

Received: 2003.09.18

Accepted: 2003.11.07

Published: 2004.02.27

Metotreksat w leczeniu reumatoidalnego zapalenia stawów

Methotrexate in the treatment of the patients with rheumatoid arthritis

Renata Budzyńska¹, Helena Zakliczyńska²

¹ Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu

² Klinika Chorób Wewnętrznych i Reumatologii Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach-Ochojcu

Streszczenie

Reumatoidalne zapalenie stawów (r.z.s.) jest przewlekłą, immunologicznie niezależną chorobą tkanki łącznej, charakteryzującą się nieswoistym zapaleniem symetrycznych stawów. Przewlekły, postępujący proces zapalny rozpoczynający się w błonie maziowej stawów, prowadzi do niszczenia tkanek stawowych, zniekształceń i upośledzenia czynności stawów. W przebiegu choroby może dojść do zmian w wielu układach i narządach (do zapalenia naczyń obwodowych, błony naczyniowej oka, płuc).

Farmakologiczne leczenie r.z.s. rozpoczyna się od niesteroidowych leków przeciwzapalnych (n.i.p.z). Do tej grupy leków należy m.in.: kwas acetylosalicylowy, indometacyna, diklofenak, ibuprofen. Ich stosowanie wiąże się z występowaniem wielu działań niepożądanych. Drugą grupę stanowią leki modyfikujące przebieg choroby. Należą do nich sole złota, sulfasalazyna, D – penicylamina, chlorochina i hydroksychlorochina, cyklosporyna, leflunomid. Inną dużą grupą leków stosowanych w r.z.s. są leki immunosupresyjne będące inhibitorami czynnika martwicy nowotworu (TNF- α). Stosuje się obecnie trzy leki: etanercept, infliximab oraz adalimumab. Wskazaniem do ich zalecenia są ciężkie postaci r.z.s.

Dużym przełomem w leczeniu r.z.s. było zastosowanie metotreksatu. Obecnie jest on uważany za lek pierwszego rzutu. Immunosupresyjne i przeciwzapalne działania metotreksatu są związane z hamowaniem enzymów zależnych od folianu przez pochodne poliglutaminianowe, lub pośrednio z uwolnieniem adenozyiny i/lub apoptozą i delecją klonalną zaktywowanych limfocytów krwi obwodowej w fazie S.

Bardzo ważną rolę w leczeniu r.z.s. odgrywa leczenie skojarzone z dwoma lub trzema lekami modyfikującymi przebieg choroby.

Słowa kluczowe:

reumatoidalne zapalenie stawów • metotreksat • receptor mannozowy • leflunomid • etanercept • infliximab

Summary

Rheumatoid arthritis (RA) is a common chronic inflammatory and destructive arthropathy that cannot be cured and that has substantial personal, social and economic costs.

Methotrexate is a well-known folate analogue, and is the most frequently applied drug for the disease to modify antirheumatic therapy in patients with rheumatoid arthritis. Although results of studies have shown the efficacy of such drugs as methotrexate, on rheumatoid arthritis, activity measures and their effect on mortality in patients with the disease remain unknown.

The current therapeutic approach to rheumatoid arthritis consists of administration of anti-inflammatory, immunomodulating, and immunosuppressive drugs. Immunomodulating drugs, as opposed to non-steroid anti-inflammatory drugs, which only reduce the signs of inflammation,



are capable of gradually checking the course of the disease. However, they do not prevent the slow but progressive destruction of joints. The prominent role of proinflammatory cytokines and growth factors in the pathogenesis of RA has been documented. Recent studies have demonstrated the efficacy of anticytokine treatment.

Infliximab is a chimeric monoclonal antibody capable of neutralizing human TNF alpha. A number of clinical trials for the treatment of rheumatoid arthritis with infliximab indicated that TNF alpha blockade was effective and well tolerated, with excellent results occurring at 3 and 10 mg/kg in combination with methotrexate. Treatment of RA patients with the combination of infliximab and methotrexate also prevented radiographic evidence of progression of joint damage. If its clinical efficacy is sustainable and its safety confirmed over the long term, infliximab may become an essential agent of choice for the treatment of RA.

Key words: rheumatoid arthritis • methotrexate • mannose receptor • leflunomide • etanercept • infliximab

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_58/5205.pdf

Word count: 4903

Tables: 2

Figures: 4

References: 52

Source of support: Praca dotowana przez Fundację na Rzecz Rozwoju Nauki Polskiej, Farmacji i Medycyny, grant nr 133/03.

Adres autorki: mgr Renata Budzyńska, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, ul. R. Weigla 12, 53-114 Wrocław, e-mail: budzyn@iitd.pan.wroc.pl

Reumatoidalne zapalenie stawów (r.z.s.) należy do najczęstszych układowych zapalnych chorób tkanki łącznej. W Polsce częstość zachorowań szacuje się na około 1% populacji dorosłych, co oznacza, że choroba ta może prowadzić do niepełnosprawności i/lub inwalidztwa u 400 tys. osób. Choroba występuje częściej u kobiet niż u mężczyzn, może pojawić się w każdym wieku, jednak szczyt jej występowania przypada na okres od 30 do 60 roku życia. R.z.s. może mieć przebieg ciągły lub cykliczny, czyli z okresami zaostrzeń i remisji. Podejrzewa się, że u pewnej liczby chorych dochodzi we wczesnym okresie do samoistnej remisji (tzw. postać samoograniczająca się). U około 20% pacjentów występuje ciężka, postępująca postać choroby, która w ciągu kilku lat prowadzi do kalectwa [51,52].

Pomimo prowadzonych badań nie udało się ustalić przyczyny r.z.s. Znaczącą rolę w zapoczątkowaniu procesu chorobowego przypisuje się predyspozycji genetycznej i zakażeniu wirusowemu. Żadna z hipotez dotyczących związku r.z.s. i czynników genetycznych nie została udowodniona. Za czynnikiem genetycznym świadczy częstsze występowanie antygenów zgodności tkankowej klasy II-HLA-DR4 i DR-1 u chorych na r.z.s. i członków ich rodzin w porównaniu z ogólną populacją. Zauważyć można także tzw. agregację rodzinną choroby. Próby znalezienia czynnika zakaźnego odpowiedzialnego za zapoczątkowanie i podtrzymywanie procesu autoimmunizacji, prowadzącego do zapalenia błony maziowej u chorych na r.z.s. również nie przyniosło dotychczas oczekiwanych rezultatów [14].

Wczesne zmiany morfologiczne dotyczą błony maziowej stawów, w której powstaje ziarnina reumatoidalna. Przenika ona stopniowo do innych składników stawu, niszc-

ząc chrząstkę i kość. Na powierzchni chrząstki widoczna jest łuszczyka, zawierająca liczne fibroblasty i rozrastające się naczynia krwionośne. Proces ten stwierdza się w błonie maziowej w przebiegu r.z.s, gdzie powstaje ziarnina reumatoidalna. Ziarnina jest złożona z komórek prezentujących antygen, otoczonych przez limfocyty T i komórki plazmatyczne a wytwarzany w niej czynnik reumatoidalny może należeć do immunoglobulin każdej klasy, najczęściej IgG, IgM oraz IgA [51,52]. Stopniowo dochodzi do coraz większego zniszczenia powierzchni stawowych kości, uszkodzenia więzadeł a w końcu do zniekształcenia zajętych stawów. W tkance, w której istnieje proces zapalny, następuje gromadzenie się znacznej liczby komórek uczestniczących w odpowiedzi immunologicznej. Procesy naprawcze prowadzą do powstania licznych zrostów włóknistych, a w późniejszym czasie kostnych, które powodują całkowite usztywnienie stawów.

Wytwarzane w obrębie zmiany reumatoidalnej (ziarniny reumatoidalnej) cytokiny zaburzają metabolizm otaczających tkanek, głównie chrząstki stawowej. Szczególne znaczenie ma IL-1 [10], ponieważ uniemożliwia prawidłowe wytwarzanie proteoglikanów i kolagenu. Wpływa ona także na wytwarzanie prostaglandyn i proteaz degradujących substancję pozakomórkową chrząstki, co z kolei prowadzi do wtórnych zmian zwyrodnieniowych.

Zmiany zapalne w przebiegu tej choroby mogą obejmować również naczynia krwionośne w wielu innych narządach i tkankach. W tkance łącznej narządów, do których dostały się kompleksy immunologiczne, może wytworzyć się ziarnina reumatoidalna. Jedną z typowych zmian morfologicznych występującą w r.z.s. jest tzw. guzek reumatoidalny. Składa się on z centralnie położonego ogniska martwicy włóknikowatej otoczonego wałem promieniście

układających się fibroblastów, a dalej warstwą tkanki łącznej, zawierającej limfocyty i komórki plazmatyczne. Guzki takie powstają najczęściej w tkance podskórnej, w miejscach szczególnie narażonych na ucisk. Ich występowanie stwierdza się także w narządach wewnętrznych (płuca, serce, ściany dużych naczyń) [52].

Aktywacja komórek fagocytycznych w stawie (głównie granulocytów obojętnochłonnych) powoduje zapoczątkowanie przemian kwasu arachidonowego [51,52]. Powstające w wyniku tego procesu związki stymulują reakcję zapalną wieloma mechanizmami. Związki uwalniane z fagocytycznych komórek powodują destrukcję tkanek, a co za tym idzie, mogą wywoływać zmianę cech antygenowych białek i nasilać reakcję immunologiczną. Z procesem zapalnym w błonie maziowej łączy się neoangiogeneza. Na powierzchni chrząstki odkłada się włóknik, następuje narastanie ziarniny reumatoidalnej i powstanie naczyń, fibroblastów – powstaje łuszcza. Niszczy ona chrząstkę i nasadę kości w dwójaki sposób: stanowi barierę odgraniczającą chrząstkę od płynu stawowego, a tym samym uniemożliwia jej prawidłowy metabolizm; jednocześnie łuszcza jest miejscem wytwarzania wielu czynników, np.: PGE₂, która powoduje aktywację osteoklastów i prowadzi do uszkodzenia kości i kolagenazy.

W warunkach prawidłowych reakcja immunologiczna ustaje wówczas, gdy antygen zostaje zniszczony. Jeżeli natomiast antygen nadal znajduje się w ustroju lub jeżeli jest to autoantygen, może dojść do przewlekłej reakcji immunologicznej, jak to się dzieje w r.z.s. Czynnikiem reumatoidalnym tworzy kompleks z IgG [51]. Jeśli sam czynnik jest immunoglobuliną G, kompleksy mogą powstawać już w cytoplazmie komórek plazmatycznych, przez które został on wytworzony – cząsteczki IgG odgrywają wówczas jednocześnie rolę antygeny i przeciwciała. Kompleksy IgG i czynnika reumatoidalnego, będącego immunoglobulinami różnych klas, można wykryć w płynie stawowym, w płynie tkankowym oraz w osoczu krwi krążącej. Kompleksy te, wiążąc dopełniacz, stają się przyczyną dalszych zmian zapalnych. Uwalniane czynniki chemotaktyczne powodują napływ granulocytów do jamy stawowej. Dochodzi wtedy do fagocytozy kompleksów, uwalniania enzymów lizosomalnych, wolnych rodników i produktów przemiany kwasu arachidonowego.

Mechanizm powstawania zmian zapalnych w przebiegu r.z.s. jest typowy dla choroby wywołanej przez kompleksy immunologiczne. Antygen jest prezentowany przez makrofagi lub też komórki dendrytyczne w błonie maziowej limfocytom T. Uwalniana jednocześnie IL-1 aktywuje limfocyty T pomocnicze do wytwarzania IL-2. Dochodzi wówczas do proliferacji klonów limfocytów T, swoistych dla antygeny. Limfocyty cytotoksyczne uwalniają kolejne cytokiny zaangażowane w procesie zapalnym: czynnik martwicy nowotworów TNF- α i IL-8. Pomocnicze limfocyty T uwalniają również interferon γ (IFN- γ), który zwiększa ekspresję cząsteczek HLA-DR. Te same komórki zwiększają ekspresję limfocytów B przez uwolnienie IL-4 i IL-6 [51,6].

Zasadniczymi elementami procesu zapalnego są komórki odpowiedzi immunologicznej, tzn. komórki prezentujące

antygen oraz limfocyty, aktywowane przez nie komórki efektorowe, a także uwolnione z tych komórek lub aktywowane w osoczu mediatory zapalenia. Końcowym efektem działania tych elementów powinno być całkowite wyeliminowanie obcego czynnika z ogniska, a przewaga czynników supresyjnych nad aktywującymi powinna wygasić ognisko zapalne. Gdy brak jest możliwości wyeliminowania czynnika stymulującego zapalenie lub też supresja jest niedostateczna występuje nieustanna aktywacja stanu zapalnego, tak jak to się dzieje w przypadku r.z.s.

W patogenezie r.z.s. istotną rolę odgrywają również cząsteczki adhezyjne. Duża grupa tych cząsteczek należy do rodziny supergeny immunoglobulin; są to ICAM-1 i ICAM-2, VCAM-1, z których każda zawiera liczne domeny. Cząsteczki te są związane z komórkami śródbłonka naczyń [51]. Leukocyty i niektóre inne komórki mają na powierzchni integryny, które pośredniczą w ich adhezji do śródbłonka i substancji pozakomórkowej. Są to VLA-1, -6, LFA-1 i LFA-2 [51]. W interakcji komórek biorą także udział selektyny, które wiążą węglowodany w leukocytach i śródbłonkach. Należą do nich selektyny E i P, które ulegają ekspresji na komórkach śródbłonka i płytkach krwi, oraz selektyny L, których ekspresja jest widoczna na niektórych leukocytach.

Jednym z najważniejszych mediatorów zapalenia w r.z.s. jest czynnik martwicy nowotworu (TNF- α) (tabela 1). W surowicy krwi, w płynie stawowym oraz w tkankach błony maziowej chorych obserwuje się zwiększone stężenie tej cytokiny. Współodpowiada ona za objawy ogólne występujące w r.z.s., takie jak stany podgorączkowe, zmniejszenie masy ciała, uczucie zmęczenia, zaniki mięśniowe, a także indukuje odpowiedź ostrej fazy [6,25,45]. Jej najistotniejszą rolą jest udział w procesie zapalenia stawów [3]. TNF- α pobudza syntezę kolagenazy i innych metaloproteinaz w fibroblastach błony maziowej i chondrocytach chrząstki stawowej, a także bierze udział w aktywacji osteoklastów, co w konsekwencji prowadzi do postępującego uszkodzenia chrząstki stawowej, resorpcji kości i powstawania nadżerek. Czynnikiem martwicy nowotworu indukuje ekspresję białek adhezyjnych przez co wpływa na adhezję i migrację neutrofilów oraz monocytów, a poprzez układ integryn pobudza procesy angiogenezy, które są bardzo istotne w procesie proliferacji ziarniny reumatoidalnej. Cytokina ta stymuluje syntezę prostaglandyny E i wytwarzanie licznych cytokin, głównie IL-1 i GM-CSF, a pobudzając fibroblasty może przyspieszać procesy włóknienia w obrębie stawów [6,25,35,46] (tabela 1).

TNF- α działa na wczesnych etapach r.z.s. a zablokowanie jego aktywności mogłoby przerwać postęp choroby. Inaktywacja tej cytokiny zmniejsza aktywność doświadczalnego zapalenia stawów u myszy, zmniejsza wytwarzanie cytokin, hamuje odpowiedź ostrej fazy, migrację granulocytów, zmniejsza ekspresję białek adhezyjnych, obniża syntezę metaloproteinaz (MMP-1 i MMP-3) i zmniejsza unaczynienie błony maziowej. Wszystkie dane dotyczące roli TNF- α w r.z.s. zostały wykorzystane do stworzenia innowacyjnej metody leczenia tego schorzenia. Jest to tzw. terapia biologiczna, wykorzystująca inhibitory cytokin lub przeciwciał skierowanych przeciwko czynnikom komórkowym [21,25,46].



Tabela 1. Rola TNF- α w procesach zapalnych

Kość - osteoklast	Resorpcja kości
Monocyt	Pobudzenie wytwarzania cytokin
Komórka B	Pobudzenie wytwarzania przeciwciał
Komórka T	Pobudzenie wytwarzania IL-2, IFN- γ i innych cytokin
Tkanka łączna	Pobudzenie wytwarzania kolagenazy i INF- β
Naczynia	Stymulacja wytwarzania cytokin, indukcja ekspresji białek adhezyjnych, pobudzenie procesu angiogenezy
Ośrodkowy układ nerwowy	Gorączka, senność
Wątroba	Pobudzenie białek ostrej fazy
Tkanka tłuszczowa	Hamowanie aktywności lipazy lipoproteinowej
Tkanka mięśniowa	Proteoliza

Limfocyty Th1 (wytwarzające takie cytokiny jak IL-2, IFN- γ czy TNF- α biorą udział w powstawaniu chorób autoimmunizacyjnych, takich jak reumatoidalne zapalenie stawów czy stwardnienie rozsiane. Komórki te uczestniczą w aktywacji makrofagów i powstawaniu procesu zapalnego. Natomiast wydaje się, że limfocyty Th2 (wytwarzające IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) działają zabezpieczająco przed rozwojem wyżej wymienionych chorób [6, 45].

Nadmierna aktywacja układu odpornościowego przebiegająca ze zwiększonym wydzielaniem IL-2, jednej z głównych cytokin odpowiedzi immunologicznej, jest charakterystyczna dla większości chorób autoimmunizacyjnych. U pacjentów z chorobami autoimmunizacyjnymi zaobserwowano podwyższony poziom tej cytokiny, wzrost komórek mających receptor IL-2, a także wzrost stężenia w surowicy rozpuszczalnego receptora IL-2. Ten ostatni parametr, będący miarą pobudzenia limfocytów T, jest nawet stosowany do monitorowania aktywności procesu chorobowego w takich schorzeniach, jak reumatoidalne zapalenie stawów czy twardzina układowa. IL-2 jest cytokiną mogącą odbudować odpowiedź autoreaktywnych limfocytów T, znajdujących się w stanie anergii. Może wywołać zaostrzenie istniejącego procesu autoimmunologicznego lub indukować nowy.

U niektórych pacjentów z r.z.s. genetycznie uwarunkowany niedobór α 1-antytrypsyny może się przyczyniać do niszczenia kości przez enzymy proteolityczne blokowane w zdrowiu przez α 1-antytrypsynę.

Podobieństwo między antygenami drobnoustrojów i autoantygenami organizmu człowieka sprawia, że nawet łagodna infekcja w sprzyjających warunkach może doprowadzić do rozwoju reakcji krzyżowej. Dla niektórych zakażeń bakteryjnych charakterystyczne jest występowanie reakcji krzyżowej między antygenami bakteryjnymi a antygenami HLA gospodarza. Taki związek zaobserwowano między antygenami *Proteus mirabilis* i podobnymi strukturalnie HLA-DR4 w reumatoidalnym zapaleniu stawów.

Można przeprowadzić podział autoantygenów na powszechnie występujące oraz autoantygeny o ograniczonym umiejscowieniu. Do pierwszej grupy zalicza się między innymi składniki jądra komórkowego, takie jak DNA, histony, RNA, antygeny Ro i La, rybonukleoproteiny, polimerazę kwasu rybonukleinowego. Odpowiedź przeciwko tym autoantygenom w postaci wytwarzania przeciwciał jest charakterystyczna dla chorób tkanki łącznej, ta-

kich jak r.z.s. U pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów w wyniku niszczenia chrząstki stawowej dochodzi do uwalniania jej składników, na przykład kolagenu typu II. Powstające wówczas przeciwciała skierowane przeciwko kolagenowi II są więc typowym przykładem zjawiska wtórnego wobec destrukcji tkanki w przebiegu procesu autoimmunologicznego.

W ciągu ostatnich lat dokonano postępu w badaniach nad budową i funkcją receptora mannozowego (MR), będącego składnikiem wrodzonej odpowiedzi immunologicznej [42]. Pełni on ważną rolę w rozpoznawaniu patogenów i bierze udział w ich fagocytozie, co w konsekwencji prowadzi do rozwoju swoistej odpowiedzi immunologicznej. Wykazuje pewną swoistość, mianowicie rozpoznaje łańcuchy oligosacharydowe złożone z reszt mannozy, fukozy i N-acetyloglukozaminy i jest obecnie najlepiej poznanym receptorem.

Receptor mannozowy należy do rodziny lektyn zależnych od wapnia (C-type lectins, calcium-dependent lectins), do której należą również białka wiążące mannozę i inne kolektyny (zewnątrzkomórkowe białka składające się z 10–18 polipeptydów). MR jest multilektyną, podobnie jak receptor fosfolipazy A2, receptor komórek dendrytycznych (DEC-205) i multilektynowy receptor podobny do MR. Wszystkie receptory należące do multilektyn mają podobną budowę. MR jest białkiem błonowym o masie cząsteczkowej 175 kDa. Ma pięć domen: region bogaty w reszty cysteiny, domenę zawierającą powtórzenie fibronektyny typu II, osiem tandemowo leżących domen rozpoznających węglowodany (CRDs – carbohydrate recognition domains), domenę przezbłonową i cytoplazmatyczną domenę C-kończącą [28,42]. Domenami zawierającymi reszty niezbędne do wiązania liganda i wapnia są CRD 4 i CRD 5. Receptor najsilniej wiąże rozgałęzione oligosacharydy zawierające mannozę, znacznie słabiej natomiast liniowe oligosacharydy czy monosacharydy. Lektyny zależne od wapnia i wiążące mannozę charakteryzują się obecnością aminokwasów EPN. Sekwencja ta umożliwia rozpoznanie heksoz, które mają ekwatorialnie umiejscowione grupy hydroksylowe przy węglu C3 i C4, czyli mannozy, fukozy, N-acetyloglukozaminy i glukozy. MR rozpoznaje również siarczanowe pochodne glikoprotein, takie jak lutropina i tyreotropina, a także neoglikoproteiny zakończone SO4-4GalNAc β 1, 4GlcNAc β 1. W rozpoznaniu glikoprotein zawierających siarczanowe pochodne cukrów jest najprawdopodobniej zaangażowana domena bogata w reszty cysteinowe [28]. MR rozpo-

znaje wiele bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych, drożdży, pasożytów i prątków. Ekspresja MR jest regulowana. Początkowo sądzono, że jego ekspresja jest ograniczona do makrofagów tkankowych, obecnie wiadomo, że MR występuje w niedojrzałych komórkach dendrytycznych, komórkach śródbłonkowych, komórkach mięśni gładkich tchawicy, nabłonka pigmentowego siatkówki, komórkach mezangialnych nerki i komórkach mięsaka Kaposiego. Ekspresja MR na komórkach szpikowych jest zależna od oddziaływania pomiędzy czynnikiem transkrypcyjnym PU.1 (bądź innymi członkami rodziny ets) i SP1. Ekspresja MR jest modulowana przez receptory immunoglobulinowe, cytokiny, patogeny i ich produkty, także inne czynniki. Jednym z najlepiej scharakteryzowanych modulatorów ekspresji MR jest IFN- γ . Podczas aktywacji makrofagów IFN- γ liczba transkryptów mRNA MR maleje, maleje również liczba receptorów, chociaż powinowactwo receptora nie zmienia się. Ulegają jednak zmianie funkcjonalne właściwości receptora pod wpływem działania IFN- γ – nasila się fagocytoza zależna od MR, podczas gdy endocytoza jest osłabiona. IL-4 również zwiększa wydajność fagocytozy.

Jest możliwe, że w miejscach stanu zapalnego, gdzie obie te cytokiny są obecne, przyspieszone jest usuwanie bakterii i przebudowa tkanki. MR może być również receptorem przekazującym sygnał uruchamiający różne odpowiedzi, np. wydzielanie mediatorów, enzymów lizosomalnych, wytwarzanie cytokin i modulacja innych receptorów powierzchniowych.

MR uczestniczy w niszczeniu antygenów na trzy sposoby. Po pierwsze MR bierze udział w endocytozie. W makrofagach i niedojrzałych DCs MR jest prawie całkowicie wewnątrz aparatu endocytarnego. Receptory te krążą stale od powierzchni komórki poprzez aparat endocytarny, wiążąc ligandy w obojętnym pH i oddysocjując w obniżonym pH endosomów. Droga MR podczas fagocytozy jest mniej poznana. W niedojrzałych DCs MR bierze udział w internalizacji antygeny i dostarczeniu go do przedziałów MHC klasy II. Z kolei w dojrzałych DCs zdolność MR do endocytozy jest mniejsza. Przypuszcza się, że rola MR polega w tym przypadku jedynie na związaniu antygeny. Następnie antygen z odciętym fragmentem receptora jest kierowany do narządów limfoidalnych, które mają ligandy rozpoznawane przez domenę bogatą w reszty cysteiny. Zjawisko to zaobserwowano w makrofagach. Trzeci sposób prezentacji antygeny zachodzi z udziałem CD1b. MR wraz z CD1b pełni istotną funkcję w obróbce glikolipidów prątków. Przypuszcza się, że MR dostarcza glikolipidy do cząsteczek CD1b [28]. Receptor mannozowy na makrofagach odgrywa bardzo ważną rolę we wrodzonej odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciwko różnym patogenom. Przyczyna braku odporności immunologicznej na nowotwory częściowo jest związana z aktywnością tego receptora. W przypadku niektórych antygenów związanych z nowotworem (glikoprotein, w których do rdzenia białkowego, na całej jego długości, przyłączone są liczne łańcuchy cukrowe) brak jest swoistej odpowiedzi przeciwnowotworowej ze strony limfocytów Th. Ze względu na złożoną budowę części cukrowej tych antygenów, wiążący je receptor mannozowy zostaje usieciowany, co uniemożliwia dysocjację kom-

pleksu receptor-ligand we wczesnym endosomie. Pochłonięta za pośrednictwem endocytozy glikoproteina nie jest transportowana do późnego endosomu i powraca wraz z receptorem na powierzchnię komórki, gdzie dochodzi do jej uwolnienia [24].

W ostatnich latach prowadzono liczne badania zmierzające do wykorzystania endocytozy warunkowanej aktywności receptora mannozowego w celu uzyskania określonego efektu terapeutycznego. Prawie każda umannozylowana struktura jest rozpoznawana przez MR. Pozwala to na wprowadzenie do organizmu – za pośrednictwem endocytozy, związków terapeutycznych, takich jak metotreksat stosowany u pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów.

LECZENIE

Obraz kliniczny r.z.s. jest uwarunkowany toczącym się w tkankach procesem zapalnym. W okresie rozwoju choroby dominującymi objawami są ból i obrzęk stawu, uważane za kryterium aktywności choroby, oraz upośledzenie funkcjonowania stawu w wyniku zniszczenia jego struktury przez proces zapalny. Ponieważ etiologia r.z.s. nie jest do końca poznana, wszystkie próby leczenia r.z.s. sprowadzają się do poszukiwania najskuteczniejszego sposobu zablokowania reakcji immunologicznozapalnej.

Wyróżnia się następujące grupy leków:

- modyfikujące objawy choroby: niesteroidowe leki przeciwzapalne (n.l.p.z.) i kortykosteroidy,
- modyfikujące przebieg choroby: niecytotoksyczne i cytotoksyczne (l.m.p.ch.),
- kontrolujące przebieg choroby [41].

Dotychczasowe schematy leczenia, tzw. piramidy terapeutyczne, zalecały stosowanie niesteroidowych leków przeciwzapalnych (n.l.p.z.) przez długi okres trwania choroby, natomiast leki modyfikujące przebieg choroby (l.m.p.ch.), takie jak metotreksat, sulfasalazyna, sole złota, wprowadzano do leczenia dopiero po stwierdzeniu w stawach nadżerek.

Stosowanie niesteroidowych leków przeciwzapalnych (n.l.p.z.) i kortykosteroidów jest leczeniem wspomagającym, mającym na celu zmniejszenie bólu i obrzęku stawów. Leki te mają właściwości przeciwbólowe i przeciwzapalne natomiast nie wpływają na przebieg choroby i nie hamują procesu destrukcji stawów. Do tej grupy leków należy m.in.: kwas acetylosalicylowy, indometacyna, diklofenak czy ibuprofen. Ich stosowanie wiąże się z występowaniem wielu działań niepożądanych. Mogą to być zaburzenia żołądkowo-jelitowe, odczyny alergiczne, zaburzenia pracy szpiku (i w rezultacie np. niedokrwistość), zaburzenia pracy układu nerwowego (bóle i zawroty głowy). Niekiedy n.l.p.z. wywołują krwawienia z przewodu pokarmowego oraz wrzody żołądka i dwunastnicy.

LEKI MODYFIKUJĄCE PRZEBIEG CHOROBY

Obecnie leki modyfikujące przebieg choroby (l.m.p.ch.) są lekami podstawowymi w leczeniu reumatoidalnego zapalenia stawów. Nie wszystkie prowadzą do zahamowa-



nia postępu zmian radiologicznych. Niektóre powodują zmniejszenie klinicznych objawów choroby i zahamowanie destrukcji stawów. Działanie leków z tej grupy można scharakteryzować w następujący sposób:

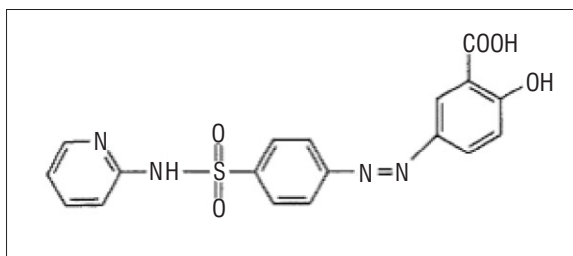
- hamujące wytwarzanie, uwalnianie lub aktywność cytokin i mediatorów zapalenia,
- hamujące aktywność komórek efektorowych,
- hamujące aktywność i/lub proliferację komórek odpowiedzi immunologicznej.

W doborze l.m.p.ch. należy uwzględnić skuteczność leku (eliminacja objawów zapalenia), łatwość w stosowaniu leku i obserwacji leczenia, średni okres uzyskania odpowiedzi na leczenie, wystąpienie działań niepożądanych, a także koszty leku.

Lekiem stosowanym w przypadku r.z.s. są sole złota. Dostępne są dwa preparaty złota: sól złotawa 1-tioglikozy w postaci olejowej o nazwie Solganal B oleosum oraz sól sodowa kwasu aurotiojabłkowego w roztworze wodnym jako preparat Tauredon. Wykazują one dużo większą skuteczność przy podawaniu parenteralnym niż doustnym. W hodowlach komórek jednojądrzastych krwi obwodowej hamują one proliferację limfocytów oraz wytwarzanie i uwalnianie IL-1, TNF- α i IL-8, a także cytokin o aktywności chemotaktycznej - IL-8, MCP-1 i IL-2. Podobnie jak metotreksat zmniejszają ekspresję białek adhezyjnych na granulocytach i komórkach nabłonka naczyńowego, hamują migrację monocytów i fagocytozę makrofagów oraz upośledzają angiogenezę. Średni czas odpowiedzi na leczenie solami złota wynosi około 6 miesięcy. Jednak stosowanie ich może powodować wystąpienie proteinurii, zmian skórnych oraz zmian we krwi (trombocytopenia, leukopenia, anemia) [38].

Sulfasalazyna (kwaśny związek azowy kwasu 5-aminosalicylowego) zmniejsza objawy zapalenia stawów (ryc. 1). Stosowana jest głównie u chorych z wczesną postacią choroby oraz małą lub umiarkowaną aktywnością [9]. Opóźnia postęp zmian radiologicznych jednak nie hamuje ich wystąpienia. Wykazuje działanie przeciwzapalne i przeciwbakteryjne oraz wpływa na czynność granulocytów obojętnochłonnych i limfocytów. Hamuje również syntezę prostaglandyn i leukotrienów. Odpowiedź na leczenie występuje po 3 miesiącach. Lek ten jest dobrze tolerowany a działania niepożądane jego stosowania, takie jak uszkodzenie szpiku, niedokrwistość hemolityczna, wysypka, zapalenie wątroby, białkomocz lub objawy ze strony przewodu pokarmowego, są bardzo rzadkie. Przeciwwskazaniem do stosowania sulfasalazyny jest nadwrażliwość na salicylany i sulfonamidy oraz porfiria [39] (ryc. 1).

D-penicylamina (chlorowodorek D-3-merkaptowaliny) jest metabolitem penicyliny [1]. Mechanizm działania tego leku polega na chelatowaniu miedzi i innych metali, które wiążą się z grupą SH. Usuwanie nadmiaru miedzi z organizmu oraz powstawanie wielkocząsteczkowego kompleksu miedź-D-penicylamina o aktywności dysmutazy nadtlenków wskazują na działanie przeciwzapalne w reumatoidalnym zapaleniu stawów. Lek ten jest ostatnio coraz rzadziej podawany chorym ze względu na wywoływane objawy niepożądane, takie jak: uszkodzenie



Ryc. 1. Sylfasalazyna – lek modyfikujący przebieg choroby [52]

szpiku, objawy ze strony przewodu pokarmowego, wysypki skórne, zapalenie mięśni, narastające zapalenie drobnych oskrzeli, włóknienie tkanki płucnej i inne [1, 52].

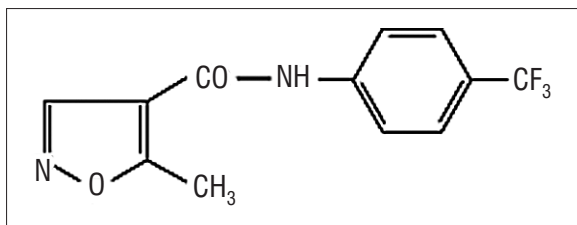
Chlorochina i hydroksychlorochina są lekami przeciwzłotymi [43]. Bardzo szybko są wchłaniane i silnie wiążą się z białkami osocza. Chlorochina jest selektywnie wychwytywana przez poszczególne tkanki – wiąże się z tkanką wątroby, płuc, nerek, serca i mięśni [15]. Mechanizm działania tych leków nie jest do końca poznany. Wiadomo, że hamują one replikację DNA, wpływają na rozpoznawanie antygenów prezentowanych limfocytom T przez blokowanie antygenów HLA klasy II, tłumią czynność limfocytów B, a co za tym idzie prowadzą do zmniejszenia wytwarzania przeciwciał. Leki te działają ochronnie na chrząstkę. Objawy niepożądane, jakimi są niedokrwistość hemolityczna, zaburzenia przewodu pokarmowego i złogi w rogówce ustępują po przerwaniu leczenia tymi preparatami [39].

Cyklosporyna została wprowadzona do leczenia r.z.s. stosunkowo niedawno w porównaniu z omówionymi lekami. Poprzez blokowanie w cytoplazmie komórek białek transkrypcyjnych, niezbędnych do transkrypcji niektórych genów, hamuje syntezę niektórych cytokin o zasadniczym znaczeniu dla indukcji procesu zapalnego. Hamowane jest głównie wytwarzanie IL-2 oraz receptora tej interleukiny. Cyklosporyna wykazuje dużą toksyczność w stosunku do nerek, dlatego też podczas jej stosowania może wystąpić zwiększone stężenie kreatyniny we krwi. Może ona ograniczać czynność nerek, która jest odwracalna po zaprzestaniu jej stosowania. Cyklosporyna w dużej mierze jest podawana chorym ze źle rokującym r.z.s. [5].

Innym lekiem jest Leflunomid (ryc. 2). Jest to pierwszy antypirymidynowy lek stosowany w terapii r.z.s. [16]. Jego działanie przeciwzapalne nie jest do końca poznane, ale wiadomo, że jego aktywny metabolit hamuje dihydrogenazę dihydrooratanową, która jest niezbędna do wytwarzania wszystkich zasad pirymidynowych. Ilość wewnątrzkomórkowych zasad pirymidynowych maleje i w związku z tym następuje obniżenie syntezy i proliferacji immunocytów. Skuteczność leku jest porównywalna ze skutecznością metotreksatu. Stosowany jest u chorych z nietolerancją MTX. Zmniejsza aktywność kliniczną choroby i opóźnia postęp nadżerek stawowej. Leflunomid jest podawany także w terapii skojarzonej z MTX [13]. Przeciwwskazaniem do stosowania tego leku są choroby wątroby, zaawansowany wiek chorego oraz zespół niedoborów immunologicznych. Jest on silnym tera-

Tabela 2. Właściwości inhibitorów TNF- α [25]

	Etanercept	Infliximab	Adalimumab
Budowa cząsteczki	Białko fuzyjne Fc IgG1-p75 TNF- α R	Chimeryczne przeciwciała anti- TNF- α	Ludzkie przeciwciała anti- TNF- α
Właściwości	Neutralizuje LTa (limfotoksyna- α), nie wiąże dopełniacza, kompleksy z TNF- α dysocjują w obecności TNF- α lub TNF- α R	Powoduje lizę komórek TNF- α , wiąże dopełniacz, tworzy stabilne kompleksy z TNF- α	Obniża stężenie surowicze prekursorów metaloproteinaz-pro-MMP-1 i pro-MMP-3
Jednoczesne podawanie MTX	Niewymagane	Wymagane	Niewymagane
Indukcja przeciwciał	3% (nieneutralizujące)	8–13% (w terapii skojarzonej z MTX)	Niewielka immunogenność

**Ryc. 2.** Leflunomid – syntetyczny inhibitor pirymidynowy

togenem dlatego też jego stosowanie jest tak bardzo ograniczone.

Duży postęp w rozwoju nowej koncepcji – terapii biologicznej, leczenia reumatoidalnego zapalenia stawów przyniosło poznanie roli mechanizmów immunologicznych i poszczególnych czynników w patogenezie choroby. Zastosowanie swoistych inhibitorów czynnika martwicy nowotworu (TNF- α) pozwala na znaczną poprawę wyników leczenia [25,27].

W leczeniu reumatoidalnego zapalenia stawów stosuje się obecnie dwa leki będące inhibitorami TNF- α . Są to etanercept [48,36,34] i infliximab [31]. W końcowej fazie badań klinicznych są jeszcze D2E7 (adalimumab), a także lek będący połączeniem wysokocząsteczkowego glikolu polietylenowego z rozpuszczalnym receptorem dla TNF- α typu I. Wszystkie te leki mają podobny mechanizm działania, jakim jest inhibicja TNF- α , jednak różnią się pod względem właściwości [21].

Etanercept jest białkiem fuzyjnym, powstałym z połączenia dwóch cząsteczek: zewnątrzkomórkowej domeny receptora dla TNF- α typu II (p750) z fragmentem Fc ludzkiej immunoglobuliny G1 [2,34–36,48]. Adalimumab i infliximab są przeciwciałami monoklonalnymi o swoistości anti-TNF- α . Pierwszy z nich jest całkowicie ludzkim natomiast drugi chimerycznym (ludzkim i mysim – 25%). Leki te różnią się drogą i częstością podawania, a także pod względem farmakodynamiki – infliximab indukuje lizę komórek z powierzchniową ekspresją TNF- α i tworzy z TNF- α stabilne kompleksy [31,32]. Natomiast etanercept słabiej wiąże TNF- α (połączenia dysocjują w obecności wyższych stężeń TNF- α lub rozpuszczalnych receptorów TNF- α , a wiązanie leku z TNF- α na powierzchni komórki nie prowadzi do jej lizy. Infliximab i etanercept różnią się immunogennością: etanercept indukuje powstanie przeciwciał u 3% leczonych, a infliximab – u 8–13%. Ada-

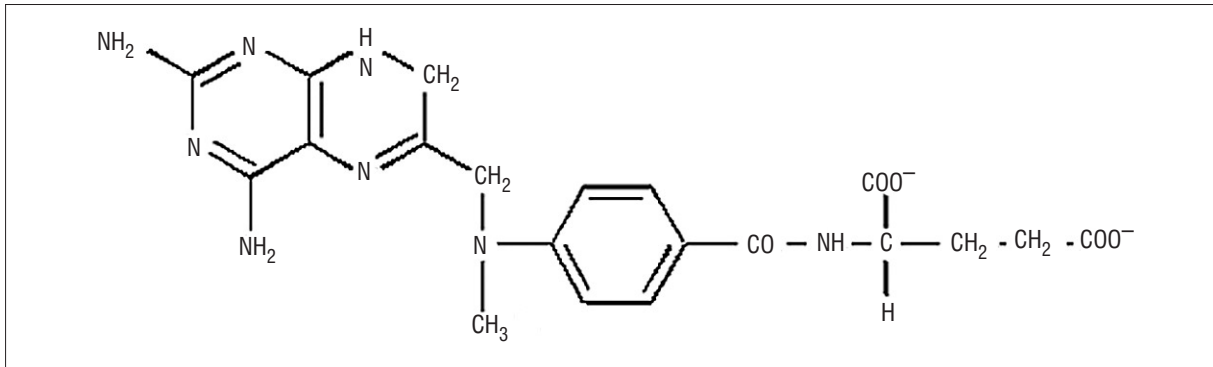
limumab ma niewielką immunogenność. Porównanie omówionych leków zestawione jest w tabeli 2.

Inhibitory TNF- α są pierwszymi lekami, które pozwalają na długotrwałe i w miarę pełne opanowanie zapalenia w przebiegu r.z.s. Oprócz leków „biologicznych” pojawiają się także małowcząsteczkowe inhibitory TNF- α , takie jak: NPI-1302a-3 (TTL 3) – małowcząsteczkowy, swoisty i pozbawiony immunogenności inhibitor syntezy TNF- α i IL-1.

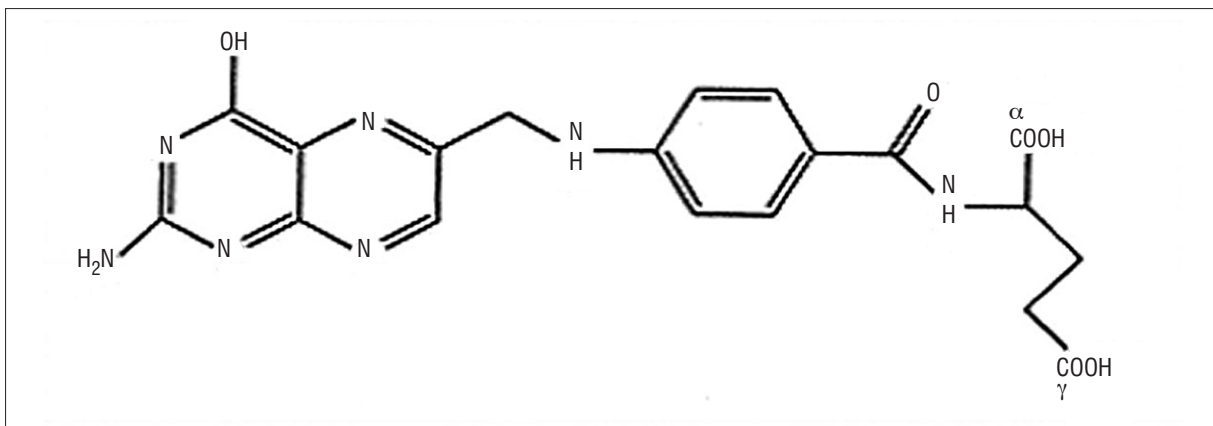
Dużym przełomem w leczeniu r.z.s. było zastosowanie metotreksatu (ryc. 3) [29–33,49,50]. Obecnie jest on uważany za lek pierwszego rzutu. Metotreksat jest analogiem strukturalnym kwasu foliowego (ryc. 4). Początkowo był wykorzystywany jako antagonistą folianu w terapii przeciwnowotworowej, później zastosowano go w leczeniu łuszczycy, a obecnie jest używany także w r.z.s. [47]. Stosuje się go w dawkach powyżej 9 mg na tydzień i jest ona wystarczająca do uzyskania poprawy.

Jednak w niektórych przypadkach maksymalną reakcję terapeutyczną uzyskuje się dopiero przy zastosowaniu dawki 15–25 mg na tydzień. Dodatkowa suplementacja kwasem foliowym (1 mg na tydzień) zapobiega objawom niepożądanym ze strony przewodu pokarmowego, łysieniu, zapaleniu dziąseł oraz objawom hematologicznym, bez jednoczesnego zmniejszenia działania leku. Początek działania metotreksatu wynosi około 4–8 tygodni od chwili jego zastosowania. Metotreksat hamuje wytwarzanie i uwalnianie IL-1 w hodowlach komórek jednojądrzastych krwi obwodowej, a także obniża stężenie IL-6 we krwi osób leczonych [6]. Zmniejszając stężenie IL-1 pośrednio zmniejsza wytwarzanie metaloproteinaz w fibroblastach. Zmniejsza on syntezę nadtlenu przez granulocyty i ekspresję białek adhezyjnych na tychże komórkach. Lek ten hamuje proliferację limfocytów w hodowlach komórek jednojądrzastych krwi obwodowej. Przeciwwskazaniem do stosowania MTX są choroby wątroby, uszkodzenie nerek, choroby płuc oraz nadużywanie przez pacjenta alkoholu [44]. Mimo małych dawek metotreksat wciąż hamuje wzrost komórek, czego konsekwencją są objawy niepożądane, takie jak zapalenie jamy ustnej i leukopenia [20,22,23]. Lecniczne działanie metotreksatu w r.z.s. polega prawdopodobnie na hamowaniu reakcji metylacji i stymulowaniu uwalniania adenozyliny. Inhibicja reakcji metylacji wyjaśnia hamujące działanie metotreksatu na wytwarzanie cytokin, z kolei uwolnienie adenozyliny z komórek tkanki łącznej, w wyniku hamowania





Ryc. 3. Metotreksat



Ryc. 4. Kwas foliowy

transformylazy 5-aminoimidazo-4-karbonsamidyrybonukleotydowej, jest wystarczające do zablokowania adhezji neutrofilów. Na mysim modelu zapalenia *in vivo* wykazano, że uwolnienie adenozyiny indukowane metotrekstatem jest wystarczające do zahamowania akumulacji leukocytów [2,4,8,11,17].

Immunosupresyjne i przeciwzapalne działania metotretksatu są związane z hamowaniem enzymów zależnych od folianu przez pochodne poliglutaminianowe, lub pośrednio z uwolnieniem adenozyiny i/lub apoptozą i delecją klonalną zaktivowanych limfocytów krwi obwodowej w fazie S. Zmniejsza on również aktywność IL-1 i IL-6, i w pewnym stopniu ich syntezę oraz poziom krążącego receptora dla IL-2 [51]. Głównym celem działania MTX jest reduktaza dihydrofolianowa. MTX ma również wpływ na syntezę rybonukleotydów purynowych i deoksyrybonukleotydów pirymidynowych przez blokowanie transformylazy i syntetazy tymidylanowej. Wciąż trwa dyskusja nad mechanizmem, za pomocą którego MTX moduluje zapalenie w r.z.s.. Opisywano wiele różnych skutków komórkowych i humoralnych wyjaśniających przeciwzapalne właściwości MTX. Między innymi wpływ MTX na proliferację i syntezę przeciwciał w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej. Szeroko akceptowany mechanizm działania małych dawek MTX w r.z.s. opiera się na hipotezie, że MTX działa przeciwzapalnie przez pośredniczenie w uwalnianiu adenozyiny. Źródłem ze-

wnątrkomórkowej adenozyiny są nukleotydy adeninowe, uwalniane w wyniku nekrozy komórek, do której pośrednio przyczynia się akumulacja AICA rybotydów. Niedawno zaproponowano, że właściwości immunosupresyjne małych dawek MTX mogą być również związane z indukcją apoptozy w zaktivowanych komórkach T. Taka selektywna podatność zaktivowanych komórek T na MTX u pacjentów z r.z.s. może prowadzić do delecji klonalnej.

Monoterapia l.m.p.ch jest jednak mało skuteczna i bardzo źle tolerowana przez pacjentów przy długotrwałym stosowaniu (średni okres stosowania monoterapii, poza metotrekstatem wynosi prawie 2 lata). Zmniejsza ona objawy zapalenia oraz liczbę bolesnych i obrzękniętych stawów jednak nie zapobiega progresji zmian destrukcyjnych stawów [25].

Bardzo ważną rolą w leczeniu r.z.s. odgrywa leczenie skojarzone z dwoma lub trzema lekami modyfikującymi przebieg choroby. Prowadzone badania kliniczne wykazały i potwierdziły znaczne zahamowanie postępu choroby, podczas stosowania leczenia skojarzonego w porównaniu z monoterapią [26,37,40]. Jedną z metod leczenia skojarzonego jest stosowanie metotretksatu z cyklosporyną. Jest ona bardziej skuteczna niż stosowanie tylko metotretksatu. Połączenie obu leków wykazuje jednak bardzo dużą nefrotoksyczność i nie może być stosowane u większości chorych. Innym leczeniem jest połączenie meto-

treksatu z sulfasalazyną i hydroksychlorochiną [39]. Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że połączenie tych trzech leków jest skuteczniejsze niż stosowanie MTX z sulfasalazyną i MTX z hydroksychlorochiną, bez wzrostu objawów niepożądanych [19].

W prowadzonych przez nas badaniach dążyliśmy do otrzymania wolnych od pirogenów, nieposieciowanych chemicznie koniugatów zawierających metotreksat i nośnik. Koniugat ten zawierał przyłączone hapteny cukrowe rozpoznawane przez receptory mannozy, znajdujące się na makrofagach.

Aby to zrealizować metotreksat przeprowadzono w pochodną aktywnego estru a następnie sprzęgnięto z nośnikiem MTX, zawierającym dwie równocenne grupy kar-

boksyłowe. Przeprowadzając reakcje nawet przy znacznym niedomiarze czynników aktywujących, uzyskuje się populację cząsteczek z aktywowanymi dwiema grupami karboksylowymi. Prowadzi to do otrzymania posieciowanego i zagregowanego preparatu. Aby wyeliminować sieciowanie białka opracowaliśmy metodę umożliwiająca otrzymanie MTX z aktywowaną jedną grupą karboksylową. Otrzymane w ten sposób koniugaty nośnik – (mannoza) N – (MTX)m nie zawierały posieciowanych makrocząsteczek i były precyzyjnie definiowane. Niezależnie opracowaliśmy również nową oryginalną procedurę sprzęgania białka z aktywowanym lekiem, którą wykorzystamy do otrzymywania preparatów (Zgłoszenie patentowe nr P-352435).

PIŚMIENICTWO

- [1] Baier-Bitterlich G., Schumacher W., Schulz T., Wachter H., Dierich M.P.: Effects of D-penicillamine on human cell lines. *Arzneimittelforschung*, 1993; 43: 395-402
- [2] Bathon J.M., Martin R.W., Fleischmann R.M.: A comparison of etanercept and methotrexate in patients with early rheumatoid arthritis. *N. Engl. J. Med.*, 2000; 343: 1586-93
- [3] Bertolini D.R., Nedwin G.E., Bringman T.S., Smith D.D., Mundy G.R.: Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumor necrosis factor. *Nature*, 1986; 319: 516-18
- [4] Beyeler C., Reichen J., Thomn S.R., Lauterburg B.H., Gerber N.J.: Quantitative liver function in patients with rheumatoid arthritis with low-dose methotrexate: a longitudinal study. *Br. J. Rheumatol.*, 1997; 36: 338-44
- [5] Cardenas M., Zhu D., Heitman J.: Molecular mechanism of immunosuppression by cyclosporin, FK 506 and rapamycin. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens*, 1995; 4: 472-77
- [6] Chang D.M., Weinblatt M.E., Schur P.H.: The effects of methotrexate on interleukin-1 in patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 1992; 19: 1678-82
- [7] Choy E.H., Panayi G.S.: Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N. Engl. J. Med.*, 2001; 344: 907-16
- [8] Clair E.W.: Interleukin-9 treatment for rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 1999; 58(Suppl.1): 99-102
- [9] Connors M.A., Campbell P.L., Volin M.V., Woodruff D.C., Koch A.E.: The effect of sulfasalazine on rheumatoid arthritic synovial tissue chemokine production. *Exp. Mol. Pathol.*, 2002; 73: 84-92
- [10] Cronstein B.N.: Molecular therapeutics. Methotrexate and its mechanism of action. *Arthritis Rheum.*, 1996; 39: 1951-60
- [11] Dolhain R.J.E.M., Tak P.P., Dijkman B.A.C., De Kuiper P., Breedveld F.C., Miltenburg A.M.M.: Methotrexate reduces inflammatory cell numbers, expression of monokines and of adhesion molecules in synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis. *Br. J. Rheumatol.*, 1998; 37: 502-8
- [12] Elliot M.J., Maini R.N., Feldmann M.: Treatment of rheumatoid arthritis with chimeric monoclonal antibodies to tumor necrosis factor alpha. *Arthritis Rheum.*, 1993; 36: 1681-90
- [13] Emery P., Breedveld F.C., Lemmel E.M.: A comparison of the efficacy and safety of leflunomide and methotrexate for the treatment of rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, 2000; 39: 655-65
- [14] Filipowicz-Sosnowska A.: Reumatoidalne zapalenie stawów- współczesne leczenie. *Przewodnik Lekarsza*, 1999
- [15] Fox R.I.: Mechanism of action of hydroxychloroquine as an antirheumatic drug. *Semin. Arthritis. Rheum.*, 1999; 23: 82-91
- [16] Furst D.: Leflunomide, mycophenolic acid and matrix metalloproteinase inhibitors. *Rheumatology*, 1999; 38(Suppl.2): 14-18
- [17] Furst D.E., Koehnke R., Burmeister L.F., Kohler J., Cargill J.: Increasing methotrexate effect with increasing dose in the treatment of resistant rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 1989; 16: 313-20
- [18] Gause A.: Progress in the treatment of rheumatic disease. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2003; 18: 13-16
- [19] Haagsma C.J., van Riel P.L., de Jong A.J., van de Putte L.B.: Combination of sulphasalazine and methotrexate versus the single components in early rheumatoid arthritis: a randomized, controlled, double-blind, 52 week clinical trial. *Br. J. Rheumatol.*, 1997; 36: 1082-88
- [20] Hamilton R.A., Kremer J.M.: Why intramuscular methotrexate may be more efficacious than oral dosing in patients with rheumatoid arthritis. *Br. J. Rheumatol.*, 1997; 36: 86-90
- [21] Harriman G., Harper L., Schaible T.F.: Summary of clinical trials in rheumatoid arthritis using infliximab, an anti-TNF alpha treatment. *Ann. Rheum. Dis.*, 1999; 58(Suppl.1): 161-64
- [22] Hassel A., Dawers P.: Serious problems with rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, 1994; 33: 1001-2
- [23] Herman R.A., Veng-Pedersen P., Hoffman J., Koehnke R., Furst D.E.: Pharmacokinetics of low-dose methotrexate in rheumatoid arthritis patients. *J. Pharm. Sci.*, 1989; 78: 165-71
- [24] Hiltbold E.M., Vlad A.M., Ciborowski P., Watkins S.C., Finn O.J.: The mechanism of unresponsiveness to circulating tumor antigen MUC1 is a block in intracellular sorting and processing by dendritic cells. *J. Immunol.*, 2000; 165: 3730-41
- [25] Hrycaj P., Łącki J.K.: Terapia biologiczna chorób reumatycznych- terażniejszość i przyszłość. *Ordynator Leków*, 2002; 2: 3-12
- [26] Huskisson E.C.: Combination chemotherapy of rheumatoid arthritis. *Br. J. Rheumatol.*, 1987; 26: 243-44
- [27] Kavanaugh A.F.: Anti-tumor necrosis factor-alpha monoclonal antibody therapy for rheumatoid arthritis. *Rheum. Dis. Clin. N. Am.*, 1998; 24: 593-614
- [28] Kocięba M.: Receptor mannozowy. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2001; 55: 759-73
- [29] Kremer J.M., Lee J.K.: The safety and efficacy of the use of methotrexate in long-term therapy for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 1986; 29: 822-31
- [30] Laurindo I.M., Mello S.B., Cossermelli W.: Influence of low doses of methotrexate on superoxide anion production by polymorphonuclear leukocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 1995; 22: 633-38
- [31] Lipsky P.E., Desieree M.F.M. van der Heijde D.M.: Infliximab and methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. *N. Engl. J. Med.*, 2000; 343: 1594-602
- [32] Lipsky P.E., van der Heijde D.M., St Clair E.W.: Infliximab and methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. *N. Engl. J. Med.*, 2000; 34: 1594-602
- [33] Minaur N.J., Jefferiss C., Bhalla A.K., Beresford J.N.: Methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, 2002; 41: 735-40



- [34] Moreland L.W., Schiff M.H., Baumgartner S.W., Tindall E.A., Fleischmann R.M.: Etanercept therapy in rheumatoid arthritis. A randomized, controlled trial. *Ann. Intern. Med.*, 1999; 130: 478-86
- [35] Moreland L.W., Baumgartner S.W., Schiff M.H.: Treatment of rheumatoid arthritis with recombinant human tumor necrosis factor receptor (p75)-Fc fusion protein. *N. Engl. J. Med.*, 1997; 337: 141-47
- [36] Moreland L.W.: Inhibitors of tumor necrosis factor for rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 1999; 26(Suppl. 57): 7-15
- [37] Mottonen T., Hannonen P., Leirisalo-Repo M., Nissila M.: Comparison of combination therapy with single-drug therapy in early rheumatoid arthritis: a randomised trial. *Lancet*, 1999; 353: 1568-73
- [38] Newman P.M., To S.S., Robinson B.G., Hyland V.J., Schrieber L.: Effect of gold sodium thiomalate and its thiomalate component on the *in vitro* expression of endothelial cell adhesion molecules. *J. Clin. Invest.*, 1994; 94: 1864-71
- [39] O'Dell J.R., Haire C.E., Erikson N.: Treatment of rheumatoid arthritis with methotrexate alone, sulfasalazine and hydroxychloroquine, or a combination of all three medications. *N. Engl. J. Med.*, 1996; 334: 1287-91
- [40] Paulus H.E.: The use of combinations of disease modifying antirheumatic agents in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 1990; 33: 113-20
- [41] Pazdur J.: Współczesne możliwości i perspektywy modyfikowania przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów. 1999
- [42] Pontow S.E., Kery W., Stahl P.D.: Mannose receptor. *Int. Rev. Cytol.* 1992; 137B: 221-44
- [43] Sperber K., Quraishi H., Kalb T.H., Panja A., Mayer L.: Selective regulation of cytokine secretion by hydroxychloroquine: inhibition of interleukin-1 alpha and interleukin-6 in human monocytes and T cells. *J. Rheumatol.*, 1993; 20: 803-8
- [44] Steuer A., Keat A.C.: Perioperative use of metotrexate—a survey of clinical practice in the UK. *Br. J. Rheumatol.*, 1997; 36: 1009-11
- [45] Szekanecz Z., Kim J., Koch A.E.: Chemokines and chemokine receptors in rheumatoid arthritis. *Semin. Immunol.*, 2003; 15: 15-20
- [46] Taylor P.C., Peters A.M., Paleolog E.: Reduction of chemokine levels and leukocyte traffic to joints by tumor necrosis factor alpha blockade in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2000; 43: 38-47
- [47] Weinblatt M.E.: Methotrexate in rheumatoid arthritis. *Br. J. Rheumatol.*, 1996; 35: 403-5
- [48] Weinblatt M.E., Kremer J.M., Bankhurst A.D.: A trial of etanercept, a recombinant tumor necrosis factor receptor: Fc fusion protein in patients with rheumatoid arthritis receiving methotrexate. *N. Engl. J. Med.*, 1999; 340: 253-59
- [49] Weinblatt M.E., Trentham D.E., Fraser P.A.: Long-term prospective trial of low-dose methotrexate in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 1988; 31: 167-75
- [50] Weinblatt M.E., Weissman B.N., Holdsworth D.E.: Long-term prospective study of methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis: 84 month update. *Arthritis Rheum.*, 1992; 35: 129-37
- [51] Zembala M., Górski A.: Zarys immunologii klinicznej. Wydawnictwo Lekarskie PZWL Warszawa, 2000, 74-75
- [52] Zimmermann-Górska J.: Choroby reumatyczne. Wydawnictwo Lekarskie PZWL Warszawa, 1993

