**Имуномодулаторни лекови**

Имуност се дефинише као отпорност организма на болест. Имунски систем чине ткива и ћелије имунског система. Централни лимфни органи су костна срж и тимус у којима сазревају ћелије имунског система док су периферни лимфни органи лимфне жлезде, слезина, лимфно ткиво коже и слузокожа. У одбрани организма посредују ране реакције неспецифичне (урођене, природне, нативне) имуности и одговори специфичне (стечене, адаптивне) имуности, који се јављају касније, али обезбеђују специфичнију и ефикаснију одбрану организма. Основне карактеристике неспецифичне имуности су способност тренутног одговора на присуство патогена, без образовања дуготрајне и специфичне заштите. Компоненте неспецифичне имуности су епителне баријере, фагоцити, урођено убилачке (Natural Killer-NK) и NKT ћелије, протеини система комплемет и цитокини урођене имуности. Кључне карактеристике специфичног имунског одговора, су специфичност и и велика способност разликовања антигена, меморија, клонска експанзија, специјализованост, способност самоограничавања и нереаговање на сопствене антигене. Ћелије специфичне имуности су Т и В лимфоцити.

Имунодефицијенције могу бити урођене и стечене и настају услед поремећаја у развоју и/или функцији ћелија имунског система. У случају тешких урођених имунодефицијенција, смрт може наступити у периоду новорођенчета услед појаве тешких генерализованих инфекција. Најзначајнији облик стечене имунодефицијенције настаје као последица инфекције вирусом хумане имунодефицијенције (енг. *human immunodeficiency virus, HIV*). Као последица инфекције овим вирусом настаје синдром стечене имунодефицијенције (енг. *acquired immune deficiency syndrome, AIDS*). У циљу лечења имунодефицијенција, пацијентима је потребно дати лекове који ће стимулисати имунски одговор.

Физиолошка улога стеченог имунског система поред спречавања настанка инфекције је и супресија раста тумора. Ћелије имунског система спречавају раст малигно алтерисаних ћелија и уништавају такве ћелије. Ослабљен имунски одговор може бити у појединим случајевима узрок настанка малигних болести, али се тумори јављају и код имунокомпетентних особа. Стимулација имунског система против туморских ћелија, представља један од начина терапије малигнитета, тзв. имунотерапија.

Заједнички и координисан одговор ћелија имунског система у циљу елиминисања страних и измењених сопствених антигена назива се имунски одговор. Иако је физиолошка улога имунског система одбрана организма, неадекватан имунски одговор може изазвати оштећење ткива и условити настанак болести. Уколико ћелије имунског система реагују против сопствених ћелија и ткива, настају аутоимунске болести. У циљу спречавања оштећења ткива, у терапији аутоимуснких болести се примењује имуносупресивна терапија.

Имунски систем има значајну улогу у одбацивању транплантираног ткива или органа, која настаје услед активације стеченог имунског одговора против антигена експримираних на ћелијама донора. Основа превенције и третмана одбацивања пресађеног ткива или органа је имуносупресија, са циљем инхибиције, пре свих, ефекторских Т ћелија.

Имуномодулатори су супстанце које модулирају (мењају)активност имунског система тако што делују супресивно (супримирају имунски одговор), то су имуносупресиви или стимулаторно (појачавају имунски одговор), то су имуностимулаторни лекови. Имуносупресивни лекови се користе у терапији аутоимунских болести и у циљу спречавања одбацивања трансплантираног ткива, док се имуностимулаторни лекови користе у имунотерапији малигних обољења и за лечење неких имунодефицијенција.

**А. Имуносупресивни лекови**

Имуносупресивни лекови инхибирају ћелије имунског система у активационој и/или ефекторској фази имунског одговора. Ови лекови могу да супримирају пролиферацију лимфоцита блокирајући синтезу или дејство интерлеукина (IL)-2 (нпр. Циклоспорин, Такролимус), могу да инхибирају експресију гена за цитокине (нпр. кортикостероиди), инхибирају синтезу ДНК-а, ометајући стварање пуринских и пиримидинских база (нпр. Метотрексат, Флуороурацил, Флударабин), спречавају активацију ћелија имунског система блокирајући мембранске рецепторе одговорне за спровођење активационих сигнала ка унутрашњости ћелије (моноклонска антитела се могу користити у ову сврху).

Имуносупресивни лекови се користе у циљу спречавања одбацивања трансплантираног ткива и органа и у терапији аутоимунских болести. Иако је примена имуносупресивних лекова неопходна након трансплантације и за лечење аутоимунских обољења, терапија имуносупресивима значајно инхибира имунски одговор што може узроковати настанак опортунистичких инфекција и може значајно ослабити имунски надзор, контролу настајања малигно измењених ћелија. Због тога је неопходно да се пре примене имуносупресивних лекова детаљно научи механизмом њиховог дејства, могућности нежељених ефеката њихове примене и да се доза и начин њихове апликације прилагоди пацијенту, у завосности од података добијених анамнезом и клиничким прегледом.

У овој наставној јединици посебна пажња биће усмерена на фармакокинетске карактеристике, механизам дејства и нежељена дејства најчешће коришћених имуносупресивних лекова: Циклоспорина, Такролимуса, Метотрексата, Сулфасалазина, Циклофосфамида, Микофенолат мофетила и Талидомида.

**1. Циклоспорин**

Циклоспорин је имуносупресивни лек који се користи у циљу спречавања одбацивања алотрансплантаната. Уз то, примењује се и у лечењу псоријазе, атопијског дерматитиса, хроничне аутоимунске уртикарије, увеитиса не-инфективне етиологије, синдрома сувих очију који се јавља у оквиру Сјогреновог синдрома, примењује се у лечењу улцерозног колитиса пацијената који нису одреаговали на кортикостероидну терапију и у лечењу тешких клиничких облика реуматоидног артритиса.

Механизам дејства циклоспорина је инхибиција калцинеурина, односно спречавање активације NFAT (нуклеарни фактор активираних Т ћелија, *енгл. nuclear factor of activated T cells*) транскрипционог фактора који је у фосфорилисаном, неактивном облику, присутан у цитоплазми. Да би испољио своје дејство, NFAT мора да се дефосфорилише и након тога уђе у једро где ће се везати за промотере гена за цитокине. Након активације Т лимфоцита, сигнал се са Т ћелијског рецептора унутарћелијском сигналном каскадом преноси ка цитозолу. Међу преносиоцима овог синала, важну улогу имају јони калцијума (Са2+). Они функционишу као тзв. секундарни гласници способни да везивањем за циљни протеин мењају његову конформацију и функцију. Дакле, након активације Т ћелијског рецептора, јони калцијума се ослобађају из ћелијских депоа у цитосол или улазе у ћелију из екстрацелуларног простора. Брз пораст количине слободног Са2+ у цитоплазми активира бројне сигналне молекуле, између осталих и калцијум-везујући протеин калмодулин. Калцијум:калмодулин комплекс се везује за серин/треонин фосфатазу калцинеурин и активира је. Активиран калцинеурин дефосфорилише NFAT. Дефосфорилисани NFAT улази у једро и везује се за промотере гена за IL-2 индукујући, у сарадњи са осталим транскрипционим факторима, његову експресију.

Циклоспорин инхибира калцинеурин посредством везујућег протеина циклофилина. Циклоспорин-циклофилин комплекс везује серин/треонин фосфатазу калцинеурин и инхибира је спречавајући дефосфорилацију NFAT. Резултат је немогућност фосфорилисаног NFAT протеина да се транслоцира у једро чиме је онемогућено и његово везивање за промотер гена за IL-2, односно спречена је експресија овог гена. Како је IL-2 кључан цитокин за пролиферацију лимфоцита, основни механизам циклоспорина је супресија пролиферације лимфоцита. Уз то, смањена пролиферација лимфоцита повезана је и са њиховом смањеном активацијом чиме се ефекторске функције и Т и В лимфоцита значајно инхибирају. Смањена Ca2+–зависна егзоцитоза гранула је, такође, једна од последица примене циклоспорина, чиме је супримирана и функција гранулоцита.

Због супресије имунског одговора, повећана склоност ка инфекцијама, реактивација латентних и појава опортунистичких инфекција се често срећу код пацијената који су на дуготрајној примени циклоспорином. Уз то, могу се јавити и мучнина, повраћање, губитак апетита, свраб, поремећај функције јетре или бубрега због могуће нефро и хепатотоксичности циклоспорина. Такође, уочен јепораст инциденце обољевања од лимфома код пацијената који су дуготрајно узимали циклоспорин.

**2. Такролимус**

Такролимус (означен и као FK-506) је имуносупресивни лек који ефикасно спречава акутно одбацивање алотрансплантаната. Иако му је механизам дејства сличан циклоспорину, клиничке студије су показале да је такролимус знатно ефикаснији од циклоспорина. Примењује се и у лечењу атопијског дерматитиса (за разлику од кортикостероида не изазива атрофију коже), витилига и успешно је тестиран у неколико клиничких студија за лечење улцерозног колитиса.

Механизам дејства такролимуса је инхибиција калцинеурина, односно спречавање активације NFAT транскрипционог фактора и последична супресија пролиферације лимфоцита. Такролимус се везује за имунофилин, FK506-везујући протеин (FKBP). Такролимус-FKBP комплекс се везује за калцинеурин и инхибира га, спречавајући дефорсфорилацију NFAT транскрипционог фактора. Фосфорилисани NFAT протеин не може да се транслоцира у једро чиме је онемогућено и његово везивање за промотер гена за IL-2, односно спречена је експресија овог гена, односно супримирана је пролиферација лимфоцита.

Нежељени ефекти примене такролимуса су повећана склоност опортунистичким инфекцијама услед имуносупресије, могућа појава малигнитета (нон-Хоџкин лимфом), мучнина, повраћање, губитак апетита, свраб, несаница, поспаност, поремећај функције јетре или бубрега.

**3. Метотрексат**

Метотрексат је лек који се користи у терапији малигних и неких аутоимунских болести.

Механизам дејства метотрексата је инхибиција метаболизма фолне киселине која је потребна за синтезу тимидина и за синтезу пуринских база, односно неопходна је за синтезу молекула ДНК-а. Метотрескат има изузетно висок афинитет за ензим дихидрофолат редуктазу који учествује у синтези тетрахидрофолата. Овај ензим катализује конверзију дихидрофолата у активни тетрахидрофолат. Афинитет метотрексата ка дихидрофолат редуктази је око хиљаду пута већи од фолата. Због тога, Метотрексат своје дејство остварује у току S фазе ћелијског циклуса, односно током ДНК и РНК синтезе. Има токсичнији ефекат на ћелије које се брзо деле (као што су малигне ћелије, мијелоидне ћелије, ћелије гастроинтетсиналног тракта и матичне ћелије). Због тога се користе у терапији малигних обољења (карцинома дојке, тумора главе и врата, леукемија, лимфома, карцинома мокраћне бешике, плуча и остеосаркома).

У дози која је и вишеструко мања од оне која се примењује у лечењу малигних болести, метотрексат се користи као имуносупресивни лек у терапији Реуматоидног артритиса. Уобичајена доза у терапији Реуматоидног артритиса је 10-25mg недељно и углавном се примењује перорално, а може се давати и субкутано и интрамускуларно. Током лечења реуматоидног артритиса, терапију метотрексатом треба обавезно допунити и применом фолата односно дозом од 1-5 мг фолне киселине. Примена фолата има за циљ да спречи појаву мегалобластичне анемије.

Изгледа да инхибиција дихидрофолат редуктазе није једини и вероватно није главни механизам дејства метотрексата у лечењу Реуматоидног артритиса. Свакако да инхибиција ензима који учествује у метаболизму пурина доводи до акумулације аденозина и омета ћелијски метаболизам. Уз то, бројне студије су показале да метотрексат смањује експресију адхезионих молекула на мембрани Т лимфоцита отежавајући њихову миграцију и индукује већу експресију CD95 (Fas рецептора) на мембрани Т лимфоцита олакшавајући њихову апоптозу. Уз то, метотрексат инхибира везивање IL-1β за IL-1 рецептор и на тај начин делује анти-инфламацијски.

Недавно је због свог имуносупресивног ефекта почео да се примењује и у терапији Мултипле склерозе, а у комбинацији са анти-TNF терапијом се користи и у лечењу Улцерозног колитиса.

Метотрексат је токсичан и тератоген, па се не сме давати трудницама, као ни након порођаја.

Примена метотрексата неретко може да узрокује оштењење бубрега јер се доминантно излучује уринарним трактом. Због тога се не сме комбиновати са лековима који смањују филтрацију бубрега нити се сме примењивати код особа са ослабљеном функцијом бубрега. Уз то, може да оштети све ћелије које се брзо деле, па су тако често уочени следећи нежељени ефекти његове примене: хепатотоксичност, улцеративни стоматитис, леукопенија (удружена са повећаном склоношћу ка инфекцијама), мучнина, бол у абдомену, умор, осип, губитак косе. Уколико се примењује интратекално може да узрокује леукоенцефалопатије.

Примена фолата (у виду супституционе терапије) значајно смањује инциденцу мукозитиса и супресију костне сржи.

**4. Сулфасалазин**

Сулфасалазин се због својих имуносупресивних и анти-инфаламацијских ефеката користи у лечењу улцерозног колитиса, Кронове болести, реуматоидног и псоријатичног артритиса. Примењује се орално и 90% од примењене дозе, доспева до колона где се под утицајем бактерија разграђује на активне продукте: сулфапиридин и 5 аминосалицилну киселину. Сулфапиридин се затим даље метаболише док 5 аминосалицилна киселина остаје у колону у непромењеном облику и углавном се елиминише фецесом. Уз то, активни метаболити сулфасалазина достижу високу концентрацију у серозним течностима и имају афинитет ка везивном ткиву чиме се може може објаснити терапијски ефекат овог лека у лечењу артртитиса.

Сматра се да су ефекти примене сулфасалазина улавном базирани на ефектима 5 аминосалицилне киселине: анти-инфламацијски и имуносупресивни ефекти који настају услед инхибиције синтезе простагландина, ензима липооксигеназе као и услед уклањања слободних радикала.

Сулфасалазин инхибира дихидроптероат синтазу због чега може узроковати дефицијенцију фолата и мегалобластну анемију. Може узроковати хемолитичку анемију код пацијената са дефицијенцијом ензима глукозо-6 фосфат дехидрогеназе. Од нежељених ефеката, најчешће се јављају бол у стомаку, мучнина, повраћање, умор, поспаност. Не сме се давати пацијентима који су алергични на аспирин и сулфонамиде. Не сме се давати деци млађој од 2 године, а истраживања су указала да је његова примена током трудноће безбедна за плод.

**5. Циклофосфамид**

Циклофосфамид је лек који се користи у хемотерапији (за лечење лимфома, леукемија, мултиплог мијелома, карцинома дојке, оваријума, неуробластома, ситноћелијског карцинома плућа и саркома) и као имуносупресивни лек може се користити у спречавању одбацивања трансплантата и у лечењу аутоимунских болести, у условима када остали имуносупресивни лекови нису показали ефикасност (у лечењу брзо-прогредирајућег системског еритемског лупса удруженог са лупус нефритисом, прогресивног реуматоидног артитиса, мултипле склерозе).

Циклофосфамид се брзо ресорбује и у јетри конвертује у активне метаболите, услед дејства оксидаза цитохром Р450 система. Главни активни метаболит је 4-хидроксициклофосфамид, који постоји у еквилибријуму са његовим таутомером, алдофосфамидом. Највећи део алдофосфамида се оксидује ензимом алдехид дехидрогеназом (ALDH) у карбоксифосфамид. Мали део алдофосфамида дифундује у ћелију и конвертује се у фосфорамид иперит и акролеин. Акролеин је токсичан за епител бешике и може да узрокује хеморагични циститис. Акролеин-неутрализујући агенс Месна (2-меркаптоетан сулфонат), који везује и детоксикује акролеин, се препоручује као профилактична мера уз јаку хидратацију. Уз то, активни метаболити циклофосфамида пролазе плаценту и налазе се у мајчином млеку, па је због тератогеног ефекта, строго контраиндикована примена циклофосфамида у трудноћи и током дојења.

Главни ефекат циклофосфамида је узрокован његовим метаболитом фосфорамид иперитом. Тај метаболит се једино формира у ћелијама које имају ниску активност ALDH ензима. Фосфорамид иперит формира иреверзибилне везе између и унутар ДНК ланаца на гуанин N-7 позицијама, што узрокује апоптозу ћелије.

Циклофосфамид се може користити за деплецију (елиминацију) Т регулаторних ћелија, које могу због својих имуносупресивних карактеристика инхибирати анти-туморски имунски одговор. Уз то, циклофосфамид може да у ћелијама индукује повећану продукцију анти-вирусних цитокина (IFN тип 1) чиме може да појача анти-вирусни имунски одговор.

Нежељени ефекти примене циклофосфамида могу бити: склоност инфекцијама услед имуносупресије, хеморагични циститис, неплодност, дијареја, мучнина, повраћање, алопеција, летаргија. Код неких пацијената који су дуготрајно примали циклофосфамид уочен је пораст обољевања од неких мијелопролиферативних болести (акутна леукемија, нон-Хоџкин лимфом и мултпли мијелом).

**6. Микофенолат мофетил**

Микофенолат мофетил је имуносупресивни лек који се користи за спречавање одбацивања трансплантата. Уз то, микофенолат мофетил се може користити у лечењу аутоимунских болести где због мање изражених нежељених ефекета има предност у односу на циклофосфамид (у терапији прогресивног системског еритемског лупса и лупус нефритиса, пемфигуса, псоријазе, васкулитиса малих крвних судова, идиопатске тромбоцитопеничне пурпуре, склеродерме). Брзо се апсорбује и у јетри метаболише у активно једињење микофенолну киселину, које је реверзибилни инхибитор инозин монофосфат дехидрогеназе. Пошто је инозин монофосфат дехидрогеназа главни ензим у *де ново* синтези гуанина, инхибиција овог ензима се посебно уочава код лимфоцита, који се више ослањају на *де ново* синтетички пут него на помоћни пут синтезе пурина који користе остале ћелије. Микофенолат мофетил супримира пролиферацију лимфоцита и ремети њихове ефекторске функције утичући и на целуларни и на хуморални имунски одговор, као и на активност NK ћелија.

Нежељени ефекти примене микофенолат мофетила су: мучнина, повраћање, нелагодност у абдомену и дијареја. Могу се јавити и умор, главобоља, малаксалост. Услед имуносупресије могу се јавити учестале инфекције, као и реактивације латентних вирусних инфекција. Микофенолат мофетил може узроковати конгениталне малформације и стога је контраиндикована његова примена у трудноћи.

**7. Талидомид**

Талидомид је лек који се користи у лечењу мултиплог мијелома, неких облика лепре код пацијената који су резистентни на стандардну терапију. Може се користити, због бројних нежељених ефеката тек као ,,лек трећег избора“, у лечењу реакције ,,калем против домаћина“ када остали имуносупресивни лекови нису били ефикасни.

Механизам дејства талидомида није познат. Сматра се да може да инхибира ангиогенезу, због чега има тератоген ефекат. Уз то, утиче на стварање реактивних медијатора кисеоника и модулира инфламацију. Антагониста је андрогених рецептора због чега може узроковати гинекомастију и поремећај сексуалне функције мушкараца.

Због тератогености, талидомид се не сме примењивати у трудноћи и током дојења нити га смеју користити људи који у скоријој будућности планирају потомство. Од нежељењених ефеката јављају се повећана склоност ка инфекцијама услед имуносупресије, изражена лимфопенија као и анемија и тромбоцитопенија уз могуће појаве спонтаних крварења услед тромбоцитопеније. Могу се још јавити и периферне неуропатије, умор, малаксалост, поспаност, осип, вртоглавица, плућна хипертензија, синкопе, брадикардија, гинекомастија и поремећај сексулане функције мупкараца.

**Б. Примена цитокина у лечењу аутоимунских, алергијских и инфективних болести**

Цитокини су бројна и хетерогена група протеина, које продукују различите ћелије. Цитокини учествују у неспецифичном и специфичном имунском одговору. Око 180 гена људског генома кодира цитокине. Цитокини имају снажно дејство па је њихова синтеза и секреција строго контролисана. Активација ћелије индукује транскрипцију гена одговорних за синтезу цитокина. Молекули информационе рибонукелинске киселине (иРНК) који учествују у транскрипцији гена одговорних за синтезу цитокина су нестабилни, брзо се разграђују, тако да је и синтеза цитокина тренутна и пролазна. Дакле, цитокини се не складиште у ћелији у виду предходно формираних молекула. Уз то, регулација синтезе цитокина обавља се и на постранскрипционом нивоу, модификацијом примарне иРНК и посттранслационим механизмима као што је протеолиза инактивног прекурса са циљем формирања активног цитокина.

Цитокине карактерише способност деловања на различите типове ћелије и постизање различитих биолошких ефеката. Са друге стране, бројни цитокини могу имати исту функцију. Цитокини могу деловати стимулативно или инхибиторно на друге цитокине, стварати међусобно адитивне или синергистичке ефекте или антагонизовати једни друге. Велики број цитокина своју функцију обавља локално, на месту, у близини своје синтезе. Цитокини могу деловати аутокрино, на ћелије које их стварају или паракрино, на суседне ћелије. Улазком у циркулацију, у случају секретовања цитокина у великим количинама, они своје дејство остварују и на удаљеним ћелија. Поједини цитокини имају значајнију улогу у аутокриној или паракриној ћелијској стимулацији, док други своју функцију остварују пре свега системским деловањем.

Цитокине медијаторе и регулаторе неспецифичне имуности секретују пре свега дендритске ћелије, макрофаги и мастоцити. Они покрећу и контролишу запаљенски процес и имају важну улогу у одбрани домаћина од микроорганизма. У стеченом имунском одговору, најзначајнију улогу имају цитокини које секретују помоћнички Т лимфоцити. Поједини цитокини имају значајну улогу у оба типа имунског одговора. Поред своје основне функције, цитокини могу бити и фактори раста хематопоезних ћелија и регулишу процес диференцијације имунских ћелија у косној сржи.

Цитокини, њихови агонисти и антагонисти, као и солубилни рецептори и инхибитори, односно блокатори рецептора за цитокине, испитивани су у терапији многих болести.

Током последњих тридесетак година, захваљујући молекуларним техникама, дефинисана је структура и функција цитокина и њихових рецептора што је омогућило утврђивање значаја цитокина у физиолошким и патолошким стањима, а такође је омогућило и примену цитокина у терапији неких болести: интерферона у лечењу хроничног хепатитиса изазваног хепатитис В вирусом и Капоши саркома, IL-2 у терапији карцинома бубрега, фактора стимулације гранулоцита колонија код пацијената са неутропенијом насталом након примене хемиотерапије, IL-12 у терапији различитих инфективних болести (AIDS-а, маларије, туберкулозе, шистозомијазе), док су се моноклонска антитела усмерена против инфламацијских цитокина (нпр. TNF-α, IL-1) и њихових рецептора, антагонисти ових молекула као и њихови солубилни рецептори (нпр. IL-1Ra), испитивали и користили у терапији аутоимунских болести (реуматоидни артитис, улцерозни колитис, итд.). Међутим, цитокинска или анти-цитокинска терапија често има многа нежељена дејства, а понекад може резултирати и смртним исходом. Нежељена дејства цитокина су бројна и зависе од стања организма пацијента и од пимењеног цитокина. Најчешће се срећу: поремећај општег стања организма (слабост, малаксалост, поспаност, грозница, главобоља, бол у мишићима), осип, поремећаји кардиоваскуларног система (пад крвног притиска, тахикардија, смањења сатурације артеријске крви кисеоником), депресија костне сржи (леукопенија, анемија), поремећаји функције штитасте жлезде и јетре.

**Терапијска примена цитокина у лечењу аутоимунских болести**

Терапијски приступ модулације функције цитокина у лечењу аутоимунских болести базиран је или на компетитивној инхибицији рецептора за инламацијске цитокине или на терапијској примени солубилних рецептора односно антагониста појединих инфламацијских цитокина који су важни у патогенези аутоимунских болести. Експериментални приступ појединих студија подразумевао је и терапијску примену анти-инфламацијских и имуноспресивних цитокина са жељом да се супримира имунски систем и на тај начин допринесе смањењу инфламације и оштећења ткива. Озбиљни нежељени ефекти оваквог терапијског приступа су настанак имунодефицијенције и развој опортунистичких, односно реактивација латентних инфекција које могу резултирати и фаталним исходом.

**Терапијска примена IFN–ß у лечењу мултипле склерозе**

Мултипла склероза је аутоимунска болест централног нервног система коју. карактеришу фокални плакови примарне демијелинизације у белој маси мозга и кичмене мождине са релативно очуваним аксонима. На основу резултата добијених у експерименталним и клиничким студијама закључено је да мултипла склероза започиње инфламаторним, а касније се наставља неуродегенеративним процесом који касније може да се развија независно од инфламације. Аутореактивни CD4+ Т лимфоцити специфични за компоненте мијелинског омотача су најважније ћелије у започињању патолошког процеса, а друге компоненте имунског система као што су антитела, протеини система комплемент, CD8+ T лимфоцити и солубилни фактори, укључујући и цитокине које продукују ћелије имунског система, оштећују ткиво централног нервног система. Мултиплу склерозу првенствено карактерише оштећење олигодендроцита а сматра се да је имунска реакција усмерена ка једном или више антигена мијелина.

Већина лекова који се тренутно користе за лечење мултипле склерозе делују на имунски систем или супримирају инфламацију. Ограничени позитивни ефекти терапије антиинфламаторним, имуномодулаторним и имуносупресивним агенсима, доказани контролисаним клиничким студијама, односе се углавном на ране стадијуме болести и сводe се на ублажавање клиничких поремећаја и превенирање нових.

Међу цитокинима, интерферон бета (IFN–ß) је коришћен као могући лек у терапији мултипле склерозе. Бројне клиничке студије су показале да пацијенти оболели од релапсно-ремитентне мултипле склерозе који су примали IFN–ß имају дуже периоде ремисије са значајно ређом појавом релапса. Иако није дефинитивно утврђен механизам деловања IFN–ß, неколико потенцијалних механизама је предложено: инхибиција активације и пролиферације Т лимфоцита, индукција апоптозе аутореактивних Т ћелија, индукција пролиферације Т регулаторних ћелија, инхибиција миграције леукоцита кроз крвно-мождану баријеру, модулација активности осталих инфламацијских цитокина и директан анти-вирусни ефекат. Уз то, сматра се да и механизмом позитивне повратне спреге, ендогени IFN–ß, који се ослобађа у оштећеном централном нервном систему, додатно супримира инфламацију и аутоимунски одговор, адитивно делујући са примењеним IFN–ß.

Међу нежељеним ефектима IFN–ß, у испитиваним студијама најчешће су уочени симтоми слични грипу (главобоља, малаксалост, умор), симптоми налик депресији (безвољност, губитак апетита), а лабораторијски показатељи су код неких пацијената указивали на постојање анемије или на промене у активности ензима јетре.

**Примена IFN-alpha у лечењу Сјогреновог синдрома**

Сјогренов синдром је хронична инфламаторна болест коју карактерише поремећај секреције сузних и пљувачних жлезди услед лимфоцитне инфилтрације и деструкције њиховог паренхима. У основи Сјогреновог синдрома је аутоимунска деструкција сузних, пљувачних жлезди, али и жлезди респираторног тракта и вагине.

Постоје клиничке студије у којима је испитивано да ли примена IFNα може имати повољан терапијски ефекат у лечењу Сјогреновог синдрома. IFNα је испитиван због хипотезе да управо овај цитокин заузима централно место у имунопатогенези Сјогреновог синдрома. Сматра се да је болест последица имунског одговора на вирусну инфекцију и да када антигене вируса препознају плазмацитоидне дендритичне ћелије оне се активирају и продукују IFNα који узрокује апоптозу епителних ћелија сузних и пљувачних жлезди. На апоптотским телашцима се тада експримирају SS/A, SS/B антигени и рибонуклеопротеин. Затим плазмацитоидне дендритичне ћелије активирају CD4+Th1 лимфоците који активирају В лимфоците специфичне за SS/A, SS/B антигене и рибонуклеопротеин и продукују аутоантитела на ове антигене. Аутоантитела се везују за антигене, формирају имунске комплексе које FcIIa рецепторима препознају плазмацитоидне дендритичне ћелије и као одговор додатно продукују IFNα што формира ,,зачарани круг”.

У клиничким студијама је показано да пацијенти који су примали IFNα имају бржи проток саливе што је било праћено статистички значајним ублаживањем симптома и знака: xerostomia (сувоће усне дупље), отежаног гутања, сувиог кератокоњуктивитис (*кeratoconjuctivitis sicca)*, фотофобије, пецкања у оку, у поређењу са пацијентима који су примали плацебо. Уз то, недавно је показано да примена IFNα може значајно ублажити клиничке знаке и сиптоме неуропатије, главне екстрагландуларне клиничке манифестације Сјогреново синдрома.

Није познато којим механизмо IFNα има повољан терапијски ефекат, а хипотезе су или да испољава директан анти-вирусни ефекат и на тај начин елиминише могућег узрочник анастајања аутоимунског процеса или да индиректно, анти-инфламацијским деловањем, супримира прогресију ове аутоимуснке болести.

Нежељени ефекти примене IFNα код оболелих од Сјогреновог синдрома нису уочени у клиничким студијама.

**Анти-TGF-beta терапија у лечењу склеродерме**

Склеродерма је хронична инфламаторна болест непознате етиологије коју карактерише пораст стварања и депоновања колагена. Дакле, основна патолошка промена је депозиција колагена у ткиву, најчешће око крвних судова који су обично измењени, облитерисаног лумена, док инфламације у њима обично нема. Постоје две клиничке форме болести: локализована болест или CREST синдром (калциноза, *Raynaud* феномен, поремећај функције једњака, склеродактилија, теленгијектазије) и системска болест или системска склероза коју карактеришу кожне промене (сува, затегнута кожа) као и промене на системима органа (најчешће се јављају интестицијална фиброза, фиброза миокарда).

Склеродерма се сматра за аутоимунску болест посредовану Т лимфоцитима. У имунопатогенези склеродерме важну улогу имају CD4+T лимфоцити, макрофаги и фибробласти. Долази до активације и пролиферације фибробласта углавном под дејством TGF-beta кога продукују макрофаги, CD4+T лимфоцити. Активирани фибробласти се под утицајем TGF-beta, диференцирају у миофибробласте. Продукује се велика количина колагена тип 1 и 3 који се депонује у ткиву узроковајући фиброзу.

Због чињенице да TGF beta заузима централно место у патогенези склеродерме, бројне експерименталне и клиничке студије испитивале су ефекат анти-TGF beta терапије у лечењу склеродерме. У експерименталним студијама инхибитори и блокатори TGF beta и његовог рецептора показали су повољан терапијски ефекат у модулацији фиброзе у моделима склеродерме. Иматиниб мезилат и слични инхибитори тирозин киназа који блокирају TGF-ß сигнални пут, значајно редукују фиброзу. Уз то, ефекат остварен блокадом αvß6 интегрина који експримирају епителне ћелије и који стриктно у инфламираном ткиву (рецимо интерстицијалној инфламацији и фибрози плућа) активира латентни TGF-ß, такође је показао повољан ефекат у експерименталним моделима склеродерме. Блокада TGFBR1 рецептора или инхибиција активације SMAD молекула показала је повољан терапијски ефекат у лечењу фиброзе бубрега и плућа у моделима склеродерме.

Ипак, клиникче студије које су испитовале ефекте анти-TGF-ß моноклонских антитела нису потврдили налаз добијен у анималним моделима. Коришћени су анти- TGF-ß антитела металимумаб и лерделимумаб, без било каквог значајног ефекта. Панспецифично моноклонско анти-TGF-ß антитело које инхибира све 3 изоформе овог цитокина се испитује у клиничкој студији за лечење интерстицијалне фиброзе плућа.

Због чињенице да TGF beta има важну улогу у регулацији имунског одговора, ткивном ремоделингу и репарацији, (нарочито у нивоу епитела), инхибиција овог цитокина резултира озбиљним поремећајима у имунском одговору на патогене, хиперплазијом епитела и поремећајем у зарастању рана. Због тога, као и због непостојања довољно убедљивих доказа да инхибиција TGF-beta сигналног пута има повољан терапијски ефекат у лечењу пацијената оболелих од склеродерме, неопходна су даља детаљна испитивања пре него што овај терапијски приступ буде одобрен у рутинској клиничкој пракси.

**Примена IFN-alpha у лечењу Бехчетове (*Behçet*) болести**

Бехчетова болест је мултисистемско аутоимунско обољење непознате етиологије настало услед васкулитиса малих и средње великих крвних судова. Најчешће се манифестује у виду рецидивидирајућег афтозног стоматитиса, појавом рана на кожи и полним органима, артитисом, панувеитисом, иритисом или васкулитисом ретине. Најчешће се у среће у земљама које су се некада налазиле на тзв. „путу свиле“, односно у земљама Далеког, Средњег истока и медитеранског басена (Јапан, Кореја, Кина, Иран, Турска, Тунис и Мароко). Обзиром да до данас нису разјањени етиологија и имунопатогенеза болести, не постоји ни стандардна терапија.

Један од терапијских приступа, испитиван у бројним (више од 30) клиничких студија био је примена IFN-alpha. Овај цитокин је системски примењен код више од 300 пацијената оболелих од Бехчетове болести. Већина пацијената примало је IFN-α2a, док је око трећина њих била лечена применом IFN-α2b. Дужи периоди ремисије и смањена улесталост релапса болести забележени су код готово свих пацијената који су примали IFN-α2a. Повољан терапијски ефекат уочен је код више од 80% пацијената чији су главни симптоми биле мукокутане лезије, док је успешност терапије забележен код више од 95% оних који су имали артитис или увеитис. Бољи ефекат уочен је код примене високих доза IFN-alpha2a, који је био знатно ефикаснији у односу на IFN-alpha2b. Код значајног броја пацијената уочена је комплетна ремисија болести. Нежељени ефекти су се јављали зависно од примењене дозе и манифестовали су се умором, малаксалошћу, и другим симптомима који су налик онима који се срећу код оболелих од хепатитиса Ц.

**Модулација цитокина као нов терапијски приступ у лечењу алергијских болести**

Због чињенице да цитокини имају важну улогу у имунопатогенези алергијских болести, бројне студије испитују могућност њихове модулације као нов терапијски приступ у лечењу алергијских болести. У овом поглављу биће анализирана модулација цитокина у лечењу астме и атопијског дерматитиса.

**Модулација IL-4, IL-5 и IL-13 као нов терапијски приступ у лечењу астме**

Астма је запаљенска болест дисајних путева, а манифестује се понављаним нападима свирања у грудима (визингом), отежаним дисањем и кашљем. Овај синдром карактеришу три кардинална својства: 1) генерализована али реверзибилна опструкција дисајних путева; 2) хиперреактивност (преосетљивост) бронхија; 3) инфламација дисајних путева. Две главне карактеристике у патогенези астме су инфламација и последично ремоделовање дисајних путева.

Цитокини имају веома важну улогу у имунопатогенези астме. Th2 лимфоцити секретују IL-3, IL-4, IL-5, IL-13, TNF-α и GM-CSF. IL-4 и IL-13 индукују да В лимфоцити промене класу антитела и да секретују IgE. IL-3, IL-5 и GM-CSF утичу на развој, сазревање, активацију и преживљавање еозинофила, док IL-4, IL-5, IL-13 и TNF-α повећавају експресију адхезивног молекула VCAM-1 који омогућује везивање неутрофила, моноцита и еозинофила за васкуларни ендотел и промовише миграцију ових ћелија у ткиво. Повећана секреција мукуса је резултат деловања цитокина, нарочито IL-13 на епителне ћелије бронхија.

У раној фази астме, мастоцити ослобађају медијаторе (хистамин, простагландине и леукотријене) којима изазивају брзу бронхоконстрикцију, вазодилатацију и повећану пропустљивост крвних судова, као и повећану секрецију слузи. У касној фази реакције, мастоцити и Th2 лимфоцита продукују хемокине и цитокине којима стимулишу инфлукс еозинофила, Th2 лимфоцита и неутрофила из циркулације и последично ткивна оштећења.

Због значаја које цитокини имају у патогенези астме, терапијски приступ који подразумева модулацију њихове функције испитиван је код пацијената оболелих од астме, нарочито код оних који су неадекватно одговарали на стандардну терапију примене бронходилататора, кортикостероида. У ту сврху испитиван је ефекат моноклонских антитела која су модулирала фунцкију IL-4, IL-5 и IL-13.

Реслизумаб (анти-IL-5 антитело) се показао ефикасним у експерименталним студијама па је тестиран код пунолетних пацијената са тешком астмом и еозинофилијом код којих терапија кортикостероидима није била ефикасна. Опречни резултати су добијени у три клиничке студије. У првој студији, примена Реслизумаба резултирала је значајним смањењем еозинофила у спутуму, без било каквог утицаја на симптоме астме и без утицаја на егзацербацију болести. У другој студији, Реслизумаб је имао повољан терапијски ефекат праћен значајним побољшањем FEV1 и значајним смањењем егзацербације болести код пацијената који су примали овај лек у односу на оне који су примали плацебо. У трећој студији, забележен је пад еозинофила у серуму и побошљање клиничке слике код пацијената који су примали Реслизумаб. У свим студијама, реслизумаб није узроковао нежељена дејства.

Бенрализумаб је моноклонско антитело специфично за рецептор IL-5Rα, експримиран на базофилима и еозинофилима. Високе дозе Бенрализумаба значајно су смањиле учесталост угзацербација и побољшале симптоме и клиничке знаке астме, као и параметре функције плућа и квалитет живота ових пацијената.

Тралокинумаб је анти-IL-13 антитело, чији се терапијски потенцијал за лечење астме испитивао у експерименталним и клиничким студијама. Резултати добијени у клиничкој студији која је обухватала 194 пацијената показали су да примена овог антитела значајно побољшава параметре плућне фунцкије код пацијената са средње тешком и тешком астмом. Компликације које су примећене код неких пацијената нису директно повезане са употребом Тралокинумаба.

Примена Лебрикизумаба, анти-IL-13 антитела, значајно је побољшала функцију плућа код пацијената са тешким обликом астме који су неадекватно одговарали на стандардну терапију и који су имали висок ниво периостина у серуму. Периостин је протеин екстрацуларног матрикса који продукују епителне ћелије респираторног тракта након активације (стимулације) IL-13. Ипак, студија која је упоређивала ефекте кортикостероида и Лебрикузимаба утврдила је да није постојала статистички значајна разлика у току и клиничкој слици астме код пацијената који су примали ова два лека.

Охрабрујући резултати добијени су у клиничкој студији у којој су пацијенти са егзацербацијом тешког облика астме примали Дупилумаб, моноклонско антитело специфично за IL-4Rα/IL-13Rα1, молекул који улази у састав рецептора и за IL-4 и за IL-13. Значајно побољшање бројних параметара функције плућа, ремисија болести, смањење серумских вредности IgE, уочени су код пацијената који су примали Дупилумаб. Ипак, критичари ове студије указују на потребу опрезног доношења закључака јер сматрају да је дужина праћења ефеката Дупилумаба била недовољна и да пацијенти који су укључени у ову студију као пацијенти у егзацербацији болести заправо нису били у егзацербацији болести већ да је њихово стање било последица неузимања стандардне терапије.

**Терапијска примена IFN-γ у лечењу атопијског дерматитиса**

Атопијски дерматитис је хронично обољење коже које настаје услед хроничног инфламацијског одговора, ткивног ремоделовања и фиброзе. Врло често је удружен са другим атопијским болестима као што су алергијски риноконјунктивитис или астма. Код више од половине оболеле деце први симптоми се јављају у првој години живота. У клиничкој слици присутни су сува кожа и интензивни свраб који је нарочито изражен ноћу. Јављају се везикуле, папуле и крусте на еритематозној основи. У акутној форми ове кожне лезије влаже. Код одојчади, дерматитис се често најпре јавља на лицу, затим на флексорној страни руку и ногу. Код старије деце и код одраслих, ове промене се јављају на флексорној страни уз свраб, лихенификацију коже која прска и пуца. Спонтана резолуција инфламације се јавља код већине оболелих, мада сува кожа остаје перзистенти проблем нарочито у зимским месецима. Висок ниво IgЕ у серуму и еозинофилија се срећу код већине оболелих од атопијског дерматитиса. У имунопатогенези овог кожног обољења је бифазна инфламација са иницијално доминантним Th2 имунским одговором, док касније, у хроничним лезијама, доминирају Th1 лимфоцити.

Управо због жеље да се постигне повољан терапијски ефекат у лечењу пацијената оболелих од најтежих облиак атопијског дерматитиса који не реагују на стандарну терапију, покушано је да се применом IFN-γ изврши поларизација имунског одговора од Th2 ка Th1 и да се на тај начин болест супримира. Прве студије лечења помоћу IFN-γ су показале обећавајуће резултате. Убризгавање рекомбинантног IFN-γ није довело до нежељених ефеката и резултирало је побољшањима у клиничколј слици и значајно редуковало потребу за узимањем кортикостероида. Код већине пацијената који су примали рекомбинантни IFN-γ значајно су смањена подручја оболеле коже, смањен је еритем, едем, индурација, свраб, сувоћа и лихенификација коже. Иако је дошло до значајног смањења еозинофилије, није уочено значајно смањење IgE у серуму. И поред чињенице да механизам повољног терапијског деловања IFN-γ у лечењу атопијског дерматитиса још увек није познат, охрабрујући резултати ових студија указују на неопходност даљег истраживања у циљу испитивања могуће терапијске примене IFN-γ у лечењу најтежих облика атопијског дерматитиса.

**Терапија цитокинима у лечењу инфективних болести**

**Терапијска примена IFN-α у лечењу хроничне HBV инфекције**

Вирус хепатитиса Б (HBV) је ДНК вирус који је узрочник хроничне инфекције више од 350 миолина људи широм света. Сматра се да као компликација HBV инфекције, око милион људи годишње у свету оболи од цирозе јетре или хепатоцелуларног карцинома. Употреба вакцине, која је и у Србији обавезна, значајно је редуковала настанак HBV инфекције и инциденцу хепатоцелуларног карцинома.

IFN-α је био цитокин за који је утврђено да има позитиван терапијски ефекат у лечењу хроничне HBV инфекције. Механизам дејства заснован је на имуномодулаторним ефектима овог цитокина (појачава функцију антиген-презентујућих ћелија, утиче на пораст цитотоксичности NK ћелија и индукује продукцију про-инфламацијских цитокина у ћелијама имунског система) као и на директном анти-вирусном дејству усмереном против HBV (деградација нуклеинских киселина и протеина вируса). Модификација IFN-α додавањем полиетилен гликола (PEG) значајно је унапредила фармакокинетске карактеристике и терапијски потенцијал овог цитокина. PEG-IFN α-2a је регистрован за лечење и HBeAg-позитивних и HBeAg-негативних пацијената са хроничном HBV инфекцијом. Даје се субкутано, једном недељно, током 48 недеља, у дози од180 μg. PEG-IFN α-2b је регистрован за лечење пацијената са хроничном HBV инфекцијом једино у земљама са високом преваленцом обољевања од овог вируса. PEG-IFN α-2a има дужи полу-живот (око 80 сати), и углавном се метаболише у јетри након чега настају активни метаболити. PEG-IFN α-2b има краћи полу-живот (око 40 сати) и може да споро ослобађа IFN-α, имајући повољан терапијски ефекат.

**Терапијска примена IFN-α у лечењу HCV инфекције**

Процена је да је тренутно у свету више од 160 милиона људи инфицирано вирусом хепатитиса С (HCV). Хронична инфекција овим вирусом може да резултира цирозом јетре, престанком функције јетре или настанком хепатоцелуларног карцинома.

Као и што је описано у претходном поглављу, због својих имуномодулаторних и анти-вирусних карактеристика, IFN-α се примењује у лечењу пацијената инфицираних овим вирусом већ неколико деценија уназад.

Бројне клиничке студије су доказале ефикасност терапијске примене овим цитокином . Уочене су привремене ремисије код значајног броја пацијената лечених са 2.5-10 милиона јединица рекомбинантог IFN-α које се примењују субкутано или интрамускуларно три пута недељно, током 24-48 недеље. Касније је утврђено да комбинована терапија IFN-α (6 или 10 милиона јединица) и рибавирина (600 или 800мг) даје значајно боље резултате него самостална употреба IFN-α.

Уз ову терапију, примењују се и PEG-IFN α-2a односно PEG-IFN α-2b, такође самостално или још ефикасније, у комбинацији са рибавирином. Ипак, посебна пажња мора се обратити на могуће нежељене ефекте ове терапије који су, у случају монотерапије IFN-α најчешће у виду симптома сличних грипу, док за комбиновану терапију са рибавирином нежељени ефекти могу бити панцитопенија, интерстицијална пнеумонија и по живот опасна интрацеребрална крварења.

**Терапијска примена интерферона у лечењу инфекција изазваних хуманим папилома вирусима**

Бројне студије су показале ефикасност локалне примене интерферона у лечењу гениталних брадавица које настају услед инфекције хуманим папилома вирусима Механизам дејства може бити: директан анти-вирусни ефекат (инхибиција нуклеинских киселина и протеина вируса), анти-пролиферативни ефекат и стимулација анти-вирусног имунског одговора (подстицање фагоцитозне активности макрофага и цитотоксичних карактеристика NK ћелија и цитотоксичних лимфоцита). Због повољних ефеката, IFN-α се користи за лечење кондилома, а успешно се користи и код оболелих од агресивних форми рекурентне респираторне папиломатозе коју карактерише рекурентни раст бенигних папилома у респираторном тракту.