metabolitům nalezeným v moči po perorálním podání léčiva. Ačkoli je peptidová struktura k metabolismu rezistentní, boční řetězce jsou extenzivně metabolizovány na více než 30 metabolitů nazvaných podle jednotné nomenklatury z roku 1990 zahrnující primární i sekundární metabolity cyklosporinu, které byly nalezeny v moči, žluči, krvi a stolici (6). Běžně měřitelnými metabolity v krvi jsou AM1, AM9, AM1c, AM19, AM4N, kde AM1 má nejvyšší koncentraci v porovnání s koncentracemi ostatních metabolitů. Metabolity nalezené ve žluči jsou AM19, AM1c, AM4N9, AM1A, AM1 a AM1c, kde AM1A je hlavním metabolitem nalezeným ve žluči. Vzniklé metabolity vykazují výrazně nižší imunosupresivní aktivitu a nežádoucí účinky než mateřská látka (7). Pouze 0,1 % je vylučováno močí, případně stolicí v nezměněné formě (7). Názvosloví metabolitů cyklosporinu A je velmi jednoduché, písmeno A ve zkratce značí cyklosporin A a písmeno M metabolit. Číslice označuje pořadí aminokyseliny u které došlo k hydroxylaci. Pokud došlo k N-demetylacii, přidává se ještě písmeno N, písmeno c znamená, že došlo k cyklizaci (6).

**Lékové interakce:** Vzhledem ke skutečnosti, že cyklosporin je substrátem podrodiny P450 3A, je popisováno mnoho lékových interakcí spojených s podáním cyklosporinu. Cyklosporin má poměrně úzké terapeutické rozmezí a jeho nedostatečná sérová koncentrace vede k rejekci transplantátů, naopak vysoké hladiny se projevují nefrotoxicitou, selháváním orgánů a deliriem.

Cyklosporin, jak bylo uvedeno, je substrátem a zároveň inhibitorem aktivity P-glykoproteinu. P-glykoprotein je transmembránový transportér, který přenáší mnoho endogenních substancí z cytoplazmy do extracelulárního prostoru. Ve střevě snižuje P-glykoprotein biodostupnost po orálním podání léčiv tím, že je vylučuje z enterocytů do lumen střeva. P-glykoprotein je kódován MDR-1 (multidrug resistance-1), známým také jako ABCB1 gen. Farmakogenetika tohoto transportéru může také přispívat k výrazné interindividuální

**Tabulka 2.** Interakce cyklosporinu A

Zvýšení hladin		
makrolidová ATB	klaritromycin	↑ AUC 3krát
	erythromycin	↑ AUC 5krát
	roxitromycin	↑ AUC o 37%
azolová antimykotika	itrakonazol	↑ AUC 2–3krát
	ketokonazol	↑ AUC 2krát
	vorikonazol	↑ AUC 2,5krát
H <sub>2</sub> -antihistaminika	cimetidin	↑ AUC o 32 %
antidepresiva	fluoxetin, fluvoxamin	↑ AUC 2krát
kalciové blokátory	verapamil	↑ AUC o 50–70 %
	diltiazem	↑ AUC o 30–60 %
ATB	gentamicin	↑ AUC o 5–65 %
	chloramfenikol	↑ AUC o 41 %
ostatní	glipizid	↑ AUC 2krát
	grapefruitová šťáva	↑ AUC o 72 %
Snížení hladin		
antiepileptika	fenobarbital	↓ AUC o 25 %
	karbamazepin	↓ AUC o 50 %
	fenytoin	↓ AUC o 37–47 %
ostatní	rifampicin	↓ AUC až o 70 %
	saquinavir	↓ AUC až o 90 %
	třezalka tečkovaná	↓ AUC o 30 až 65 %

variabilitě, nicméně výsledky různých studií jsou protichůdné. Je těžké odhadnout, jaký vliv bude mít současné podání cyklosporinu s inhibitory či induktory P-glykoproteinu a cytochromu P450 3A4. Biologická dostupnost může být ovlivněna i současně podanou potravou. Jídlo zvyšuje biodostupnost o 23 %, mléko o 39 % (7).

**Nežádoucí účinky:** CNI jsou spojeny s řadou lékově specifických nežádoucích účinků. Mnoho významných nežádoucích účinků je závislých na dávce a ve vztahu k místům, kde je hladina kalcineurinu nejvyšší (nejvyšší hladiny jsou popisovány v mozku a v ledvinách). Užívání cyklosporinu je spojeno s nefrotoxicitou, která je jedním z nejdůležitějších nežádoucích účinků, zvláště po transplantaci. Částečně je to díky vazokonstrikci aferentní arterioly s následnou redukcí renálního průtoku krve a míry glomerulární filtrace; tyto změny jsou projevem akutní toxicity a jsou reverzibilní při vysazení CNI. Dlouhodobě cyklosporin vyvolává chronické ireverzibilní změny, které jsou charakterizovány intersticiální fibrózou a obliterativními arteriolárními změnami díky fibróznímu ztlustění intimy. Běžným důsledkem léčby cyklosporinem je hypertenze (2). Neurotoxická CNI se může projevovat několika způsoby, a je zhoršená v přítomnosti nízké sérové hladiny hořčičku. Mohou se objevovat

bolesti hlavy a tremor, horší 1–2 hod po užití, kdy je plazmatická koncentrace léku nejvyšší. Běžná je také nespavost. Méně běžné je rozčilení, neklid, křeče, psychózy, halucinace, encefalopatie a poruchy vědomí (3). Metabolické účinky cyklosporinu pak zahrnují diabetogenní efekt, který může odrážet různou citlivost k diabetogennímu účinku kortikosteroidů. Hyperkalemie, hyperurikemie a hyperlipidemie jsou další běžné metabolické vedlejší účinky. Specifickým vedlejším účinkem cyklosporinu je hyperplazie dásní a hypertrichóza (3).

### 1.1.2. Takrolimus

Takrolimus je 23členný makrocyclický lakton o molekulové hmotnosti 804,2 Da. V léčivých přípravcích se vyskytuje ve formě monohydrátu, který má lipofilní charakter, je prakticky nerozpustný ve vodě.

**Mechanismus účinku:** Obdobný jako u cyklosporinu A, takrolimus se však váže FKBP12 (FK binding protein 12), což je enzym řadící se mezi rotamázy. Rotamázová aktivita je nezbytná pro správné strukturální skládání nově syntetizovaných bílkovin.

**Farmakokinetika:** Absorpce takrolimu je ze zažívacího traktu rychlá, ale nekompletní. Biologickou dostupnost a rychlost vstřebávání snižuje potrava, zejména je-li s vysokým obsahem tuku. Byla

vyvinuta i modifikovaná léková forma, která je podávána jednou denně. Maximální koncentrace této formy jsou dosaženy za 2–2,5 hodiny, ostatní farmakokinetické parametry jsou obdobné jako u konvenční formy při dávkování 2krát denně. Takrolimus se váže v červených krvinkách a jeho koncentrace v nich může být až 35krát vyšší než v plazmě. Poměr vazby v erytrocytech je nižší při celkových vyšších koncentracích, protože dochází k saturaci. V krevní plazmě se takrolimus váže hlavně na kyselý  $\alpha_1$ -glykoprotein a albumin, volné zůstává méně než 1 % látky. Takrolimus prochází placentární bariérou a v plazmě pupečnickové krve dosahuje asi třetinu koncentrace v krvi matky, neprochází však do mozkomíšního moku. Takrolimus podléhá rozsáhlé biotransformaci P450 3A4. Je metabolizován hydroxylací a demetylací na více než 15 metabolitů. Hlavním metabolitem je 13-demetyltakrolimus (TRL), který má stejně jako některé další metabolity určitý imunosupresivní účinek, i když menší než mateřská látka. Srovnatelný účinek s původní látkou má 31-demetylovaný metabolit. Hlavní cestou eliminace je pak vyloučení žlučí ve formě metabolitů. Méně než 1 % původní látky je vyloučeno do moči.

**Nežádoucí účinky:** Běžně udávané nežádoucí účinky zahrnují nefrotoxicitu, neurotoxicitu, průjem a zažívací obtíže, výskyt infekcí, hypertenzi a poruchy glycidového metabolismu. Ve srovnání s terapií cyklosporinem A je častěji udáván průjem, poruchy glycidového metabolismu a některé typy neurotoxického poškození, méně častá je naopak hypertenze a hypercholesterolemie. Takrolimus může působit pruritus a gingivitidu. Podávání takrolimu je často doprovázeno nízkými hladinami hořčíku (hypomagneziemií), někdy je také pozorována hyperkalemie. Ve srovnání s osobami léčenými cyklosporinem je při terapii takrolimem příznivější profil hladin lipoproteinů a nižší krevní tlak.

**Lékové interakce:** Takrolimus je silně metabolizován v játrech a střevní mukóze jaterním mikrozomálním izoenzymem CYP 450 3A4 a P-glykoproteinem, proto léčiva interagující s těmito systémy mohou mít vliv na farmakokinetické vlastnosti takrolimu.

## 1.2. mTOR inhibitory – sirolimus a everolimus

Sirolimus a everolimus patří ke skupině imunosupresivních léčiv nazývaných inhibitory mammalian target of rapamycin.

### 1.2.1. Sirolimus

Sirolimus je hydrofobní makrocyclický lakton s molekulovou hmotností 914 Da.

**Tabulka 3.** Farmakokinetické parametry takrolimu

	$t_{1/2}$ [hod]	Cl [ml/min/kg]	$V_d$ [l/kg]	$f_u$ [%]	F [%]
<b>Takrolimus</b>	4–41	0,5–1,5	0,5–1,9	99	4–93

**Tabulka 4.** Interakce takrolimu

<b>Zvýšení hladin</b>		
azolová antimykotika	ketokonazol	↑ AUC o 30–50 %
	flukonazol	↑ AUC 3krát
	vorikonazol	↑ AUC 10krát
ostatní léčiva	erytromycin	↑ AUC 3–4krát
	grapefruitová šťáva	↑ AUC 3krát
<b>Snížení hladin</b>		
ostatní léčiva	rifampicin	↓ plazmatické hladiny až 8krát
	třezalka tečkovaná	↓ AUC o 15–64 %

**Tabulka 5.** Farmakokinetické parametry sirolimu

	$t_{1/2}$ [hod]	Cl [ml/min/kg]	$V_d$ [l/kg]	$f_u$ [%]	F [%]
<b>sirolimus</b>	40–86	2–3	12	98	14–41

**Mechanismus účinku:** Sirolimus se váže na 12 kDa intracelulární imunofilin FK 506-vazající protein (FKBP12), ale na rozdíl od takrolimu neinhibuje kalcineurinovou aktivitu. Místo toho je komplex sirolimus/FKBP12 vysoce specifickým inhibitory mammalian target of rapamycin (mTOR). mTOR je serinová/treoninová kináza zapojená do signalizační dráhy fosfatidylinositol-3-kinázy (PI3K)/AKT (proteinkinázy) (3). Konečným efektem je blokáda T buněčné aktivity zábranou postupu buněčného cyklu z G1 do S fáze (4). Sirolimus účinkuje v pozdější fázi alloimunitní reakce než kalcineurinové inhibitory a blokuje až IL-2 indukovanou proliferaci (11). Navíc vedle imunosupresivního účinku mTOR inhibitory inhibují fibroblastový růstový faktor nutný pro obnovu tkání (3).

**Farmakokinetika:** Po perorálním podání je sirolimus rychle absorbován z gastrointestinálního traktu a maximální hladiny v periferní krvi dosahuje u zdravých lidí do 1 hodiny po podání a do 2 hodin u pacientů po transplantaci ledviny. V plazmě se sirolimus váže z 92 % na plazmatické bílkoviny (97 % na albumin, zbytek na  $\alpha$ -glykoproteiny a lipoproteiny). Volná frakce sirolimu v plazmě tvoří přibližně 2 %. Sirolimus je biotransformován O-demetylací a/ nebo hydroxylací CYP 450 3A na 7 hlavních metabolitů, ty jsou detekovatelné v plazmě, moči a stolici. Sirolimus je vylučován ve formě neaktivních produktů biotransformace žlučí, pouze malá část je vylučována močí. V klinických studiích byla zjištěna nižší clearance a biologický poločas eliminace u mužů, avšak tyto změny

nevyžadují úpravu dávkování. Strava s vysokým obsahem tuků prodlužuje čas k dosažení maximální plazmatické koncentrace a snižuje maximální plazmatickou koncentraci léčiva o třetinu. Proto se doporučuje podávat sirolimus pravidelně buď s jídlem nebo nalačno.

**Nežádoucí účinky:** Vedlejší účinky lze rozdělit jako metabolické, hematologické, dermatologické a účinky spojené s inhibicí růstového faktoru. Hlavními metabolickými účinky jsou nárůst sérového cholesterolu (celkového, HDL i LDL) a triglyceridů, jejichž clearance je snížena (2, 4). Ostatní účinky zahrnují snížení kyseliny močové a zvýšení ve funkčních jaterních testech. Běžná je suprese všech tří krevních elementů – leukocytů, erytrocytů a počtu destiček, s anemií, která je nepříjemná zejména v přítomnosti renálního poškození a reaguje na suplementaci erythropoetinem (2, 3). Kožní vyrážky, akné a vředy v ústech jsou běžnější u pacientů, kteří byli na mTOR inhibitory předvedeni, než u těch, kteří s nimi začínají de novo. Vředy úst se často manifestují jako herpes simplex. Inhibice růstového faktoru pak může dobře vysvětlit účinek sirolimu na kostní dřeň. Inhibice epitelálního růstového faktoru může přispívat k výskytu ulcerací úst, zatímco inhibice fibroblastového růstového faktoru odpovídá za zhoršení hojení ran (3). Vedlejším účinkem zasluhujícím zvýšenou pozornost je výskyt intersticiální pneumonie, která se zdá být závislá na dávce a mizí po vysazení sirolimu (3).

**Lékové interakce:** Sirolimus je extenzivně metabolizován systémem CYP 450 3A ve střevě

a v játrech. Sirolimus se nejčastěji kombinuje s cyklosporinem, který patří mezi substráty CYP 3A4, a tím inhibuje metabolismus sirolimu. Bylo zjištěno, že při současném podání těchto látek se zvyšuje biologická dostupnost sirolimu až o 240%. V případě, že je mezi dávkami časový odstup 4 hodiny, sníží se biologická dostupnost sirolimu na 80%. Ketokonazol zvýšil AUC 10,9krát, vorikonazol 11krát, podobný efekt byl popsán pro blokátory kalciových kanálů (verapamil zvýšil AUC 2,2krát, diltiazem zvýšil AUC o 40 až 60%). Rifampicin zvýšil clearance sirolimu 5,5krát a snížil AUC o 82%. Podobný efekt byl popsán pro fenobarbital, fenytoin a karbamazepin, inhibitory proteáz.

### 1.2.2. Everolimus

**Mechanismus účinku:** Everolimus se váže, stejně jako sirolimus, na 12 kDa intracelulární imunofilin FKBP12, ale na rozdíl od takrolimu neinhibuje kalcineurinovou aktivitu. Místo toho je komplex everolimus/FKBP12 vysoce specifickým inhibitorem mammalian target of rapamycin (mTOR). mTOR je serinová/treoninová kináza zapojená do signalizační dráhy fosfatidylinositol-3-kinázy (PI3K)/AKT (proteinkinázy) (3). Konečným efektem je blokáda T buněčné aktivity zabraňující postupu buněčného cyklu z G1 do S fáze (3, 4).

**Farmakokinetika:** Everolimus je po perorálním podání rychle absorbován, píková koncentrace je dosažena asi za 2 hod po podání. Biotransformace probíhá systémem cytochromu P450 3A4 a P-glykoproteinem. Everolimus se vylučuje zejména stolicí, méně pak močí. Bylo popsáno, že sirolimus a everolimus zvyšují nefrotoxicitu pokud jsou podávány s CNI, zvyšují absorpci CsA (3, 4).

**Nežádoucí účinky:** Mezi časté nežádoucí účinky patří leukopenie, trombocytopenie, alergické reakce a infekční komplikace, hyperlipoproteinemie, hypertenze, poškození jater a ledvin.

**Lékové interakce:** Plazmatická hladina everolimu byla zvýšena současným podáním s inhibitory aktivity P450, současné podání s ketokonazolem zvýšilo AUC 15krát, cyklosporinem o 90 až 170%, verapamilem 3,5krát. Rifampicin zvýšil clearance everolimu o 172% a snížil AUC o 65%.

## 2. Mykofenolát

Od svého uvedení do praxe mykofenolát významně nahradil při orgánových transplantacích azatioprin. Jeho výhodou oproti azathioprinu je, že může být k profylaxi dny používán alopurinol bez nutnosti redukovat dávky mykofenolátu.

**Tabulka 6.** Farmakokinetické parametry everolimu

	$t_{1/2}$ [hod]	Cl [ml/min/kg]	$V_d$ [l/kg]	$f_u$ [%]	F [%]
everolimus	20–32	8,8	1,4–1,7	74	90–100

**Tabulka 7.** Farmakokinetické parametry mykofenolátu

	$t_{1/2}$ [hod]	Cl [ml/min/kg]	$V_d$ [l/kg]	$f_u$ [%]	F [%]
mykofenolát	1,5–3	17–22	2,8	3,6	97,2–98,7

Mykofenolát je účinný, možná díky charakteru působení na B-buňky, zejména u těžkých forem systémového lupus erytematodes. (Při formě lupusu s nefropatií jsou jeho výsledky srovnatelné s cyklofosfamidem). Získal také popularitu jako steroid-šetřící látka v udržovací fázi mnoha imunitních poruch, zejména při vaskulitidě (např. ANCA – (Anti Neutrophil Cytoplasmic Antibodies) pozitivní vaskulitidě) (2).

**Mechanismus účinku:** Mykofenolát mofetil (MMF) a mykofenolát sodný (MPS) jsou v játrech rychle konvertovány na aktivní látku, kys. mykofenolovou. Cílem kys. mykofenolové je inosin monofosfát dehydrogenáza (IMPDH), limitující enzym v de novo syntéze guanosinových nukleotidů, esenciálních pro syntézu DNA. Většina typů buněk může tvořit guanosinové nukleotidy 2 cestami, cestou IMPDH a náhradní cestou. Lymfocyty neovládají tuto náhradní cestu, takže blokáda IMPDH cesty vyústí v relativně selektivní blokádu proliferace lymfocytů (4). Existují 2 enzymy IMPDH, typ I byl nalezen převážně na lymfocytech v klidovém stadiu a typ II je indukován a exprimován na aktivovaných T-lymfocytech (3). Kys. mykofenolová snižuje proliferaci T-buněk nekompetitivní inhibicí typu II izomeru IMPDH (4).

**Farmakokinetika:** MMF a MPS jsou dobře absorbovány (biodostupnost je asi 94%) a podléhají bezprostřednímu first-pass metabolismu na aktivní formu, kys. mykofenolovou. Ta má poločas 18 hod a je metabolizována játry na 7-O-glukosil (M-1) a na acylglukuronid kys. mykofenolové (M-2), který je primárně vylučován močí. M-2 je vylučován žlučí do střeva, kde vykazuje významný enterohepatální cyklus, s následným druhým píkem kys. mykofenolové v plazmě za 6–12 hod po podání. Tato enterohepatální cirkulace může přispívat ke gastrointestinální intoleranci (3). Výsledky monitorování MMF ukazují, že existuje inter- a intraindividuální variabilita (9). Tato variabilita je spojena se současným užíváním typem kalcineurinového inhibitoru. CsA vede k nižším hladinám MMF, zatímco takrolimus nebo sirolimus zvyšují hladiny MMF (10). V přítomnosti závažného renálního poškození (GFR < 25 ml/min) je AUC kys. mykofenolové zvýšena.

Je také zvyšována současnou kompeticí MPAG o renální sekreci s antivirovými látkami, jako je ganciclovir a aciclovir (3).

**Nežádoucí účinky:** Lékově specifické nežádoucí účinky jsou stejné u MMF i MPS. Nejběžnější, na dávce závislé, nežádoucí účinek je průjem, ale běžné jsou také nauzea, zvracení a bolest břicha. Také se vyskytuje útlum kostní dřeně (2). Navíc jsou zde náznaky z některých klinických pokusů o zvýšeném výskytu virových infekcí, jako je cytomegalovirus, candida a herpes simplex (3).

**Lékové interakce:** Antacida snižují AUC mykofenolátu i jeho glukuronidu o 15, resp. 34% (pravděpodobně jako důsledek chelatace). Současné podání s cholestyraminem snížilo AUC mykofenolátu o 40%. Současné podání s cyklosporinem vedlo ke snížení AUC mykofenolátu, naopak, takrolimus AUC mykofenolátu zvyšuje inhibicí UGT – UGT – po úpravě. Současné podání s rifampicinem vedlo ke zvýšení clearance, vysazení rifampicinu pak vedlo ke zvýšení AUC o 221%.

## 3. Cyklofosamid

Cyklofosamid je cytotoxický lék – bifunkční alkylační látka patřící do skupiny oxazofosforinů. Používá se zejména v hematologii u malignit (akutní lymfoblastické leukémie, lymfoproliferační onemocněních i solidních nádorů). Je to lék volby u Wegenerovy granulomatózy (obecně je lékem u tzv. ANCA – pozitivních vaskulitid) a je používán také v léčbě systémového lupus erytematodes (zejména u forem s plicním nebo renálním postižením). Měsíční intravenózní pulzy jsou stejně účinné u systémového lupus erytematodes jako denní orální užívání, ale umožňují snížení celkové dávky, což platí také u vaskulitid, kde je však zřejmě více relapsů. Cyklofosamid je také užíván k navození trvalé remise u relapsujícího nefrotického syndromu. Po šesti týdnech léčby je běžný útlum kostní dřeně s neutropenií a následujících více než 6 měsíců pokračuje riziko útlumu pohlavních orgánů a neplodnosti u obou pohlaví (2).

## 4. Metotrexát

MTX je antagonist kyseliny listové. Farmakologické mechanismy účinku zahrnují

inhibici syntézy purinů, podporu uvolňování adenosinu, inhibici produkce prozánětlivých cytokinů, supresi proliferace T-lymfocytů, chemotaxe neutrofilů a snížení sérového imunoglobulinu (12).

Metotrexát indukují *in vitro* apoptózu periferních lymfocytů aktivovaných mitogenem nebo superantigenem a může indukovat klonální delecii aloreaktivních T-lymfocytů (13). Klonální delecce pak vede k apoptické smrti autoreaktivních klonů. Tento antimetabolit je používán u některých autoimunitních onemocnění jako je lupénka, psoriatická artritida, revmatoidní artritida a Crohnova choroba. Bylo prokázáno, že jeho použití jako antirevmatického léku modifikujícího chorobu (anchor drug) v kombinaci s biologickou léčbou – např. inhibitory TNF (jako je infliximab nebo etanercept) a s ostatními antirevmatiky zlepšuje symptomy revmatoidní artritidy (2). Další indikací pak jsou maligní onemocnění, např. akutní lymfatická leukémie, ne Hodgkinův lymfom, karcinom prsu a choriokarcinom.

Metotrexát je možno podávat perorálně nebo parenterálně (jako subkutánní nebo intramuskulární injekci). Obvyklá dávka při užívání v revmatologii je 7,5–15 mg jednou týdně, tato dávka však může být užívána rozděleně ve 3 dávkách co 36 hod. V případě malignit se dávkovací schéma liší v závislosti na indikaci.

V průběhu užívání metotrexátu jsou pak pacienti suplementováni kyselinou listovou nebo kalcium-folinátem (obvykle při použití v onkologii) k záchraně normálních buněk před toxickými účinky a snížení některých nežádoucích účinků (gastrointestinální nesnášenlivost, stomatitida, hepatotoxicita, hyperhomocysteinemie, alopecie) (15).

**Lékové interakce:** Hladiny metotrexátu snižují neomycin, nystatin, vankomycin (snížení absorpce o 30–50%), kortikosteroidy (zpomalují absorpci nebo zvyšují metabolismus) a cholestyramin (zvýšení eliminace). Hladiny metotrexátu zvyšují kanamycin (nárůst gastrointestinální absorpce), salicyláty (snížení eliminace močí), nesteroidní antiflogistika (snížení glomerulární filtrace, sekundárně vedou nesteroidní antiflogistika k indukované renální kapilární konstrikci), probenecid (inhibice renální tubulární sekrece a biliární exkrece), aminoglykosidy, amfotericin B a cyklosporin A (snížení eliminace), cefalosporin (inhibice renální sekrece), hydroxychlorochin (snížení clearance nebo snížení aktivní tubulární reabsorpce). Trimetoprim-sulfametoxazol inhibují stejný enzym jako metotrexát, což může vést k závažné supresi kostní dřeně a pancytopenii a zároveň snižují clearance metotrexátu díky inhibici tubulární sekrece.

**Tabulka 8.** Farmakokinetické parametry cyklofosfamidu

	$t_{1/2}$ [hod]	Cl [ml/min/kg]	$V_d$ [l/kg]	$f_u$ [%]	F [%]
<b>cyklofosfamid</b>	4–7,5	1,1	0,62	14	60–90
<b>4-hydroxyfosfamid</b>	8–9	0,8		60	

**Tabulka 9.** Farmakokinetické parametry metotrexátu

	$t_{1/2}$ [hod]	Cl [ml/min/kg]	$V_d$ [l/kg]	$f_u$ [%]	F [%]
<b>metotrexát</b>	α-fáze = 0,75 β-fáze = 2 γ-fáze = 5–10	1,5–2,1	0,4–0,8	50	25–95

Metotrexát naopak může snížit clearance teofylinu a tím zvýšit jeho hladiny.

### Závěr

Pro klinické využití při orgánových transplantacích bylo vyvinuto množství imunopresivních látek. Jak se postupně objevují nové látky, je ujasňováno jejich postavení ve farmakoterapii a současné imunopresivní protokoly jsou velmi účinné v prevenci ztráty štěpu v důsledku akutní rejekce. Problémem může být přehnaná imunoprese pacienta vedoucí k výskytu infekcí a případných malignit. Díky velkému počtu možných kombinací dostupných látek se imunopresivní protokoly mezi jednotlivými transplantacími centry mohou výrazně lišit. Při současném trendu vytvoření individuální terapie pro potřeby jednotlivých pacientů stoupá význam farmakogenetiky a terapeutického monitorování umožňující právě individualizaci terapie. Prioritou je najít takové imunopresivní schéma, které minimalizuje výskyt nežádoucích účinků, zejména kardiovaskulárních a renálních. Hlavním problémem po transplantacích orgánů je ztráta štěpu z důvodu chronické rejekce. Ačkoli vypadají některé látky slibně (např. mTOR inhibitory), případné výhody nebo nevýhody jejich dlouhodobého užívání se ukáží až časem. Dlouhodobým cílem v transplantologii zůstává vyvinutí takové strategie, která by navodila specifickou imunologickou toleranci ke štěpu tak, aby nebyla nutná žádná nebo jen minimální imunopresivní léčba.

*Tato práce je podporována grantem IGA 1A/8655-5.*

### Literatura

1. Maršálková P, Grundmann M. Farmakokinetika a kinické aplikace vybraných imunopresiv. *Klin Farmakol Farm* 2009; 23(3): 138–141.
2. Trevillian P. The CARL guidelines. Calcineurin inhibitors in renal transplantation: therapeutic drug monitoring. *Nephrology (Carlton)* 2007; 12(Suppl 1): S57–65.
3. Taylor AL, Watson CJ, Bradley JA. Immunosuppressive agents in solid organ transplantation: Mechanisms of action and therapeutic efficacy. *Crit Rev Oncol Hematol* 2005; 56(1): 23–46.

4. Masri MA. The mosaic of immunosuppressive drugs. *Mol Immunol* 2003; 39(17–18): 1073–1077.
5. Dirks NL, Huth B, Yates CR, Meibohm B. Pharmacokinetics of immunosuppressants: a perspective on ethnic differences. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2004; 42(12): 701–718.
6. Kahan BD, Shaw LM, Holt D, Grevel J, Johnston A. Consensus document: Hawk's Cay meeting on therapeutic drug monitoring of cyclosporine. *Clin Chem* 1990; 36(8 Pt 1): 1510–1516.
7. Elbarbry FA, Marfleet T, Shoker AS. Drug-drug interactions with immunosuppressive agents: review of the *in vitro* functional assays and role of cytochrome P450 enzymes. *Transplantation* 2008; 85(9): 1222–1229.
8. Keogh A, Day R, Critchley L, Duggin G, Baron D. The effect of food and cholestyramine on the absorption of cyclosporine in cardiac transplant recipients. *Transplant Proc* 1988; 20(1): 27–30.
9. Yatscoff RW, Aspeslet LJ. The monitoring of immunosuppressive drugs: a pharmacodynamic approach. *Ther Drug Monit* 1998; 20(5): 459–463.
10. Shaw LM, Figurski M, Milone MC, Trofe J, Bloom RD. Therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2(5): 1062–1072.
11. Terada N, Lucas JJ, Szepesi A, Franklin RA, Domenico J, Gelfand EW. Rapamycin blocks cell cycle progression of activated T cells prior to events characteristic of the middle to late G1 phase of the cycle. *J Cell Physiol* 1993; 154(1): 7–15.
12. Genestier L, Paillet R, Fournel S, Ferraro C, Miossec P, Revillard JP. Immunosuppressive properties of methotrexate: apoptosis and clonal deletion of activated peripheral T cells. *J Clin Invest* 1998; 102(2): 322–328.
13. Swierkot J, Szechinski J. Methotrexate in rheumatoid arthritis. *Pharmacol Rep* 2006; 58(4): 473–492.
14. Harný J, Grundmann M. Léčba ALL u dětí s vysokodávkovaným metotrexátem. *Čs. pediatrie* 1994; 3: 172–175.
15. Harný J, Grundmann M, Brosmanová H, Blažek B, Šterba J. High-dose methotrexate for the treatment of acute lymphoblastic leukemia in children (a pharmacokinetic study). *Drug Resistance in Leukemia and Lymphoma II*, Harwood A cad. Publishers 1997; 183–188.

### Mgr. Petra Halvová

Ústav klinické farmakologie FN Ostrava  
17. listopadu 1 790,  
708 52 Ostrava-Poruba  
petra.marsalkova@fnspo.cz