

## ***Ze současné medicíny***

# **Současnost a budoucnost biologické léčby revmatoidní artritidy**

PETR NĚMEC

### **Úvod**

Revmatologie je klinickým lékařským oborem, který se zabývá diagnostikou, léčbou, prevencí, posuzováním a studiem akutních a chronických, zánětlivých i nezánnětlivých onemocnění pojivových tkání. Cílovou tkání jsou pro revmatická onemocnění předně pojivové struktury kloubů a svalů končetin a páteře, ale i další orgány a orgánové systémy. Často tedy hovoříme o systémových revmatických chorobách. Počátky československé revmatologie jako medicínského oboru lze datovat do první třetiny 20. století. Zájem o choroby pohybového aparátu vzešel z internistické školy kolem prof. Josefa Thomayera (1853-1927), který byl přednostou II. interní kliniky Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze. Tomuto oboru se věnoval zejména jeho žák prof. Josef Pelnář (1872-1964). Zájem prof. Pelnáře o tento obou vyústil mimo jiné v založení Československé ligy proti revmatismu v roce 1927, jejíž se stal předsedou. Důležitým mezníkem oboru se stalo založení Výzkumného ústavu chorob revmatických v Praze pod vedením prof. Františka Lenocha (1898-1970) a v Piešťanech pod vedením prof. Štefana Sitaje (1911-1990) v roce 1952.

Revmatická onemocnění, zejména chronické formy, postihují až 15 % populace. Akutní formou některého revmatického onemocnění je postižen v průběhu života prakticky každý. Není proto překvapivé, že tato onemocnění jsou druhou nejčastější příčinou invalidity a velmi častou příčinou pracovní neschopnosti. I proto představují výraznou medicínskou a ekonomickou zátěž pro společnost. Revmatická onemocnění vedou ke zhoršení funkčních schopností nemocných, jsou nejčastější příčinou chronické bolesti a značně zhoršují kvalitu života. Demografický vývoj navíc vede k tomu, že některých revmatických chorob dramaticky přibývá (např. osteoartrózy a osteoporózy).

Revmatologie prodělala dramatický vývoj v posledních 20 letech, zejména díky zavedení nových metodik, zvláště molekulární biologie, genetického inženýrství, genomiky nebo zobrazovacích metod. Pochopení etiopatogeneze některých autoimunitních onemocnění a procesů destrukce kloubní chrupavky pak přineslo v devadesátých letech minulého století zavedení zcela nové generace léků, které značně zlepšily podmínky pro potlačení patologického zánětlivého procesu vedoucího k destrukci kloubů. Objevení těchto tzv. biolo-

gických léků znamenalo přímo revoluční zlom v terapii některých revmatických onemocnění. Terapie se tak přesouvá od léčby symptomatické, paliativní k více kauzální a k léčbě tzv. choroby či strukturu modifikující.

### Revmatoidní artritida

Revmatoidní artritida (RA) je chronické zánětlivé onemocnění, které vede k destruktivnímu poškození kloubů, ireverzibilním deformitám a funkčnímu omezení. Méně časté jsou systémové projevy choroby. RA je řazena k tzv. difúzním chorobám pojivových tkání a postihuje přibližně 1 % populace. RA je rovněž zatížena dalšími chorobami, zejména zvýšeným rizikem kardiovaskulárních onemocnění. Pokud pacienti nejsou včas a dostatečně léčeni, snižuje se výrazně kvalita jejich života a zkracuje se průměrná doba přežití. RA je považována za komplexní onemocnění charakterizované abnormalitami imunitního systému a účastí faktorů genetických i faktorů zevního prostředí. S bližším poznáním patogeneze tohoto onemocnění dochází v posledních letech k významné změně ve strategii léčby.

Výstelková tkáň kloubního pouzdra je v průběhu RA prostoupena řadou buněk, aktivovanými buňkami imunitního systému, které sem přestupují z cévního řečiště, a rovněž aktivovanými rezidentními buňkami. Předpokládá se, že tzv. „artritogenní“ peptidy, spouštějící chronický zánětlivý proces, jsou předkládány T-lymfocytům buňkami prezentujícími antigen (APC). T-lymfocyty rozpoznávají antigen v komplexu s molekulou hlavního lidského histokompatibilního komplexu (HLA) II. třídy na povrchu APC. K tomu, aby byly T-lymfocyty plně aktivovány, je třeba interakce mezi kostimulačními molekulami označovanými CD80/CD86 na APC a CD28 na T-lymfocytech. Tento signál může být blokován molekulou cytotoxické T-lymfocyte antigen 4 (CTLA4), která má větší afinitu ke kostimulačním molekulám CD80/CD86. Revmatická synoviální tkáň je infiltrována aktivovanými T-lymfocyty, převážně CD4+ pomocnými (Th) lymfocyty. Vlivem některých cytokinů dochází k polarizaci T buněk ve prospěch Th1-lymfocytů a Th17-lymfocytů. Současně dochází k poklesu Th2 a regulačních lymfocytů Tregs CD4+ CD25+. Tím se vysvětluje nedostatečná inhibice prozánětlivé aktivity ostatních T buněk v revmatické synoviální tkáni. Vedle T-lymfocytů jsou v patologické kloubní výstelce aktivovány makrofágy, B-lymfocyty, dendritické buňky, dále synoviální fibroblasty, chondrocyty a osteoklasty. Aktivované makrofágy produkují prozánětlivé cytokiny interleukin-1 (IL-1), IL-6 a tumor nekrotizující faktor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ). Vlivem ligandu pro receptor aktivující transkripční faktor NF- $\kappa$ B (RANKL) se mohou diferencovat v osteoklasty, které se podílejí na vzniku kostních erozí. Aktivované B-lymfocyty produkují autoprotilátky (např. revmatoidní faktory nebo protilátky proti citrulinovaným peptidům). Ty mohou tvořit imunitní komplexy a vést tak k aktivaci zánětlivých buněk a tvorbě prozánětlivých cytokinů. Aktivovány jsou rovněž synoviální fibroblasty. Výsledkem je zbytnění a hyperplazie synoviální (výstelkové) membrány. V intersticiu synoviální tkáň jsou aktivovány endotelové buňky a dochází k neoangiogenezi a tvorbě

lymfoidních folikulů. Vzniká tak agresivní synoviální tkáň, tzv. panus, který infiltruje kloubní struktury a navozuje jejich postupnou destrukci.

Jak již bylo zmíněno v úvodu, rozšiřující se úroveň poznání etiopatogeneze RA přinesla na konci devadesátých let minulého století zavedení zcela nové generace tzv. biologických léků, umožňující cílený zásah do patogeneze choroby a tím účinnější potlačení chronického destruktivního zánětu. Biologická léčba představuje významný milník v terapii RA refrakterní ke standardní léčbě syntetickými léky modifikujícími chorobu (DMARD). Jedná se o vysoce účinnou terapii, která snižuje klinickou aktivitu onemocnění a u významného procenta pacientů navozuje remisi onemocnění, zpomaluje progresi strukturálních změn kloubů a zlepšuje kvalitu života. Splňuje tak současně požadavky na moderní, účinnou a bezpečnou léčbu RA, tak jak jsou definovány revmatologickými odbornými společnostmi u nás i v zahraničí.

### **Perspektivní biologické léky**

V současné době je v České republice registrováno šest biologických léků. Jedná se o tři látky neutralizující TNF $\alpha$ , protilátku proti receptoru pro IL-6, lék navozující úbytek B-lymfocytů a látku inhibující aktivaci T-lymfocytů. Biologická léčba však může být provázena některými nežádoucími projevy (např. infekce, tumory, kardiální insuficience, demyelinizační onemocnění, hepatopatie), někteří pacienti nemusí odpovídat na léčbu dostatečně nebo mohou klinickou odpověď v průběhu léčby ztratit. Navíc u některých nemocných dochází po přerušení léčby k opětovnému vzplanutí nemoci. Proto je snahou farmaceutických firem modifikovat stávající léky nebo vyvíjet nové biologické preparáty a léčebné strategie ve snaze zlevnit technologii výroby a zlepšit klinickou účinnost a bezpečnost léčby. Biologické léky lze jednoduše rozdělit na monoklonální protilátky (mAb) a malé molekuly.

## **1. Monoklonální protilátky proti cytokinům a jejich receptorům**

V revmatologii se v posledních letech stále více začala prosazovat terapie pomocí mAb. Zpočátku se jednalo o chimerické mAb, kde konstantní částí lehkého a těžkého řetězce jsou lidské a variabilní oblasti odpovědné za vazbu na cílovou molekulu jsou myši. Snižování imunogenicity přinesly pokroky v technologii výroby a vznikly mAb humanizované a nakonec i plně humánní. První generace mAb byly zaměřeny proti solubilním (na buněčnou membránu nevázaným) faktorům (cytokinům a receptorům), další proti molekulám na povrchu buněk. Mechanismus jejich působení tedy představuje neutralizaci cílového cytokinu nebo jeho receptoru, blokádu kostimulačních molekul a navození buněčné smrti nebo zastavení buněčného dělení.

### Inhibitory TNF $\alpha$

První inhibitory TNF $\alpha$  byly pro léčbu RA registrovány v USA v roce 1999 a o rok později v Evropě. V současné době jsou dostupné tři preparáty: Chimerická (myši/lidská) mAb **infiximab**, plně humánní mAb **adalimumab** a solubilní receptor pro TNF $\alpha$  **etanercept**. TNF $\alpha$  inhibitory v kombinaci se standardním DMARD metotrexátem významně snižují aktivitu onemocnění, zabraňují strukturální progresi a zlepšují kvalitu života jedinců s RA. Na druhé straně se jedná o léčbu finančně nákladnou, přičemž stále většina pacientů nedosahuje klinického zklidnění onemocnění. Proto je snahou modifikovat současně používané TNF $\alpha$  inhibitory za účelem jejich zefektivnění a zjednodušení výroby. V registračním řízení je **golimumab**, plně humánní mAb. Dalším inhibitorem TNF $\alpha$  je humanizovaná mAb **certolizumab pegol**. Jedná se o fragment mAb anti-TNF $\alpha$ , který je navázaný na polyethylenglykol. Vazba na nosič významně prodlužuje biologický poločas a zlepšuje biologickou dostupnost mAb.

### Inhibitory dalších cytokinů

Další z možností terapie je inhibice interleukinu-1 (IL-1). **Anakinra**, rekombinantní antagonist receptoru pro IL-1 (IL-1Ra), vykazuje slabší léčebný efekt než inhibice TNF $\alpha$  a je registrována v USA a v Evropě, ale v České republice není v současné době k dispozici. Nedávno byla vyvinuta humanizovaná mAb proti samotnému IL-1 **canakinumab**.

Velmi perspektivní preparát pro léčbu RA představuje humanizovaná mAb proti receptoru pro IL-6 **tocilizumab**. IL-6 je cytokin, který je schopen aktivovat řadu imunitních a rezidentních buněk synoviální tkáně a představuje zároveň důležitý faktor podporující tvorbu působků akutní fáze v játrech.

Ve fázi klinického zkoušení jsou rovněž inhibitory dalších cytokinů, jakými jsou IL-15 (humanizovaná mAb proti IL-15 (**HuMaxIL-15**)), IL-17 (mAb anti-IL-17 (**AIN457**)), IL-23 (mAb proti podjednotce p40 cytokinů IL-12 a IL-23 (**ustekinumab**)).

Pozornost odborníků se obrací i k některým členům superrodiny TNF, zejména k lymfotoxinu- $\alpha$ , molekulám B-lymphocyte stimulator (BLyS) a proliferation-inducing ligand (APRIL). Aktivované buňky myeloidního původu a synoviální fibroblasty tvoří faktory BLyS a APRIL podporující maturaci, proliferaci a oddalující apoptózu B-lymfocytů. Atacicept představuje rekombinantní fúzní protein receptoru pro BLyS a APRIL. Výsledky I. fáze klinického zkoušení ukazují dobrý laboratorní efekt na humorální systém s poklesem periferních B-lymfocytů a hladiny autoprotilátek.

### Inhibitory resorpce kostní hmoty (osteoklastogeneze)

V poslední době je velký zájem o ovlivnění molekul regulujících osteoklastogenezi. Zkoušena je například protilátka proti faktoru stimulujícímu kolonie monocytů (M-CSF). Předpokladem je fakt, že blokování účinku M-CSF může snižovat diferenciaci osteoklastů a tím pootažmo destrukci kloubu. V sou-

časné době probíhá klinické zkoušení plně humánní mAb proti receptoru pro faktor stimulující granulocytární a monocytové kolonie (GM-CSF) (**CAM-3001**). Dalším zkoušeným lékem je **denosumab**, mAb proti RANKL. Jeho podání vedlo k významnému zpomalení rentgenové progresu u pacientů s aktivní RA. Léčba byla dobře tolerována, nicméně nebyl pozorován větší efekt na aktivitu nemoci.

### Inhibitory chemokinů

Chemokiny jsou malé molekuly zvýšené přítomné v RA synoviální tkáni, které jsou odpovědné za migraci bílých krvinek do míst zánětu. Na experimentální úrovni vedlo blokování několika specifických chemokinů nebo jejich receptorů (např. CCL-2/monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), CXCR3, CCR6) ke snížení klinické aktivity artritidy.

### Inhibitory angiogeneze

V časně fázi RA se uplatňuje novotvorba cév, která umožňuje chemotaktickou migraci zánětlivých buněk do synoviální tkáně. Na tomto procesu se podílí řada chemokinů a prozánětlivých cytokinů, z nichž asi nejdůležitější je vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF). **Bevacizumab**, mAb proti VEGF, našla již své uplatnění v terapii několika maligních onemocnění. V preklinické fázi bylo nedávno prokázáno profylaktické působení mAb proti VEGF  $\beta$  u myšího modelu artritidy.

### Ovlivnění apoptózy – programované buněčné smrti

Revmatická synoviální tkáň je infiltrována rovněž synoviálními fibroblasty. Tyto buňky jsou aktivovány a mají narušený mechanismus apoptózy. Současná biologická terapie je zaměřena proti makrofágům, T-lymfocytům a B-lymfocytům a aktivované výstelkové buňky kloubního pouzdra tak mohou této léčbě unikat. Lze tedy předpokládat, že aktivované synovialocyty mohou být v některých případech důvodem nedostatečné účinnosti současné léčby. Jednou z možností jak tyto buňky ovlivnit, je navození jejich apoptózy, která může být teoreticky indukována aktivací tzv. receptorů smrti (např. FAS, TRAIL-R a TNF-R) nebo ovlivněním apoptotických molekul. V nedávné době byla vyvinuta první mAb anti-FAS IgM (**ARG098**). Lék se podává v jednorázové nitrokloubní injekci do aktivního kolenního kloubu. Předběžné výsledky studie poukazují na snížení aktivity synovity kolenního kloubu prokazované ultrasonograficky a pomocí magnetické rezonance.

### Inhibitory T-lymfocytů

CD4+ T-lymfocyty tvoří většinu buněk lymfocytárního infiltrátu revmatické synoviální tkáně a jsou považovány za klíčové buňky regulující mnoho mechanismů patogeneze RA. Klinické studie zaměřené na totální nebo parciální depleci T-lymfocytů nebyly dosud příliš úspěšné (např. **alemtuzumab** (anti-CD52), **keliximab**, **clenoliximab** (anti-CD4)). Firma Genetech vyvinula ne-

dávno humanizovanou mAb anti-CD4 (**MTRX1011A**), která blokuje aktivaci T efektorových buněk, přičemž ale nepostihuje T regulační buňky.

Výrazně úspěšnější je preparát snižující aktivaci a proliferaci T-lymfocytů pomocí ovlivnění jejich kostimulace. Jedná se o **abatacept**, fúzní protein obsahující extracelulární doménu humánního CTLA-4. Po vazbě CTLA4-Ig na molekuly CD80/86 je blokována přirozená cesta kostimulace T buňky a nedojde tak k její aktivaci. Abatacept je určen k léčbě pacientů s RA, u kterých selhala terapie alespoň jedním TNF $\alpha$  inhibitorem. V kombinaci s metotrexátem významně zpomaluje rentgenovou progresi onemocnění. Léčba tímto preparátem zatím nebyla provázena výskytem závažných infekcí ani vyšším počtem malignit.

### **Inhibitory B-lymfocytů**

**Rituximab** je chimerická mAb proti antigenu CD20, který je přítomen na zralých B-lymfocytech a pre-B-lymfocytech. Již delší dobu je používán pro léčbu pacientů s CD20+ non-Hodgkinským lymfomem. B-lymfocyty mohou kromě tvorby protilátek a cytokinů fungovat jako APC, proto se předpokládá, že mají důležitý význam v patogenezi RA. Od roku 2007 je rituximab schválen pro léčbu RA refrakterní alespoň k jednomu TNF $\alpha$  inhibitoru. Rituximab je klinicky účinný a vede ke zpomalení rentgenové progresie. Efekt léčby je pozorován především u pacientů s pozitivními revmatoidními faktory nebo protilátkami proti citrulinovaným peptidům.

Pokroky v technologii výroby vedly k vývoji humanizovaných a plně humánních protilátek. **Ocrelizumab** je humanizovaná mAb a **ofatumumab** je humánní mAb proti CD20. Zkoušena je i humánní mAb anti-CD19 (**MDX-1342**) u pacientů s aktivní RA. Nově byl vyvinut jednořetězcový protilátkový polypeptid označovaný jako SMIP (small modular immunopharmaceutical), který váže a specificky blokuje CD20 molekulu (**TRU-015**). Předpokládá se, že tyto menší molekuly budou mít lepší tkáňovou penetraci, vyšší účinnost a lepší bezpečnostní profil.

## **2. Malé molekuly**

Současná biologická léčba je aplikována podkožně a nitrožilně, je spojována se zvýšeným rizikem některých nežádoucích projevů a je finančně velmi nákladná. To vede ke snaze získat preparáty v orálně dostupné formě, které by měly být levnější, alespoň stejně nebo více účinné jako současná biologická léčba a měly by mít nižší riziko vedlejších nežádoucích projevů. Budoucnost léčby RA je tak v posledních několika letech spatřována v tzv. malých molekulách. Více než polovina nových protizánětlivých preparátů ve stadiu preklinických a klinických studií představuje právě malé molekuly.

Zájem výzkumných týmů se obrací na některé signální transdukční dráhy, respektive na malé molekuly bílkovin, které uvnitř buňky zprostředkovávají složitý přenos signálu. Po vazbě extracelulárního faktoru (např. cytokinu nebo

patogenu) na buněčný receptor jsou aktivovány cytoplazmatické enzymy tzv. kinázy, které následně ovlivňují transkripční faktory a ty po vazbě na DNA regulují projev cílových genů. Klinicky jsou s různým úspěchem zkoušeny perorální léky, které zasahují do regulace těchto složitých signálních drah.

Jednou z důležitých molekul signální transdukce je mitogenem aktivovaná proteinkináza (MAP) p38. Tento enzym se podílí na regulaci syntézy klíčových prozánětlivých cytokinů (např. IL-1, TNF $\alpha$ ) a uplatňuje se i v prozánětlivé odpovědi na tyto cytokiny. Jsou vyvíjeny inhibitory MAP-kinázy p38, ovlivňující převážně její  $\alpha$  podjednotku, které v klinických studiích zatím nedosahují očekávané účinnosti. Vysvětlením může být nemožnost použít vyšší dávkování s ohledem na gastrointestinální, kardiovaskulární nebo neurologické nežádoucí projevy.

Tyrosinové Janus kinázy (JAK) mohou být aktivovány působením interferonu- $\gamma$  a některých cytokinů a mají významné postavení v patogenezi RA. Byl vyvinut inhibitor JAK3 (**CP-690,550**), který má za sebou již II. fázi klinického zkoušení u pacientů se střední až vysokou aktivitou RA s velmi povzbuzivými výsledky.

Velmi dobrou účinnost prokázal inhibitor Syk (Spleen tyrosine kinase) kinázy (**Fostamatinib disodium**). Syk kináza představuje nadřazenou signální dráhu ostatním MAP-kinázám a její aktivace hraje klíčovou roli při TNF indukované expresi prozánětlivých cytokinů a proteolytických enzymů synoviálními fibroblasty.

MEK-1/2 kináza má důležité uplatnění při růstu nádorových buněk. Spolu s kinázou ERK představuje důležitý intracelulární enzym regulující tvorbu matrixových metaloproteináz (MMP) a prozánětlivých cytokinů. Klinicky zkoušen je inhibitor MEK-1/2 kinázy (**ARRY-162**).

**Imatinib mesylát** představuje duální inhibitor tyrosin kinázy c-Kit asociované s receptorem pro platelet-derived growth factor (PDGF) a c-Abl asociované se signální dráhou transformující growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ). Tento lék je již používán při terapii chronické myeloidní leukémie. V současné době probíhá II. fáze klinického zkoušení účinnosti a bezpečnosti u pacientů s RA.

Transkripční faktory hrají velmi důležitou úlohu v průběhu regulace funkce imunitních buněk. Kontrolují expresi mnoha cytokinů, prozánětlivých mediátorů nebo mediátorů regulujících apoptózu buněk synoviální membrány. Nejvíce dokladů o uplatnění v patogenezi RA mají transkripční faktory nuclear factor  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B), nuclear factor for activation of T-cells (NFAT) a activator protein-1 (AP-1). AP-1 ovlivňuje expresi prozánětlivých cytokinů, MMPs a reguluje aktivitu kostních buněk. Zkoušen je inhibitor cFos/AP-1 (**T-5224**). Aktivaci NF- $\kappa$ B zprostředkovává jemu nadřazená kináza I $\kappa$  (IKK). Ta je tvořena dvěma katalytickými jednotkami a třetí jednotkou regulační zvanou NF- $\kappa$ B essential modulator (NEMO). Nedávno byl zkonstruován permeabilní peptid, který dobře proniká buněčnou membránou, blokuje regulační aktivitu NEMO a tím aktivaci NF- $\kappa$ B.

Je nutno podotknout, že intracelulární signální dráhy a transkripční faktory mají vícečetnou úlohu v mnoha biologických funkcích, proto může být jejich inhibice provázána řadou nežádoucích projevů. Je proto třeba provést další klinické studie na větších souborech pacientů, zhodnotit závažnost nežádoucích projevů, porovnat účinnost inhibitorů MAP-kináz proti biologické terapii a případnou účinnost a bezpečnost kombinace této léčby s biologickou terapií.

## Závěr

V posledním desetiletí došlo k dramatickému pokroku v léčbě RA. Biologická léčba se stala neodmyslitelně významným přínosem imunoterapie RA u pacientů nereagujících na standardní antirevmatickou léčbu. Významně se mění i strategie léčby RA. Klade se důraz na její včasné zahájení, využívá se možnost titrace dávky nebiologických antirevmatik (metotrexát), zintenzivňuje se monitorace efektu léčby, využívá se kombinace DMARD včetně kombinací s biologickými léky, klade se důraz na navození remise onemocnění, zastavení strukturální progresy, zabránění vzniku invalidity a zlepšení kvality života pacientů s RA. Dosud ale žádná biologická terapie nedokáže navodit kompletní remisi u většiny pacientů. S rostoucí mírou poznání imunopatogeneze RA se objevují nové molekuly schopné cíleného zásahu do chronického zánětlivého procesu RA. Cílená léčba RA se tak rozšiřuje o nové mAb proti TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6, blokátory B-lymfocytů a T-lymfocytů nebo modulátory apoptózy synoviálních fibroblastů. Intenzivně jsou zkoumány tzv. malé molekuly, převážně inhibitory MAP-kináz a transkripčních faktorů, zprostředkávající nitrobuněčný přenos signálu. Moderní technologie výroby pomáhá vylepšit vlastnosti již zavedených biologických léků a měla by umožnit vývoj levnějších molekul. Budoucnost léčby RA se může odvíjet i od nových vědeckých poznatků genového inženýrství.

*Literatura u autora*

*e-mail: petr.nemec@fnusa.cz*



Jochen Gerz,  
Volání až do ochraptění,  
1972