

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

BARBARA PEČOVNIK

MAGISTRSKA NALOGA

MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM INDUSTRIJSKA FARMACIJA

Ljubljana, 2017

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

BARBARA PEČOVNIK

**ANALIZA IMUNOMODULATORNIH LASTNOSTI IZBRANIH SKUPIN
ZDRAVILNIH UČINKOVIN**
**ANALYSIS OF IMMUNOMODULATORY PROPERTIES OF SELECTED
CLASSES OF PHARMACEUTICAL DRUGS**

MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM INDUSTRIJSKA FARMACIJA

Ljubljana, 2017

Magistrsko delo sem opravljala na Katedri za farmacevtsko kemijo Fakultete za farmacijo pod mentorstvom izr. prof. dr. Žige Jakopina, mag. farm.

Zahvala

Mentorju izr. prof. dr. Žigu Jakopinu, mag. farm. se iskreno zahvaljujem za izkazano zaupanje, razumevanje ter strokovno pomoč.

Za pomoč in nasvete pri delu se najlepše zahvaljujem tudi Tomažu Bauu in Andreju Artenjaku.

Zahvalila bi se tudi Nini Bilban za pomoč pri slovničnem urejanju.

Zahvaljujem se tudi »izbranim« sošolcem, ki so postali življenski prijatelji, za noro preživeti čas na fakulteti.

I would like to thank also to »meine Mädls« and friends from Schafteanu for all nice words and moral support during writting of this master thesis.

Hvala, Boris, da si me mirno »poslušal« v trenutkih, ki niso bili tako mirni.

Iskrena hvala tudi moji celotni družini, ki so mi tekom študija stali ob strani tako moralno kot finančno.

To magistrsko delo pa posvečam očetu in mami. Hvala, da sta me poznala bolje, kot sem poznala samo sebe, in HVALA, da sta vedno verjela vame.

Izjava

Izjavljam, da sem magistrsko delo samostojno izdelala pod vodstvom mentorja izr. prof. dr. Žige Jakopina, mag. farm.

Barbara Pečovnik

Predsednik diplomske komisije: prof. dr. Odon Planinšek

Član diplomske komisije: izr. prof. dr. Tomaž Vovk

VSEBINA

POVZETEK	III
ABSTRACT	IV
SEZNAM OKRAJŠAV	V
KAZALO SLIK	VII
KAZALO PREGLEDNIC	VII
1. UVOD.....	1
1.1 IMUNSKI SISTEM	1
1.1.1 Naravna (prirojena) imunost.....	1
1.1.2 Pridobljena imunost.....	5
1.2 IMUNOTOKSIČNOST	9
1.2.1 Imunosupresija	11
1.2.2 Imunostimulacija	12
1.2.3 Reakcije preobčutljivosti	12
1.2.4 Imunotoksikološki testi	13
2. NAMEN DELA	15
3. MATERIALI IN METODE	16
4. REZULTATI in RAZPRAVA	17
4.1 PROTIVIRUSNE ZU	17
4.1.1 Antagonisti kemokinskih receptorjev	19
4.1.2 Zaviralci proteaze	19
4.1.3 Inhibitorji reverzne transkripcije	22
4.1.4 Zaviralci RNA polimeraze.....	24
4.2 PROTIBAKTERIJSKE ZU	25
4.2.1 Makrolidi	26

4.2.2	Tetraciklini.....	28
4.2.3	Fluorokinoloni	30
4.3	PROTITUMORNE ZU	34
4.4	NESTEROIDNE PROTIVNETNE ZU (NSAID)	39
4.5	KARDIOVASKULARNE ZU	41
4.6	ANTIDEPRESIVI	45
4.7	ANTIISTAMINIKI.....	49
4.8	ANTIMALARIKI.....	53
4.9	ZAVIRALCI FOSFODIESTERAZE	55
5.	SKLEP.....	58
6.	LITERATURA	60

POVZETEK

Imunski ali obrambni sistem je skupek organov, celic in proteinov, katerih funkcija je ščititi kožo, dihala, prebavni sistem in druge sisteme pred tujimi antigeni. Imunski sistem delimo na nespecifično (prirojeno) ter specifično (pridobljeno) imunost. V imunski sistem se vključujejo različne celice z različnimi funkcijami s ciljem, da izločijo antigene iz telesa. Zaradi izčrpanosti in funkcijskih pomanjkljivosti celic lahko pride do patološkega procesa oz. imunotoksičnosti, ki spremeni odgovor tako na nelastne kot tudi lastne antigene, kar se odraža v povečanju občutljivosti na infekcije, avtoimunske reakcije ali nastanku tumorskih celic. V splošnem delimo imunotoksičnost na direktno, ki je neodvisna od antigena (imunosupresija ali imunostimulacija), in indirektno, ki je odvisna od antigena (reakcije preobčutljivosti). Imunosupresija in imunostimulacija sta v določenih primerih zaželeni procesa, saj se ju lahko izkoristi v terapevtske namene. Veliko zdravilnih učinkovin, katerih primarna indikacija ni delovanje na imunski sistem, izkazuje sekundarne farmakodinamske imunomodulatorne učinke.

V magistrski nalogi smo s pregledom baz podatkov in literature raziskali zdravilne učinkovine, katerih sekundarni farmakološki učinki modulirajo delovanje imunskega sistema. Nadalje smo primerjali koncentracije zdravilnih učinkovin, pri katerih je prišlo do imunomodulatornega učinka, s terapevtskimi koncentracijami, potrebnimi za doseg primarnega učinka. S primerjavo smo dobili vpogled, ali imunomodulatorni učinki v kliničnem okolju, torej pri uporabi standardnih odmerkov zdravilnih učinkovin, sploh pridejo do izraza.

Izsledki magistrskega dela nakazujejo, da so na tržišču številne zdravilne učinkovine s potencialnimi imunomodulatornimi učinki, izraženimi pri njihovih terapevtskih koncentracijah. Primeri so npr. zaviralci proteaze - protivirusne zdravilne učinkovine, makrolidi - protibakterijske zdravilne učinkovine, diklofenak, ki spada v skupino NSAID, statini - kardiovaskularne zdravilne učinkovine, klorokin, predstavnik antimalarikov, ter zaviralci fosfodiesteraze. Veliko od naštetih ima imunomodulatorne učinke, ki bi se lahko uporabili pri terapiji drugih bolezni (npr. rakava obolenja, avtoimunske bolezni), kot je njihova primarna indikacija, vendar je potrebno še veliko *in-vivo* kliničnih študij ter predvsem boljše razumevanje sekundarne farmakodinamike na imunski sistem oz. mehanizem delovanja, ki je v ozadju teh imunomodulatornih učinkov.

ABSTRACT

The immune or defense system protects the bodily systems from foreign antigens by producing the immune response and interacting with organs, tissues, cells and proteins. The immune system is classified into non-specific or innate and specific or adaptive immune system. The immune system includes various cells with different functions, all with the goal of eliminating antigens from the body. Due to exhaustion and functional defects of the cells, a pathological process or immunotoxicity may occur. Immunotoxicity changes the response to self and to nonself-antigens, which is reflected in an increase of infections, autoimmune reactions or formation of tumor cells. Immunotoxicity is classified into direct which is antigen-independent (immunosuppression and immunostimulation) and indirect which is antigen-dependent (hypersensitivity reactions). Immunosuppression and immunostimulation are in some cases needed for therapeutic purposes. Many of the active substances whose primary pharmacodynamics does not affect the immune system have shown immunomodulatory effects. These effects occur due to their secondary pharmacodynamics.

In the scope of this Master's thesis, we review the database and literature of the active substances whose secondary pharmacological effects modulate immune system functions. Furthermore, we have compared the concentrations of the active substances at which an immunomodulatory effect was observed, with the therapeutic concentrations necessary to achieve the primary pharmacological effect. By this comparison, we have gained an insight into the possibility of immunomodulatory effects occurring in clinical setting, that is, when using standard doses of active substances.

The results indicate that there are many active substances on the market with potential immunomodulatory effects expressed in range of their therapeutic concentrations. Some examples are protease inhibitors - antiviral drugs, macrolides - antibacterial drugs, diclofenac from the NSAID group, statins - cardiovascular agents, chloroquine antimalarial agents and phosphodiesterase inhibitors. Many of these active substances have immunomodulatory effects that could be used as their primary indication for the therapy of other diseases (e.g. cancer, autoimmune diseases). To obtain a deeper understanding of the secondary pharmacodynamics of the active substances on the immune system as well as their mechanism of action underlying these immunomodulatory effects, further *in vivo* and clinical studies need to be conducted.

SEZNAM OKRAJŠAV

5-HT	5-hidroksitriptamin; serotonin
APC	antigen predstavitvene celice
ATG	antitimocit globulin
AZT	azidotimidin
BCG	bacil Calmette-Guerin
cAMP	ciklični adenzin monofosfat
CCL	kemokinski ligand
CD4+	T celice pomagalke
CD8+	citotoksične T celice ubijalke
CDC	od komplementa odvisen citotoksični test (Complement dependent Cytotoxicity assay)
CFS	spodbujevalni faktorji rasti kolonij
cGMP	ciklični gvanozin monofosfat
CML	kronična mieloična levkemija
COPD	kronična obstruktivna pljučna bolezen
COX	ciklooksigenaza
CTL	citotoksični T limfociti
CTX	ciklofosfamid
DA	dopamin
DC	dendritične celice
DOX	doksorubicin
FDA	uprava ZDA za hrano in zdravila
FEN	fenfluramin
HAART	protiretrovirusna terapija
HEK	človeške embrionalne ledvične celice
HPA	os hipotalamus-hipofiza-nadledvična žleza
HTLC-1	človeški T-celični limfotropni virus tipa 1
ICAM-1	intracelularne adhezijske molekule tipa-1
IFN	interferon
Ig	imunoglobulin
IL	interlevkin
JNK	c-Jun N-terminalna kinaza

LAK	aktivirana limfokinska celica ubijalka
LFA-1	levkocitna funkcija antigena-1
LPS	lipopolisaharid
MAPK	z mitogeni asociirane protein kinaze
MDA	metilendioksiamfetamin
MDMA	metilendioksimetamfetamin
MTD	največji dopusten odmerek
NA	noradrenalin
NK	celice ubijalke
NO	dušikov oksid
NSAID	nesteroidna protivnetna zdravila
OBRMD	optimalni biološki sprejemljivi odmerki
PBMC	mononuklearne celice periferne krvi
PCB	poliklorirani bifenili
PDE	fosfodiesteraza
PGE2	prostaglandin E2
PHK	poglavitni histokompatibilnostni kompleks
PI	inhibitorji proteaze
PTX	paklitaksel
RT	reverzna transkripcija
RTV	ritonavir
SNS	simpatični živčni sistem
SRBC	ovčji eritrociti
SSRI	selektivni inhibitorji ponovnega privzema
STAT3	aktivator transkripcije 3
T celice	T limfociti
TCA	triciklični antidepresivi
TCR	T celični receptor
TLR	endosomalni tolični receptor
TNF	dejavnik tumorske nekroze
ZDV	zidovudin
ZU	zdravilne učinkovine

KAZALO SLIK

Slika 1: Shematski prikaz fagocitoze tujka z makrofagi.....	2
Slika 2: Test odziva IgM na ovčje eritrocite (prirejeno po 19).....	14
Slika 3: Levo: Aktivacija T celic preko Kv1.3 kanalov Desno: Blokada toka Kv1.3 z različnimi ZU (znižana T celična proliferacija)	43

KAZALO PREGLEDNIC

Tabela I : Pregled nespecifičnih obrambnih mehanizmov prirojene imunosti (1).....	1
Tabela II: Nespecifični mehanizmi za vse tipe obrambnih ovir (4,5,6,7,8,9).....	4
Tabela III: Glavne funkcije človeških protiteles (1).....	7
Tabela IV: Trenutno uporabljeni imunomodulatorji (15, 16).....	9
Tabela V : Primeri imunotoksičnih kemikalij (15).....	10
Tabela VI: Protivirusne ZU, klasificirane glede na njihov mehanizem delovanja, ter njihove terapevtske plazemske koncentracije in običajni odmerki.	17
Tabela VII: Zbrani neželeni učinki na imunski sistem protivirusnih učinkovin	18
Tabela VIII: Imunomodulatorni učinki izbranih PI in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo	20
Tabela IX: Imunomodulatorni učinki zbranih inhibitorjev reverzne transkripcije in koncentracije pri katerih se le-ti pojavljajo.	24
Tabela X: Imunomodulatorni učinki ribavirina in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo	25
Tabela XI: Makrolidi, klasificirani glede na njihov mehanizem delovanja, ter njihove terapevtske plazemske koncentracije in običajni odmerki.	26
Tabela XII: Imunomodulatorni učinki in odmerki makrolidov v dermatologiji (59).....	27
Tabela XIII: Tetraciklini, klasificirani glede na njihov mehanizem delovanja, ter njihove terapevtske plazemske koncentracije in običajni odmerki.	28

Tabela XIV: Imunomodulatorni učinki izbranih tetraciklinov in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo.	29
Tabela XV: Imunomodulatorni učinki in odmerki tetraciklinov v dermatologiji (59).	30
Tabela XVI: Fluorokinoloni, klasificirani glede na njihov mehanizem delovanja, terapevtsko plazemsko koncentracijo in odmerek.....	30
Tabela XVII: Imunomodulatorni učinki zbranih fluorokinolonov in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo.	33
Tabela XVIII: Protitumorne ZU, klasificirani glede na njihov mehanizem delovanja, ter njihove terapevtske plazemske koncentracije in običajni odmerki.	34
Tabela XIX: Imunomodulatorni učinki izbranih protitumornih ZU in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo	35
Tabela XX: NSAID, klasificirane glede na njihov mehanizem delovanja ter njihove terapevtske plazemske koncentracije in običajni odmerki	39
Tabela XXI: Imunomodulatorni učinki NSAID in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo	40
Tabela XXII: Kardiovaskularne ZU, klasificirane glede na njihov mehanizem delovanja ter njihove terapevtske plazemske koncentracije in običajni odmerki.....	41
Tabela XXIII: Imunomodulatorni učinki zbranih kardiovaskularnih ZU in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo.....	44
Tabela XXIV: Antidepresivi, klasificirani glede na njihov mehanizem delovanja ter njihove terapevtske plazemske koncentracije in običajni odmerki.	46
Tabela XXV: Imunomodulatorni učinki izbranih antidepresivov in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo	48
Tabela XXVI: Predstavitev histaminskih tipov receptorjev ter njihovih antagonistov	49
Tabela XXVII: Antihistaminiki, klasificirani glede na njihov mehanizem delovanja ter njihove terapevtske plazemske koncentracije in običajni odmerki.	50
Tabela XXVIII : Imunomodulatorni učinki izbranih antagonistov H1-receptorjev in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo.	52

Tabela XXIX: Antimalariki, klasificirani glede na njihov mehanizem delovanja ter njihove terapevtske plazemske koncentracije in običajni odmerki.	53
Tabela XXX: Imunomodulatorni učinki izbranih antimalarikov in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo	55
Tabela XXXI: Zaviralci fosfodiesteraze, klasificirani glede na njihov mehanizem delovanja ter njihove terapevtske plazemske koncentracije in običajni odmerki.	55
Tabela XXXII: Imunomodulatorni učinki izbranih zaviralcev PDE in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo	57

1. UVOD

1.1 IMUNSKI SISTEM

Imunski ali obrambni sistem je skupek organov, celic in proteinov, katerih funkcija je ščititi kožo, dihala, prebavni sistem in druge sisteme pred tujimi antigeni, kot so mikrobi (bakterije, glive, paraziti), virusi, rakave celice in toksini. Imunski sistem dobro loči med telesu lastnimi in telesu tujimi molekulami. Vsako snov, ki jo imunski sistem prepozna za tujo in izzove imunski odgovor, imenujemo antigen. Imunski sistem sestavljata dve liniji obrambe. Prvo linijo predstavlja naravna (prirojena) imunost, drugo pa specifična (pridobljena) imunost. Prirojena imunost je prvi imunski mehanizem za obrambo pred patogeni in predstavlja hiter imunski odgovor (nespecifičen - nepogojen z antigeni), ki se pojavi v nekaj minutah ali urah po napadu patogenov, vendar nima imunskega spomina. Specifična imunost je na drugi strani pogojena z antigeni in je antigensko specifična, ima pa tudi imunski spomin, ki omogoča gostitelju hitrejši in učinkovitejši imunski odziv pri kasnejšem izpostavljanju istemu antigenu (1, 2).

1.1.1 Naravna (prirojena) imunost

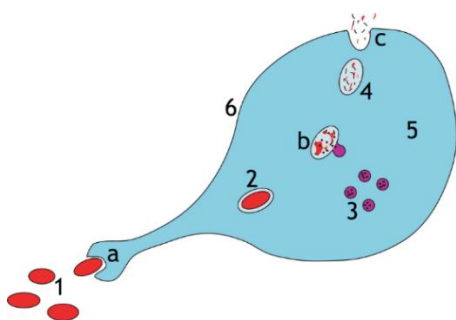
Naravna imunost vključuje anatomske in mehanske ovire, nespecifične baktericidne snovi telesnih tekočin, fagocitozo in znotrajcelično uničenje mikroorganizmov ter različne efektorske mehanizme, na primer vnetje. V tabeli I imamo predstavljene nespecifične obrambne mehanizme prirojene imunosti.

Tabela I : Pregled nespecifičnih obrambnih mehanizmov prirojene imunosti (1).

Ovira		Mehanizem
Anatomska	koža	mehanska ovira za vstop mikrobov
		kislo okolje (pH 3–5) zaustavlja rast mikrobov
	sluznica	normalna flora tekmuje z mikrobi za pritrditvena mesta
		sluz ujame tuje mikrobe
Fizična	temperatura	temperatura/vročina zavira rast nekaterih patogenov
	nizek pH	kisel pH želodca pobije večino neprebavljenih mikrobov

	kemični posredniki	lizosomi cepijo bakterijsko celično steno
		interferoni inducirajo protivirusno obrambo v neokuženi celici
		komplement lizira mikrobe
Fagocitoza/ Endocitoza		različne celice endocitirajo in uničijo tuje makromolekule
		specifične celice (krvni monociti, nevtrofilci, tkivni makrofagi) fagocitirajo in ubijejo ter prebavijo cele organizme
Vnetje		vnetje tkiva in infekcija povzročita otekanje z vaskularno tekočino, ki vsebuje serumski protein s protibakterijskim učinkom, ki povzroči dotok fagocitnih celic na prizadeto območje.

Ena izmed funkcij prirojene imunosti je stimulacija imunskih celic za produkcijo citokinov pri različnih infekcijah. Citokini so skupina regulacijskih proteinov, ki skrbijo za komunikacijo med celicami. Posledica sproščanja citokinov je tvorba protiteles, proteinov in glikoproteinov, ki aktivirajo sistem komplemента. Sistem komplemента je kaskada različnih biokemijskih reakcij, ki prav tako sodeluje pri obrambi organizma pred patogeni. Najpomembnejše posledice aktivacije komplemента so opsonizacija mikrobov, pritegnitev vnetnih celic in neposredno uničenje patogenih mikroorganizmov. Opsonizirani mikrobi postanejo dovzetni za fagocitozo (celični proces odstranjevanja mikrobov) (Slika 1). Prirojena imunost ima tudi funkcijo čiščenja mrtvih celic in kompleksov protiteles ter odstranjevanja tujih snovi, prisotnih v organih, tkivih, krvi ter limfi (1, 2).



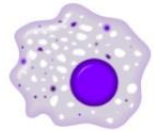

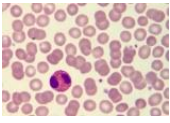
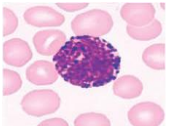
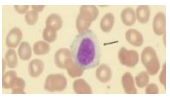
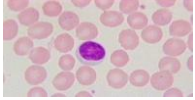
Slika 1: Shematski prikaz fagocitoze tujka z makrofagi: a - prekritje tujka s podaljškom membrane: nastanek fagosoma. b - z zlitjem fagosoma in lizosoma nastane fagolizosom; tujek razgradijo različni encimi iz lizosoma. c - odvečni material je odstranjen ali asimiliran

(sprememba v snovi, lastne organizmu). 1 - tujki, 2 - fagosom, 3 - lizosomi, 4 - odpadni material, 5 - citoplazma, 6 - celična membrana makrofaga (prirejeno po 3).

V sklopu naravnega imunskega sistema kot fagociti delujejo številne celice. Mednje sodijo tkivni makrofagi in nevtrofilci, dendritične celice (DC), mastociti, bazofilci, eozinofilci, celice ubijalke (NK celice) ter limfociti (T celice). Fagociti so razdeljeni v dva glavna celična tipa, na tkivne makrofage in nevtrofilce. Tako kot makrofagi imajo tudi nevtrofilci podobno funkcijo, in sicer požiranje (fagocitiranje) mikrobov. Nevtrofilci so kratkožive celice, ki vsebujejo granule z encimi, ki se sproščajo ter pomagajo pri odstranitvi patogenih mikrobov. Makrofagi pa so dolgožive celice, ki ne igrajo vloge le pri fagocitozi, ampak so vključeni tudi v predstavitev antigena T-celicam. Makrofagi so namreč antigen predstavitvene celice in delujejo kot dopolnilne celice pri aktivaciji T celic. Imenujejo se glede na tkivo, v katerem se razvijejo. Na primer, makrofagi, prisotni v jetrih, se imenujejo Kupfferjeve celice, v osrednjem živčnem sistemu jih imenujemo mikroglijske celice, v pljučih aveolarni makrofagi, v epidermisu kože pa se nahajajo tako imenovane Langerhansove celice, ki potujejo in nosijo predelan antigen lokalnim bezgavkam, medtem pa se diferencirajo v močne imunostimulatorske DC, ki so potrebne za sprožitev odziva (1,2).

DC sicer sodelujejo v fagocitozi, a je njihova poglobljena funkcija, da delujejo kot antigen predstavitvene celice (APCs) ter posredujejo informacije med prirojenim in pridobljenim imunskim sistemom. Mastociti in bazofilci imajo veliko pomembnih funkcij, še posebej pomembna je njihova vloga pri proženju akutnega vnetja (alergije, astma). Mastociti se nahajajo v vezivnih tkivih, obdanih/prepletenih s krvnimi žilami, medtem ko se bazofilci nahajajo v krvnem obtoku. Eozinofilci so granulociti, ki ne sodelujejo le v fagocitozi, ampak imajo pomembno vlogo pri uničevanju parazitov, prevelikih za fagocitozo. NK celice, znane tudi kot veliki granulirani limfociti, pa imajo glavno vlogo pri zavrnitvi in uničenju tumorskih celic ter celic, okuženih z virusi. Celice ubijalke svojo tarčo uničijo tako, da povzročijo apoptozo celic (programirana celična smrt). V tabeli II imamo predstavljene celice, ki sodelujejo v prirojenem imunskem sistemu, in njihove funkcije (1,2).

Tabela II: Nespecifični mehanizmi za vse tipe obrambnih ovir (4,5,6,7,8,9).

Celica	Slika	Odstotek v odraslih	Funkcija	Življenjska doba	Glavne tarče
makrofagi		4–8 %	fagocitoza	meseci – leta	različno (bakterije, virusi, paraziti, glive)
			predstavijo antigen T celicam		
nevtrofilci		40–75 %	fagocitoza	6 ur – nekaj dni	bakterije
			degranulacija		glive
eozinofilci		1–6 %	degranulacija	8–12 dni	paraziti
			sproščanje histamina, encimov, citokinov		različni alergeni
bazofilci		manj kot 1 %	degranulacija		različni alergeni
			sproščanje histamina, encimov, citokinov		
limfociti (T-celice)		20–40 %	celice pomagalke (Th, CD4+) mediatorji imunskega odziva	tedni do leta	Th-celice: znotrajcelične bakterije
			citotoksične celice ubijalke (CD8+) uničenje celice		citotoksične T-celice: virusne okužbe ter tumorske celice
					naravne celice ubijalke: virusne okužbe ter tumorske celice
monociti		2–6 %	izzove imunski odgovor	ure – dnevi	različno (bakterije, virusi, paraziti, glive)

1.1.2 Pridobljena imunost

Pridobljena imunost se razvije v primeru, da je prirojena imunost neučinkovita v izločanju okuženih tujkov in se v telesu že razvije okužba. Primarne funkcije pridobljenega imunskega sistema so prepoznavanje in izločanje specifičnih antigenov v prisotnosti telesu lastnih antigenov. Ena izmed najpomembnejših funkcij je razvoj imunskega spomina, ki omogoča, da ob ponovnem stiku z enakim antigenom imunski sistem hitreje izloči patogene. V pridobljeni imunski sistem so vključene: T-celice, ki se aktivirajo preko delovanja APC, in B-celice (1,2).

T-celice

T-celice izhajajo iz hematopoetskih matičnih celic. Iz kostnega mozga potujejo v priželjc, kjer dozori do popolne imunske zmožnosti. Med zorenjem v priželjcu pridobijo na svoji membrani unikatni receptor za vezavo antigena, tako imenovani T-celični receptor (TCR). Slednji ne prepozna celotnih antigenov, pač pa samo krajše peptide iz razgrajenih antigenov, ki so vezani na proteine poglobitnega histokompatibilnostnega kompleksa (PHK) na površini APC (v glavnem DC, makrofagi, B-celice; pa tudi fibroblasti in epiteljske celice), ki te antigene predhodno prepoznajo (1,2).

Molekule PHK delujejo kot molekule za spoznavanje antigena, vendar niso specifične za posamezen antigen, kot je značilnost protiteles in TCR, temveč vežejo spekter antigenskih peptidov, ki nastanejo pri razgradnji molekule antigena. PHK je velik genski kompleks s številnimi lokusi, ki kodirajo dva poglobitna razreda membranskih molekul:

- Molekule PHK-razreda I (imenovane tudi »Human leukocyte antigen«, tkivni antigeni [HLA] A, B, C) – prisotne na vseh celicah z jedrom.
- Molekule PHK razreda II (imenovane HLA, DP, DQ in DR) – prisotne le na določenih celicah imunskega sistema, kot so makrofagi, dendritične celice in B-celice.

Molekule PHK-razreda I predstavljajo znotrajcelične peptide antigenov endogenega izvora, ki nastajajo znotraj gostiteljske celice (virusni proteini in proteini rakastih celic), medtem ko molekule PHK-razreda II predstavljajo eksogene (ekstracelularne) peptide antigenov, ki izhajajo iz zunanjega okolja celice in vstopijo v celico z endocitozo ali fagocitozo (1, 2).

T-celice se aktivirajo po stiku z APC, ki ima predstavljen antigenski peptid na svoji molekuli PHK, pri čemer kompleks PHK-antigen aktivira TCR, zaradi česar začnejo T-celice izločati citokine, ki sprva nadzirajo imunski odgovor, nato pa se diferencirajo bodisi v citotoksične T-celice (celice ubijalke; CD8+ celice) bodisi v T-celice pomagalke (Th; CD4+ celice). Citotoksične T- (CD8+) celice so primarno vključene v uničenje okuženih celic in se aktivirajo preko interakcije svojega TCR z antigenom, predstavljenim s PHK razreda I. Klonsko širjenje CD8+ proizvaja efektorske celice, ki sproščajo perforin in grancim, ki lizirata tarčno celico, ter granulizin, ki povzroči apoptozo tarčne celice. Večina efektorskih celic po preboleli okužbi odmre in so odstranjene z fagocitozo, nekatere efektorske celice pa se ohranijo kot spominske celice, ki se aktivirajo, kadar ponovno naletijo na enak antigen (1,2).

T-celice pomagalke (Th) pa igrajo pomembno vlogo pri vzpostavljanju in vzdrževanju imunskega odgovora. Te celice sicer nimajo citotoksičnega učinka, kar pomeni, da ne morejo ubiti okužene celice ali samega patogena, vendar sodelujejo pri imunskem odgovoru tako, da usmerjajo ostale celice. T-celice pomagalke se aktivirajo preko TCR, ki je preko peptida povezan z PHK razreda II, in po aktivaciji sprostijo citokine, ki nadalje delujejo na številne celice, vključno z APC, in jih tako aktivirajo (1).

APC v večini primerov povzročijo dva tipa odgovora aktiviranih Th-celic: Th1 ali Th2. Odgovor Th1-celic se odraža s proizvodnjem interferona-gama (IFN- γ), ki močno aktivira makrofage za njihovo baktericidno delovanje. IFN- γ sinergistično deluje z drugimi citokini, ki spodbudijo B-celice za opsonizacijo. Odgovor Th2-celic se odraža s sproščanjem citokinov (interlevkinov 4 (IL-4), IL-5 in IL-13), ki so vključeni v tvorbo imunoglobulinov tipa IgE, ki jih proizvajajo B-celice, ter v aktivacijo mastocitov in eozinofilcov. Mastociti ter eozinofilci so pomembni predvsem pri akutnem vnetnem odzivu (2).

Poseben tip Th-celic so Th17-celice, locirane v koži in sluznici, ki po aktivaciji sproščajo citokine IL-17, IL-21 in IL-22. Sproščeni citokini aktivirajo vnetne signale, ki krepijo odgovor nevtrofilcev v boju proti infekcijam zunajceličnih bakterij (10).

Regulatorne T-celice prav tako uvrščamo med T-celice pomagalke, saj uravnavajo imunski sistem ter preprečujejo pretirane imunske in avtoimunske odzive (2).

B-celice

B-celice nastanejo iz hematopoetskih matičnih celic v kostnem mozgu. Ob dozoritvi zapustijo kostni mozeg in izrazijo unikaten receptor za vezavo antigena na njihovo membrano. V nasprotju s T-celicami lahko B-celice neposredno prepoznajo proste antigene brez prisotnosti APC-celic. Osnovna funkcija B-celic je proizvodnja protiteles proti tujim antigenom. Ob stiku z antigenom se B-celica aktivira, kar privlači pomoč Th-celic, ki začnejo izločati citokine, ti pa pomagajo pri razmnoževanju in dozorevanju B-celic. Te se lahko pretvorijo bodisi v plazmatko, ki začne po nekaj dneh proizvajati protitelesa, ali pa v spominske celice, ki se aktivirajo v prihodnosti, če ponovno naletijo na taisti antigen (pri ponovni okužbi). Izločena protitelesa se pripnejo na antigene, ki se nahajajo na površini patogena, in jih tako označijo za uničenje, nevtralizacijo toksinov, aktivacijo komplementnega sistema, sproščanje opsonina za fagocitozo in izločanje patogena iz telesa (2). B-celice proizvajajo pet tipov imunoglobulinov ali protiteles, ki jih razvrstimo na podlagi antigenskih lastnosti njihovih težkih verig v tip IgA (imunoglobulin A), IgD, IgE, IgG ter IgM. Imunoglobulini so velike globularne beljakovine, ki imajo po en par lahkih in en par težkih verig. Vsako od naštetih protiteles ima različno biološko funkcijo za prepoznavanje in nevtraliziranje specifičnih patogenov (tabela III) (1). Spominske celice, ki ostanejo v sistemu tudi po okužbi, pa nadaljujejo izražanje receptorjev za vezavo na antigen. Te celice se pri vnovični okužbi z enakim antigenom odzovejo hitro in ga odstranijo. Plazmatke na drugi strani ne izražajo receptorjev za vezavo na antigen, ampak so kratkožive celice, ki so podvržene apoptozi, ko so povzročitelji imunskega odgovora odstranjeni (1).

Tabela III: Glavne funkcije človeških protiteles (1).

Protitelesa	Delovanje
IgM	prvi izražen imunoglobulin preko razvoja B-celic (primarni odgovor, zgodnje protitelo)
	opsonizacija antigena za uničenje
	pritrjevanje komplementa
IgG	sposoben prečkati placento
	nevtralizacija toksinov in virusov
	opsonizacija antigena za uničenje
	pritrjevanje komplementa
IgD	delovanje še nejasno
IgA	odgovor sluznice, ščiti sluznico pred toksini, virusi, bakterijami, preko neposredne nevtralizacije

IgE	povezan s preobčutljivostjo in alergijskimi reakcijami
	igra vlogo pri imunskem odgovoru proti parazitom

Na podlagi komponent imunskega sistema, ki posredujejo končni odziv, razdelimo specifični imunski odziv na dva tipa, na humoralno in celično posredovano imunost. Zaradi sposobnosti proizvodnje protiteles igrajo B-celice glavno vlogo pri humoralnem imunskem odzivu, medtem ko so za celično posredovan imunski odziv odgovorne predvsem T-celice. Protitelesa igrajo pomembno vlogo pri omejevanju širjenja virusa v akutni fazi. Na splošno omenjena protitelesa sicer niso sposobna izločiti virusa, ki je že povzročil okužbo, takrat ima namreč glavno vlogo celično posredovana imunost. Celično posredovana imunost je usmerjena primarno na mikrobo, ki preživijo fagocitozo, in prav tako na okužene celice, ki niso naletele na fagocitozo. Ta tip imunosti je najbolj učinkovit pri izločanju že okuženih celic z virusom, vendar lahko tudi sodelujejo pri obrambi proti glivam, praživalim, tumorjem in znotrajceličnim bakterijam (1).

Celično posredovana imunost ščiti organizem preko:

- aktivacije antigen-specifičnih CD8+, ki izzovejo apoptozo s pomočjo celičnih epitopov na površini tujih antigenov (okužene celice z virusi ali z intracelularno bakterijo ter rakave celice s prikazovanjem tumorskih antigenov),
- aktivacije makrofagov in NK-celic, ki omogočajo uničenje znotrajceličnih patogenov,
- pospešitve nastajanja citokinov za nadaljnje posredovanje imunskega odgovora (2).

1.2 IMUNOTOKSIČNOST

Imunotoksičnost je vsak škodljiv učinek na strukturo ali funkcijo imunskega sistema, ki pripelje do motenega delovanja. Funkcije imunskega sistema vključujejo ločevanje med lastnim in ne-lastnim, obrambo proti mikroorganizmom ter preprečevanje spontane proliferacije celic (neoplazija). Zaradi izčrpanosti ter funkcijskih pomanjkljivosti celic lahko pride do patološkega procesa, ki spremeni odgovor tako na ne-lastne kot na lastne antigene, kar se lahko odraža v povečanju občutljivosti na infekcije ali nastanku tumorskih celic. Za zdravljenje rakavih obolenj se pogosto uporabljajo citotoksične zdravilne učinkovine, ki lahko še dodatno oslabijo imunski sistem.

V splošnem lahko imunotoksičnost delimo na:

- direktno (imunosupresija ali imunostimulacija) – neodvisna od antigena
- indirektno (reakcije preobčutljivosti, alergijske reakcije in avtoimunost) – odvisna od antigena

Imunosupresija in imunostimulacija sta sicer včasih celo zaželeni, zato se jih izkorišča tudi v terapevtske namene (tabela IV). Imunosupresija je namreč poglavitni pristop za preprečevanje ali upočasnitev zavračanja presadka, saj hočemo selektivno zavreti prejemnikov imunski odgovor na tuje antigene presadka. Imunostimulacija pa se uporablja pri zdravljenju nekaterih virusnih okužb ter rakavih obolenj.

Tabela IV: Trenutno uporabljeni imunomodulatorji (15, 16).

Skupina	Učinkovina	Farmakološki učinek
Imunostimulatorji		
antibiotiki in antimikotiki	bacil Calmette-Guerin (BCG)	aktivacija makrofagov (APC), NK-celic in B-celic
	lipopolisaharidi (LPS)	aktivacija makrofagov in B-celic
	glukan	Fagocitoza
sintezne zdravilne učinkovine	levamizol, isoprinosin	zorenje in aktivacija T-celic, aktivacija fagocitoze in kemotakse, proliferacija T-celic, aktivacija Th, NK, fagocitoze in kemotakse
poliklonska protitelesa	specifična protitelesa	sprožitev specifične imunosti proti različnim vrstam antigena
monoklonska protitelesa	specifična protitelesa	sprožitev specifične imunosti proti določenemu antigenu (tumor)

rekombinantni citokini	IL-2	aktivacija proliferacije Th-celic
	IL-1	liza citotoksičnih celic
	IL-12	aktivacija Th-celic
	IFN- γ	proliferacija monocitov, aktivacija makrofagov, limfocitov in NK-celic; povečanje izražanja PHK II-razreda
Imunosupresivi		
glukokortikoidi		znižajo izražanje vnetnih citokinov (TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6, IL-12)
protitumorne ZU	ciklofosamid	zavre proliferacijo B-celic in krepi T-celični odgovor
biološka zdravila	etanercept, infliksimab, adalimumab	zaviralci citokinov (TNF- α)
	anakinra	zaviralec IL-1
	daklizumab, baziliksimumab	zaviralca IL-2
poliklonska protitelesa	antitimocit globulin (ATG)	delujejo proti specifičnim molekulam imunskega sistema
monoklonska protitelesa	alemutuzmab, muromunab	delujejo proti specifičnim molekulam imunskega sistema
	efalizumab	zaviralec LFA-1, zavrejo adhezijo imunskih celic

Kemikalije, ki reagirajo z imunskim sistemom, večinoma sodijo med nizkomolekularne spojine (<1000), kot so zdravilne učinkovine (ZU), okoljska onesnažila ter biološka zdravila, ki povzročijo tarčno specifično oz. nespecifično toksičnost ter sistemsko ali lokalno toksičnost (tabela V) (12,13,14). V glavnem gre za kemikalije, ki pripadajo različnim tipom spojin, saj gre lahko za majhne organske molekule, kovine ali proteine, lahko pa gre tudi za sevanje.

Tabela V : Primeri imunotoksičnih kemikalij (15).

Imunosupresivi	polihalogenirani aromatski ogljikovodiki (dioksin, poliklorirani bifenili (PCB))
	policiklični aromati (benzopiren)
	ZU (antibiotiki, nukleozidni analogi)
	aromatski amini (benzidin)
	kovine (Pb, Cd, Hg, As)
	sevanje (ionizirajoče, UVB)
	zlorabljene substance (alkohol, opiat, kanabinoidi)

	pesticidi (klordan, malation ...)
Povzročitelji avtoimunskih reakcij	organska topila (polivinil klorid (PVC), trikloroetilen)
	industrijske kemikalije (silika, halogenirani bifenili)
	ZU (antibiotiki, antidiabetiki, analgetiki, antiepileptiki)
Respiratorni senzibilizatorji/alergeni	anhidridi (ftalni, trimelitični)
	izocianati (toluen diizocianat)
	lesni prah (cedra, sekvoja)
Kontaktne alergeni	<i>para</i> -fenilendiamin (PPD), formaldehid, epoksi smole ...
	proteini (lateks), barvila, kovine (Pt, Ni)
Povzročitelji fotoalergijskega dermatitisa	dišave, UV-filtri
	ZU (sulfonamidi, klorpromazin)
	rastlinski ekstrakti (perujski balzam)

1.2.1 Imunosupresija

Imunosupresivi oslabijo imunski odziv; zmanjšajo lahko tako specifično kot nespecifično imunost. Neposredni imunosupresivi vplivajo na zorenje in posledično na nastajanje imunskih celic, kar se odraža v zmanjšanju števila zrelih T- in B-celic, torej v zmanjšanju delovanja tako celične kot humoralne imunosti. Nazoren primer takšne spojine predstavlja ciklofosamid, protitumorna učinkovina, ki zavira delitev tumorskih celic, hkrati pa deluje imunosupresivno, ker zavira tudi ekspanzijo prekurzorskih T- in B-celic v kostnem mozgu in drugih, hitro delečih se celic. Z imunosupresivi, kot je na primer ciklosporin A, pa včasih namenoma zavremo imunski odziv, saj hočemo preprečiti zavrnitev transplantiranih organov in tkiv. Selektivno želimo zavreti prejemnikov imunski odgovor na tuje antigene presadka ter doseči imuniteto. Ciklosporin A zavira sintezo in izločanje IL-2 ter ostalih citokinov, ki so pomembni za diferenciacijo in proliferacijo T-celic (15). IL-2 izločajo samo aktivirane T-celice (CD4+). Povečana koncentracija IL-2 je znak za močno antigensko stimulacijo, kot je zavračanje presajenega organa (2).

1.2.2 Imunostimulacija

Imunostimulacija je nespecifična okrepitev imunskega sistema, kar lahko predstavlja precejšnje imunotoksikološko tveganje. Gre za reakcijo, neodvisno od antigenov, in prav tako neodvisno od odmerka, ki lahko povzroči intenzivno sproščanje citokinov ter infuzijske reakcije (12,18). Kot primer neželene imunostimulacije se pogosto navaja humanizirano monoklonsko protitelo TGN 1412 – “superagonist” receptorja CD28 na T-celicah, ki neposredno stimulira imunski sistem in sproži pomnoževanje T-celic (Th2 in CD4⁺ in CD25⁺ regulatorne celice). Razvili so ga za zdravljenje kronične limfocitne levkemije B-celic ter revmatoidnega artritisa, a so ga leta 2006 umaknili zaradi hudih neželenih toksičnih učinkov, kot je sindrom sproščanja citokinov (citokinska nevihta), ki so jih opazili že v fazi kliničnih preizkušanj (12).

1.2.3 Reakcije preobčutljivosti

Reakcija preobčutljivosti je posledica napačne prepoznave in pretirane reakcije na lasten ali tuj antigen, ponavadi gre za protein ali majhno molekulo (hapteni). Alergijska reakcija se lahko razvije na mestu izpostavitve (koža, pljuča, žilni sistem, mišice) ali pa gre za sistemsko reakcijo. Tvrstne reakcije so povzročene preko aktivacije specifičnega imunskega sistema in jih lahko klasificiramo v štiri tipe preobčutljivosti. Tipi I, II in III so povzročeni preko humoralne imunosti (odgovor vključuje specifična protitelesa kot so IgE, IgG, IgM), tip IV pa je T-celično posredovan (2,12,18,).

Preobčutljivostna reakcija tipa I: Je takojšnja preobčutljivost, ki jo povzročajo protitelesa IgE, vezana na mastocite in bazofilce. Lahko je lokalna ali sistemska reakcija, ki se pojavi v nekaj minutah po ponovnem stiku senzibilizirane osebe s specifičnim antigenom oziroma alergenom. Povzročijo jo histamin in drugi mediatorji, ki se sprostijo iz mastocitov in bazofilcev. Povzročijo vazodilatacijo, povečano prepustnost kapilar, povečano izločanje sluzi in krčijo gladke mišice. Primeri: atopijske reakcije (alergijski rinitis, konjunktivitis, alergijska astma, alergija na lateks, na nekatere vrste hrane).

Preobčutljivostna reakcija tipa II: Po vezavi protitelesa na celične ali tkivne antigene nastane kompleks, ki sproži delovanje obrambnih celic. To vodi do tkivnih in celičnih poškodb. Primeri: zavrnitev presadka, Hashimotov tiroiditis, Goodpasturejev sindrom.

Preobčutljivostna reakcija tipa III: Kompleksi, nastali med prostimi antigeni in protitelesi v žilah in tkivih, povzročijo sprožitev vnetne reakcije; kompleksi se lahko združujejo in odlagajo v tkivih. Primeri: sistemski lupus eritematozus, revmatoidni artritis, vaskulitis, glomerulonefritis.

Preobčutljivostna reakcija IV: Zapoznela preobčutljivostna reakcija zaradi delovanja vrste obrambnih celic, ki so aktivirane po ponovnem stiku z antigenom in sprožijo delovanje citokinov, ki povzročijo vnetne reakcije. Primeri: kontaktni dermatitis, preobčutljivost na zdravila, zavrnitev presadka (2,20).

1.2.4 Imunotoksikološki testi

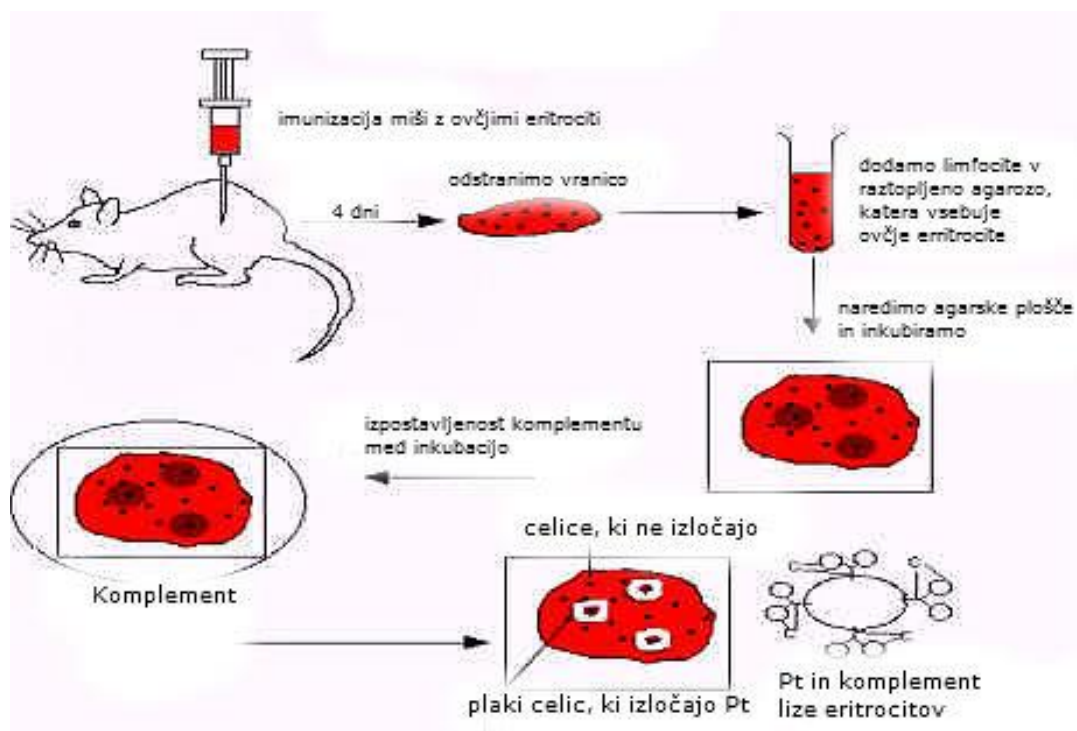
Večino imunotoksikoloških testov so razvili za preverjanje imunosupresivnih lastnosti ksenobiotikov. So dobro standardizirani in validirani živalski modeli in testi, s katerimi preučujejo mehanizme ter posledice s ksenobiotiki povzročene imunske reakcije.

Podatki, ki jih vzamejo pod drobnogled pri standardiziranih toksikoloških testih, so:

1. hematološke spremembe, kot so levkocitopenija/granulocitoza ali limfopenija /limfocitoza;
2. spremembe v teži in histologiji limfatičnih organov;
3. spremembe v serumskih globulinih, ki se pojavijo brez možnega razloga, kot so učinki na jetra ali ledvica, to je lahko znak sprememb pri serumskih imunoglobulinih;
4. povečana incidenca za infekcije;
5. povečano pojavljanje tumorjev, kar je lahko znak imunosupresije v odsotnosti ostalih možnih vzrokov, kot so genotoksičnost, hormonski učinki, indukcija jetrnih encimov (13).

Detekcija večine imunotoksičnih učinkov je odvisna od primerjave hematoloških in histoloških pregledov glavnih limfatičnih organov (priželjc, vranica, kostni mozeg) in histoloških pregledov pljuč, jeter, ledvic in kožnega tkiva.

Test humoralne imunosti se izvaja z *ex vivo* analizo proliferacije limfocitov z vključevanjem različnih barvil (BrdU/fluorofori) vanje ali s testom odziva IgM na ovčjih eritrocitih (SRBC; sheep red blood cell). V slednjem se meri število B-celic, ki tvorijo protitelesa IgM. Miš ali podgano imuniziramo z ovčjimi eritrociti in po štirih dneh odstranimo vranico. Celice vranice cepljenih živali postanejo prevlečene z ovčjimi eritrociti in proteini komplemента, nakar se jih prenese na ploščo z agarjem ter inkubira. Celice vranice miši začnejo proizvajati protitelesa proti ovčjim eritrocitom, kar opazimo preko lize eritrocitov, saj okrog njih nastanejo plaki, ki se preštejejo, nato se določi število nastalih celic protiteles. Proizvodnja specifičnih protiteles IgM proti ovčjim eritrocitom in od komplemента odvisne lize eritrocitov poda kvalitativno oceno humoralne imunosti (Slika 2). Alternativno lahko uporabimo tudi imunske teste za zaznavanje specifičnih protiteles ovčjih eritrocitov (12,14). Vpliv na celično imunost se preverja s testi CDC (Complement dependent Cytotoxicity), ki spremljajo funkcijo citotoksičnih CD8+ T-celic; oceni se sproščanje citokinov kot označevalec aktivacije T-celic. Večino teh testov so formalno validirali za toksikološko oceno tveganja majhnih molekul, ne pa tudi za biološka zdravila (12).



Slika 2: Test odziva IgM na ovčje eritrocite (prirejeno po 19).

2. NAMEN DELA

- i.* Z literaturnim pregledom bomo raziskali različne farmakološke skupine zdravilnih učinkovin, ki izražajo sekundarne farmakodinamske učinke na imunski sistem (imunomodulatorno delovanje).
- ii.* Raziskali bomo, pri kakšnih koncentracijah te zdravilne učinkovine izražajo imunomodulatorne učinke, ter učinke klasificirali kot blagodejne ali škodljive.
- iii.* Koncentracije zdravilnih učinkovin, potrebne za doseg imunosmodulatornega učinka, bomo primerjali z njihovimi terapevtskimi plazemskimi koncentracijami, potrebnimi za doseg primarnega farmakodinamskega učinka.

3. MATERIALI IN METODE

- S pregledom različnih baz podatkov, kot je na primer PubMed/MEDLINE, smo najprej poiskali članke na tematiko imunomodulacije (»immunomodulation AND angleški naziv skupine ZU, npr antiviral, antibiotics...«, »immunomodulatory effects of drugs«, immunotoxicity AND angleški naziv skupine ZU«, »immunological effects AND angleški naziv skupine ZU«) ter pripravili nabor različnih zdravilnih učinkovin z imunomodulatornim delovanjem in koncentracije, pri katerih so opazili ta imunomodulatorni učinek.
- Pri izboru ZU smo izvzeli tista, ki primarno delujejo na imunski sistem (npr. imunosupresivi, kortikosteroidi), in se osredotočili na ZU, katerih primarni mehanizem delovanja nima nobene povezave z imunskim sistemom, stranski učinki na imunski sistem pa so posledica sekundarne farmakodinamike.
- S pregledom različnih baz podatkov PubMed/MEDLINE, COBISS in Embase smo nato izluščili terapevtske plazemske koncentracije in jih z opisno statistiko (tabelarni opis) primerjali s koncentracijami, pri katerih je bil opažen imunomodulatorni učinek.

4. REZULTATI in RAZPRAVA

4.1 PROTIVIRUSNE ZU

Protivirusne ZU se uporabljajo za preprečevanje različnih virusnih bolezni. Večino teh so razvili za zdravljenje virusa HIV, virusov hepatitisa B in C, herpes virusa, virusov gripe A in B ter respiratornega sincicijskega virusa. Trenutno spada med protivirusne ZU okrog 90 uradno odobrenih spojin za klinično uporabo, nekaj tipičnih predstavnikov in njihovih tarč je zbranih v tabeli Tabela VI. Večina teh ZU sicer sodi med majhne molekule. Nekatere protivirusne ZU pa ne delujejo neposredno na virusno tarčo ampak preko posrednega učinka, tako da izboljšajo nespecifično obrambo gostitelja, na primer interferoni. IFN- α se uporablja kot del standardnega zdravljenja proti hepatitisu B in C. V zadnjih letih so prav tako začeli preiskovati preostale interferone za zdravljenje različnih virusnih bolezni. Imikvimod, ki nima nobenega neposrednega protivirusnega učinka, prav tako kaže učinek na številnih živalskih modelih virusne okužbe. Imikvimod se veže na Tollu podobne receptorje 7 in 8 (TLR7/8) na APC-jih (monociti, makrofagi, celice B in dendritične celice), jih aktivira ter izzove, da začnejo proizvajati citokine (IFN- α , IFN- γ in IL-12). Pozitivni učinki so bili opaženi pri testih *in vivo* na živalih, ter potrjeni pri bolnikih s HPV-virusom anogenitalnih bradavic (23, 24).

Tabela VI: Protivirusne ZU, klasificirane glede na njihov mehanizem delovanja, ter njihove terapevtske plazemske koncentracije in običajni odmerki.

Učinkovina	Mehanizem/tarča delovanja	Terapevtska plazemska koncentracija in odmerek	Literatura
maravirok	antagonisti receptorja CCR5	10 μ M (150 mg)	(20,21)
zidovudin	selektivni zaviralec HIV reverzne transkriptaze	0,5–1 μ M (250-500 mg)	(42)
adefovir	zaviralec HIV reverzne transkriptaze	0,07 μ M oz. 20 ng/mL (10 mg)	(22)
ribavirin	zaviralec virusne DNA polimeraze	8 μ M (1000 mg)	(51)
lamivudin	zaviralec reverzne transkriptaze	8,7 μ M oz. 2 μ g/mL (150 mg)	(46)

nevirapin	nenukleozidni zaviralec reverzne transkriptaze	12,8–25,2 μ M oz. 3,4–6,7 μ g/mL (200 mg - 400 mg)	(28)
Zaviralci proteaze (PI)			
indinavir	zaviralec proteaze	0,2–16,3 μ M oz. 0,1–10 mg/ml (800 mg / 200 mg RTV)	(29)
nelfinavir	zaviralec proteaze	5–10 μ M oz. 1,0–3,0 mg/L (1250 mg/ 2 krat na dan)	(29,43)
ritonavir	zaviralec proteaze	2,9–30,5 μ M oz. 2,1–22 mg/L (600 mg) večinoma se uporablja z drugimi PI 10 mg/kg	(29)
sakvinavir	zaviralec proteaze	5 –10 μ M oz. > 0,1 mg/L; (1200mg + RTV)	(29,43)
lopinavir	zaviralec proteaze	6,4–9,1 μ M oz. 4,0–5,7 mg/L (400mg/100mg RTV)	(29)

Tabela VII prikazuje zbrane neželene učinke na imunski sistem pri zdravljenju s protivirusnimi zdravili (23). Potrebno se je zavedati, da so pri bolnikih, okuženih z virusom HIV-1, preobčutljivostne reakcije 100-krat pogostejše kot pri ostali populaciji.

Tabela VII: Zbrani neželeni učinki na imunski sistem protivirusnih učinkovin

Učinkovina	Neželeni učinki na imunski sistem
maravirok	sistemske alergijske reakcije (izpuščaji, povišanje IgE)
zidovudin	terapija z visokimi odmerki: nevtropenija, preobčutljivostna reakcija
nevirapin	kožni izpuščaji
ribavirin	kožne reakcije (+ IFN)
zaviralci proteaze	rahli do zmerni izpuščaji (7 % bolnikov)

Učinki, ki jih imajo protivirusne ZU na imunski sistem, niso nujno le imunotoksični, saj lahko tudi potencialno blagodejno delujejo na imunski sistem. V nadaljevanju so opisane skupine protivirusnih ZU, ki izražajo potencialno blagodejne pozitivne imunomodulatorne učinke (tabela VIII in tabela IX) (23).

4.1.1 Antagonisti kemokinskih receptorjev

Maravirok je antagonist kemokinskega receptorja CCR5, ki se nahaja na T-celicah pomagalkah, zato vpliva na celice imunskega sistema. Pri pacientih, okuženih z virusom HIV, so se pri terapevtskih koncentracijah maraviroka izrazili imunomodulatorni učinki, kot so povečanje števila CD4+ T-celic in zmanjšanje aktivacije CD4+ in CD8+ T-celic (25). Pozo-Balado in sodelavci so ugotovili, da maravirok zniža aktivacijo T-celic pomagalk in jih vrne na nivo normalnih vrednosti. Domnevni glavni mehanizem imunomodulatornih učinkov maraviroka je blokada kemotakse od CCR5 odvisnih T-celic pomagalk. Omenjeni imunomodulatorni učinki maraviroka bi se lahko ugodno uporabljali pri drugih boleznih, kot je na primer rak, saj so regulacijske T-celice povezane z napredovanjem tumorja (26).

4.1.2 Zaviralci proteaze

Zaviralci proteaze (PI) so protivirusne ZU, ki se pogosto uporabljajo za zdravljenje okužb z virusom HIV/AIDS ter virusom hepatitisa C. PI preprečujejo virusno podvojevanje tako, da se selektivno vežejo na virusne proteaze (npr: HIV-1 proteaza) in tako blokirajo proteolitično cepitev proteinskih prekurzorjev, ki so potrebni za izdelavo novih virusov. PI lahko vplivajo na pomembne celične ter tkivne funkcije, kot so angiogeneza (rast novih krvnih žil), rast in invazija tumorja, vnetje, predstavljanje antigenov, celično preživetje in tkivno oblikovanje. Med tipične predstavnike PI sodijo indinavir, nelfinavir, lopinavir, ritonavir, sakvinavir (23,30,31). Zdravljenje okužbe z virusom HIV/AIDS sicer običajno vključuje uporabo več protiretrovirusnih ZU (HAART), ki delujejo na različnih stopnjah življenjskega cikla virusa HIV. HAART ponavadi sestoji iz kombinacije dveh zaviralcev reverzne transkripcije (RT) virusa HIV in enega zaviralca proteaze, npr. lopinavir/ritonavir, abakavir/lamivudin/zidovudin, nelfinavir/sakvinavir, lamivudin/zidovudin. Pri dolgotrajnem zdravljenju s terapijo HAART pa so se pojavili tudi nepredvideni pozitivni učinki, ki zmanjšujejo celotno breme bolezni na pacienta, vzdržujejo delovanje imunskega sistema in preprečujejo oportunistične okužbe, ki pogosto privedejo do smrti (31, 32, 34):

- aktivacija in preživetje endotelijskih celic,
- inhibicija produkcije vnetnih citokinov,
- modulacija APC in posredno odziv T-celic,
- povečanje števila CD4+ T-celic ter posledično delna obnova imunskega sistema.

Tabela VIII: Imunomodulatorni učinki izbranih PI in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo.

Učinkovine	Imunomodulatorni učinki	Koncentracija	Literatura
indinavir	ni delovanja	terapevtske koncentracije	(39)
nelfinavir	inhibicija aktivnosti proteosomske peptidaze in intracelularne proteolitične peptidaze	5–20 µM	(43)
	anti-apoptotično delovanje na CD4+ in CD8+ celice	(125 mg/kg; <i>in vivo</i>)	(36, 37)
ritonavir	anti- apoptotično delovanje na CD4+ in CD8+ celice	(13 mg kg/dan; <i>in vivo</i>)	(37)
	inhibicija izražanja adhezijskih molekul, inhibicija produkcije in sproščanje vnetnih citokinov TNF- α , IL-6, IL-8	20 µM	(36, 38).
sakvinavir	zmanjšane limfocitne reakcije, stimulacija PBMC in izražanje TNF- α , IL-2 in IFN- γ iz CD4+ celic	5–20 µM	(45)

Monociti in makrofagi so na različnih nivojih vključeni v imunski odziv in med drugim izdelujejo tudi vnetne citokine, kot so faktor tumorske nekroze (TNF), IL-1 β , IL-6 ali imunoregulatorne citokine, kot je IL-10. Pri bolnikih z okužbo z virusom HIV je običajno prisotna zmanjšana protibakterijska in antigen predstavitvena aktivnost monocitov. Aktivacija monocitov je odvisna od same terapije in od bolnika. Amirayan-Chevillard in sodelavci so dokazali, da terapija HAART pri terapevtskih koncentracijah zmanjša izločanje citokinov TNF, IL-1, IL-6 in IL-10 iz monocitov in zmanjša širjenje podskupine monocitov, ki izraža visoke nivoje CD16. CD16 pa naj bi bil odgovoren za sproščanje vnetnih citokinov v z virusom HIV-okuzenih bolnikih. Domnevajo, da je določanje monocitnih podskupin koristno pri ocenjevanju aktivnega stanja monocitov na okužbo z virusom HIV in pri odzivu na terapijo HAART (33).

Sakvinavir in ritonavir sta pri poskusih na mononuklearnih celicah periferne krvi (PBMC, angl. peripheral blood mononuclear cells) zdravih darovalcev pokazala koncentracijsko odvisne limfoproliferativne odzive. Prišlo je do zmanjšanja mešane limfocitne reakcije (test celične proliferacije), stimulacije PBMC in povečanega izločanja TNF- α , IL-2 in IFN- γ iz CD4+ celic. Ti imunostimulatorni učinki so se izrazili v območju terapevtskih koncentracij

(5–20 μM) in bi lahko potencialno pomagali pri uravnavi citokinskega ravnotežja pri okužbi z virusom HIV, zato imata lahko določene koristi pri terapiji (45).

PI poleg neposrednega protivirusnega delovanja modulirajo tudi apoptozo (programirano celično smrt). Veliko izvedenih raziskav je pokazalo anti-apoptotično delovanje PI na CD4+ in CD8+ T-celice v času okužbe z virusom HIV, vendar mehanizem še ni pojasnjen (36). Anti-apoptotično delovanje PI so testirali na živalskih modelih sepse, hepatitisa, pankreatitisa in kapi, saj so omenjene bolezni povezane s povečano celično apoptozo. Z uporabo PI (nelfinavir 125 mg/kg in ritonavir 13 mg/kg) so jo uspešno preprečili. V primeru sepse pride običajno do obsežne apoptoze limfocitov, z uporabo PI pa so dokazali preživetje in zmanjšan obseg apoptoze limfocitov. Prišlo je do povečanega izločanja Th1 citokinov (TNF- α) in zmanjšane izločanja Th2 citokinov (IL-10) iz limfocitov (36, 37). Terapevtski odmerek nelfinavirja znaša 1250 mg, ritonavirja pa 600 mg. Če odmerke iz študije pomnožimo s povprečno maso človeka (60 kg), dobimo 7500 mg za nelfinavir in 780 mg za ritonavir. Iz tega opazimo, da je odmerek nelfinavirja, potreben za doseg imunomodulatornega delovanja višji od terapevtskega in bi lahko bil škodljiv za bolnike. V primeru ritonavirja pa bi lahko eventuelno prišlo do izražanja opisanih učinkov, saj je odmerek za imunomodulatorno delovanje podoben predpisanemu terapevtskemu odmerku.

Terapevtske koncentracije zaviralcev HIV-proteaze, odobrene s strani FDA (Tabela VI), imajo očitno anti-apoptotično delovanje na različne tipe celic (36). Zanimivo je, da v primeru uporabe supratherapevtskih koncentracij HIV PI (ritonavir, sakvinavir, nelfinavir pri koncentracijah 40–50 μM) pride do pro-apoptotičnih učinkov na celicah, ki so odporne na samo apoptozo, kot na primer tumorske celice. Pri nadaljnih raziskavah so ugotovili, da imajo različni PI različno delovanje na tumorske celice. Na modelu raka prostate so namreč ritonavir, nelfinavir in sakvinavir povzročili celično apoptozo, indinavir pa ni kazal teh učinkov. Omenjene odkrite naključne lastnosti HIV PI sedaj preverjajo na različnih živalskih modelih bolezni s povečanim obsegom apoptoze pri normalnih koncentracijah PI (36,38).

Klinični terapevtski plazemski koncentraciji nelfinavirja in sakvinavirja znašata okoli 5–10 μM . Imunomodulatorni učinki, kot so inhibicija aktivnosti proteasomske peptidaze in intracelularne proteolitične peptidaze, pridejo do izraza pri dokaj podobnih koncentracijah nelfinavirja, in sicer v območju 5–20 μM (43). Proteasomi in ostale peptidaze sodelujejo pri

predstavljanju antigena v APC, predvsem pri predstavljanju antigena s PHK I (npr. virusi). Če nelfinavir zavre delovanje peptidaz v APC, se antigen ne predstavi z PHK razreda I na površini APC in tako prepreči zorenje in funkcijo APC kot tudi aktivacijo T-celic. Prav tako lahko učinki motijo proliferacijo, apoptozo in diferenciacijo različnih celic. Ti imunosupresivni učinki pa bi se prav tako lahko uborabljali pri s HIV-om okuženih bolnikih. pProteasomi namreč predstavljajo osrednje proteaze ATP-odvisne poti ubikvitina (mali regulatorni protein), ki je vključen v številne celične procese, kot je zorenje virusa HIV. (43,44).

Zaviralec proteaze ritonavir je pri terapevtski koncentraciji 20 μM (14,4 mg/L) povzročil inhibicijo izražanja adhezijskih molekul, inhibicijo produkcije in sproščanja vnetnih citokinov ali kemokinov, kot so TNF- α , IL-6, IL-8 iz endotelijskih celic (34,35). Tako deluje protivnetno in pomaga pri zdravljenju bolnikov z okužbo z virusom HIV.

4.1.3 Inhibitorji reverzne transkripcije

Zidovudin (ZDV; poznani tudi kot azidotimidin (AZT)) se uporablja pri terapiji okužbe s HIV kot samostojna učinkovina ali v kombinaciji z drugimi. Glavni mehanizem delovanja je inhibicija replikacije virusa HIV, ima pa tudi sekundarne farmakodinamske učinke na celice imunskega sistema, čeprav je mehanizem delovanja na slednje še dokaj nepoznan. Nekateri predvideni primeri delovanja na celice imunskega sistema so:

- supresija proliferacije T-celic,
- podaljševanje celičnega cikla imunskih celic,
- zaviranje številnih ostalih imunskih odgovorov (inducirana mitotična in mešana limfocitna reakcija),
- induciranje odgovora citotoksičnih T-limfocitov (CTL) (40,41).

S *in vitro* študijo so dokazali, da ZDV povzroča od koncentracije odvisno inhibicijo klonske ekspanzije antigen-specifičnih CTL pri koncentracijah 2–10 μM , vendar je ta učinek izginil, če so izpostavljenost ZDV zakasnilo za 24–48h v obdobju senzibilizacije celic z antigenom. Predpostavili so, da so senzibilizirani CTL manj dovzetni za supresivno delovanje ZDV kot naivni T-limfociti (40,41). Celice imunskega sistema so torej občutljive že na terapevtske koncentracije zidovudina, saj standardni odmerek znaša 500 mg/dan, kar pomeni 0,5–1 μM plazemske koncentracije (42). ZDV deluje citostatično pri zelo povišanih *in vitro*

koncentracijah 15–250 μM in citotoksično pri 500 μM . Francke in sodelavci predvidevajo, da bi se pokazalo supresivno delovanje na naivne T-celice že pri plazemskih koncentracijah ZDV nižjih od 2 μM , v območju 3–7 μM pa tudi supresivni odgovor CTL.

ZDV namreč koncentracijsko odvisno zmanjšuje citolitično funkcijo efektorskih celic, saj zmanjša odziv CTL na virus, kar je potrebno upoštevati pri določanju terapije (41).

Balestrieri in sodelavci so v študijah *in vitro* ugotovili, da **lamivudin** zavira rast človeškega T-celičnega limfotropnega virusa tipa 1 (HTLC-1), ki je vzrok za limfoblastno levkemijo T-celic pri koncentraciji 6,25 μM (1,43 $\mu\text{g/ml}$). Terapevtske koncentracije lamivudina pa se gibljejo okrog 2 $\mu\text{g/ml}$ (46). Ti blagodejni učinki lamivudina se torej izražajo že pri terapevtsko dosegljivih koncentracijah.

Adefovir je prav tako izkazal očitne *in vitro* imunomodulatorne učinke, saj je močno stimuliral izločanje citokinov IL-10 in TNF- α iz peritonealnih makrofagov glodalcev ter povečal produkcijo NO. Ti učinki so se pojavili pri 0,2–1,2 μM (54,6–327,6 ng/ml), kar predstavlja za več velikostnih razredov višje koncentracije v primerjavi s terapevtsko koncentracijo (0,07 μM). Tako v realnosti teh imunomodulatornih učinkov ne gre pričakovati. Adefovir ni citotoksičen, saj v celotnem območju koncentracij do 500 μM ni povzročil povečane celične smrti. (47).

Nevirapin povzroča kožne izpuščaje in toksično vpliva na jetra. S študijo na podganah so ugotovili, da so izpuščaji očitno imunsko posredovani in delno posledica izčrpanosti CD4+ celic. Izpuščaji sicer niso neposredno povezani z nevirapinom, ampak z njegovim metabolitom 12-hidroksinevirapinom, ki se v koži nadalje pretvori do reaktivnega sulfata. Preobčutljivost na nevirapin variira glede na spol, odmerek in trajanje terapije. Terapevtski odmerek nevirapina znaša 200–400 mg/dan, kožni izpuščaji pa se lahko pojavijo že pri odmerku 200 mg/dan. Lahko se pojavljajo kot blagi izpuščaji ali pa izrazijo kot Stevens-Johnsonov sindrom, oblika toksične epidermalne nekrolize, ki predstavlja smrtno nevarno stanje, v katerem celična smrt povzroči, da se povrhnjica loči od usnjice (27, 48). Izolirane CD4+ celice so v prisotnosti 12,5 $\mu\text{g/mL}$ nevirapina ter njihovih metabolitov povečale produkcijo citokinov (IFN- γ). Terapevtske plazemske koncentracije pa se sicer gibljejo okrog 3,0–6,0 $\mu\text{g/mL}$, kar pomeni, da lahko nevirapin tudi pri uporabi kliničnih odmerkov potencialno povzroči povečano izločanje IFN- γ in s tem ojača protivirusno obrambo (28).

Tabela IX: Imunomodulatorni učinki zbranih inhibitorjev reverzne transkripcije in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo.

Učinkovine	Imunomodulatorno delovanje	Koncentracija	Literatura
zidovudin	supresivno delovanje na CTL	3–7 μM	(41)
	supresivno delovanje na naivne T-celice	< 2 μM	
	citostatično delovanje	15–250 μM	
lamivudin	zaviranje rasti HTVL-1	6,25 μM (1,43 $\mu\text{g/ml}$)	(46)
adefovir	stimulira izločanje TNF- α in IL-10 iz makrofagov (in vitro)	0,2–1,2 μM (54,6–327,6 ng/ml)	(47)
nevirapin	povečana produkcija citokinov (INF- γ)	46,9 μM 12,5 $\mu\text{g/ml}$	(48)

4.1.4 Zaviralci RNA-polimeraze

Ribavirin ima imunomodulatorne učinke na različne sestavne dele imunskega sistema (tabela X).

- Deluje protivnetno tako, da zmanjša koncentracijo IFN- γ in izražanje IFN- γ z aktiviranimi T-celicami ter tako prepreči okvaro jeter. Te učinke so opazili pri zdravljenju kroničnega hepatitisa C, ko so bolniki so prejeli 1000–1200 mg ribavirina na dan skupaj z IFN- α (51).
- V makrofagih močno zavira indukcijo vnetnih citokinov, kot sta IL-1 β in TNF- α . Zaviralni učinki so odvisni od koncentracije in se začnejo izražati pri 100 $\mu\text{g/mL}$ (409 μM), popolno zaviranje pa dosežejo pri 500 $\mu\text{g/mL}$ (2049 μM) ribavirina (52).
- V dendritičnih celicah v kombinaciji z IFN- α pri koncentraciji 20 μM zavira produkcijo TNF- α , IL-10 in IL-12 (53).
- V NK celicah, ki so bile aktivirane z IL-15, zavira njihovo lizo in produkcijo IFN- γ pri koncentracijah od 5 $\mu\text{g/mL}$ do 20 $\mu\text{g/mL}$ (8–81 μM). V tem koncentracijskem območju ribavirin ne deluje toksično na celice (49).
- Sookpian in sodelavci pa so dokazali, da se pri terapevtskih koncentracijah ribavirina med 1–10 μM ne pojavijo nobene signifikantne spremembe v produkciji TNF- α ,

IFN- γ in IL-10 iz PBMC. Signifikantne spremembe v smislu inhibicije produkcije citokinov se pokažejo šele pri koncentraciji 100 μ M (50).

Če zgornje koncentracije primerjamo s terapevtsko koncentracijo ribavirina (8 μ M), vidimo, da se večina imunomodulatornih učinkov izrazi šele pri povišanih koncentracijah, kar nakazuje, da v realnem scenariju le-teh ni za pričakovati.

Tabela X: Imunomodulatorni učinki ribavirina in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo.

Učinkovina	Imunomodulatorno delovanje	Koncentracija/ odmerek	Literatura
Ribavirin	zmanjša koncentracijo IFN- γ in izražanje IFN- γ z aktiviranimi T-celicami	1000–1200 mg / dan	(51)
	zavira indukcijo vnetnih citokinov IFN1 β in TNF- α v makrofagih	409 μ M–2049 μ M (100–500 μ g/mL)	(52)
	zavira produkcijo TNF- α , IL-10 in IL-12	20 μ M	(53)
	zavira produkcijo IFN- γ v NK-celicah	8–81 μ M (5–20 μ g/mL).	(49)

4.2 PROTIBAKTERIJSKE ZU

Protibakterijske ZU zavirajo rast bakterijskih patogenov, posredno pa lahko vplivajo tudi na imunski sistem. Imunomodulatorno delovanje protibakterijskih učinkovin pa je še dokaj neraziskano. Kažejo se sicer določene potencialne klinične koristi imunostimulativnih/imunorestorativnih učinkov protibakterijskih ZU, vendar so ti dokaj minimalni v primerjavi s samim protibakterijskim učinkom. Obetavne imunosupresivne učinke nekaterih protibakterijskih ZU pa so opazili predvsem pri določenih kroničnih vnetnih boleznih (54).

Protibakterijske ZU in njihovi metaboliti neposredno aktivirajo makrofage in monocite. Makrofagi in monociti so ponavadi prve celice, ki izzovejo odgovor kaskade pri akutni fazi vnetja, prav tako pa so ključnega pomena pri indukciji imunskega ter vnetnega odgovora. Aktivirani monociti sproščajo širok spekter citokinov, ki posledično izzovejo citokinske kaskade in imajo pomembno vlogo pri razvoju ustrezne obrambe. Pri pretiranem ali podaljšanem sproščanju citokinov sicer lahko pride tudi do patoloških stanj. Monociti

proizvajajo IL-1, TNF- α in IL-6, ki sprožijo in vzdržujejo akutno fazo vnetnega odgovora. Nekatero protimikrobno učinkovino (kinoloni in makrolidi) so izkazale sposobnost zaviranja produkcije IL-1 ter TNF- α na monocitni kulturi, stimulirani z lipopolisaharidi (LPS) in tako lahko protibakterijske ZU modificirajo akutno fazo vnetnega odgovora z motenjem kaskade citokinov (54,55). Najbolje raziskana skupina protibakterijskih ZU z imunomodulatornimi učinki je skupina makrolidov.

4.2.1 Makrolidi

Makrolidi so skupina protibakterijskih učinkovin, ki se vežejo na ribosomsko podenoto 50S in s tem preprečijo sintezo beljakovin, saj zavrejo podaljševanje polipeptidne verige. Tvorba beljakovin se prehitro zaključi in posledica je bakteriostatično delovanje. Imajo dobro aktivnost na Gram pozitivne bakterije, kot sta *S. pneumoniae* in *S. pyogenes*. Glavni predstavniki makrolidov so eritromicin, klaritomicin, azitromicin (tabela XI) (54,55).

Tabela XI: Makrolidi, klasificirani glede na njihov mehanizem delovanja, ter njihove terapevtske plazemske koncentracije in običajni odmerki.

Učinkovine	Mehanizem/tarča delovanja	Terapevtska plazemska koncentracija in odmerki	Literatura
eritromicin	vezava na podenoto 50S bakterijskega ribosoma in zaviranje sinteze beljakovin	2,5–5,2 μ M oz. 1,9–3,8 μ g/mL (500 mg)	(57)
klaritomicin		2,1 μ M oz. 1,6 μ g/mL (500 mg)	
azitromicin		0,5 μ M oz. 0,4 μ g/mL (500 mg)	
telitromicin	zaviranje sinteze bakterijskih beljakovin	3,6 μ M oz. 2,9 μ g/mL (800 mg)	(58)

Imunomodulatorne učinke makrolidov so dobro raziskali tako na različnih modelih *in vitro* ter *in vivo*, kot tudi na bolnikih z različnimi bakterijskimi okužbami. V tabeli

Tabela XII so prikazani protivnetni in imunomodulatorni učinki makrolidov ter njihovi odmerki, ki se uporabljajo v dermatologiji.

Tabela XII: Imunomodulatorni učinki in odmerki makrolidov v dermatologiji (59).

Bolezen/ stanje	ZU	Mehanizem protivnetnega delovanja	Odmerek
akne	eritromicin	zaviranje IL-8, kemotakso nevtrofilcev	500 mg, 3× na dan, 6 mesecev
papilomatoza	ezetromicin	zaviranje TNF- α , IL-1 α , aktivnost limfocitov	500 mg/dan
	eritromicin		1000 mg/dan
	klaritomicin		500 mg/dan
psoriza	azitromicin	zaviranje vnetnih citokinov (IL-6, IL-8, TNF- α) verjetno zaradi zaviranja faktorjev transkripcije NF- κ B	500 mg/dan
	eritromicin		1000 mg/dan

Makrolidi pri terapevtskih koncentracijah izrazito vplivajo na citokine, predvsem na zaviranje izločanja IL-8 in TNF- α , kot tudi na vnetne mediatorje, saj povečajo sproščanje dušikovega oksida (NO). Z motnjo sinteze endogenih kemotaktičnih dejavnikov so sposobni zavreti kemotakso levkocitov (fagocitna aktivnost polimorfonuklearnih levkocitov). Zavirajo stimulirano izražanje adhezijskih molekul, ki neposredno vpliva na nevtrofilce. Adhezijske molekule so potrebne za nevtrofilce in druge vnetne celice za selitev po dihalnih poteh, kot tudi za odziv vnetnih signalov. Molekularni mehanizem, odgovoren za učinek makrolidov na funkcijo nevtrofilcev pri pljučnih boleznih, še ni popolnoma pojasnjen. Domnevajo, da zaviranje protein kinaze A vodi do zmanjšane proizvodnje oksidantov ali spremembo nevtrofilne aktivnosti zaradi spremembe v transdukcijski poti fosfolidaze D-fosfatid fosfohidrolaze, ki je odgovorna za celično degranulacijo (55,54).

Eritromicin in njegovi derivati *in vitro* delujejo protivnetno, domnevno preko zaviranja faktorja transkripcije NF- κ B na T-celicah pri koncentraciji 3–100 μ g/mL, kar bi lahko posledično vplivalo na zaviranje sproščanja citokinov, kot je TNF- α , tudi pri terapevtskih koncentracijah (56).

Enkratni odmerek **telitromicina** 150 mg/kg (kar predstavlja 9000 mg na odraslega človeka) je na mišjem modelu sistemskega vnetja, inducirane z LPS, povzročil zmanjšano izražanje mRNA in sintezo beljakovin vnetnih citokinov, kot so TNF- α , IL-1 β in IFN- γ (54).

Klaritromicin je v koncentracijskem območju 30–100 µg/mL blokiral tok Kv1.3 v glodalskih timocitih. Timociti so celice, ki se nahajajo v priželjcu in se diferencirajo v zrele T-celice. T-celice izražajo kalijeve kanale (Kv1.3) v svoji plazemski membrani, ki igrajo pomembno vlogo pri njihovi aktivaciji in proliferaciji. Klaritromicin tako blokira tok preko Kv1.3 T-celic, kar lahko posledično zavre sproščanje IL-2, ki je pomemben za aktivacijo in proliferacijo limfocitov. **Azitromicin** pa je v istem koncentracijskem območju zmanjšal membransko kapaciteto brez učinka na Kv1.3-kanale. Azitromicin stimulira produkcijo inhibitornega citokina IL-10 in tako zavre produkcijo vnetnih citokinov. V nasprotju z IL-2, ki je odvisen od aktivnosti toka preko Kv1.3-kanalov, je IL-10 odvisen od aktivnosti intracelularnih signalnih molekul, kot je aktivator transkripcije 3 (STAT3). Kazama in sodelavci predvidevajo, da azitromicin direktno aktivira STAT3 v notranjosti celice in posledično stimulira izločanje IL-10. Opisani učinki so lahko povezani z imunomodulatornimi učinki makrolidov in njihovim kontroliranjem produkcije citokinov (60).

4.2.2 Tetraciklini

Tetraciklini so bakteriostatične protibakterijske učinkovine, ki se reverzibilno vežejo na 30S podenoto ribosoma prokariotične celice in tako zavrejo vezavo aminoacil-tRNA na ribosomski kompleks mRNK, s tem pa zavrejo sintezo bakterijskih proteinov (tabela XIII) (61).

Tabela XIII: Tetraciklini, klasificirani glede na njihov mehanizem delovanja, ter njihove terapevtske plazemske koncentracije in običajni odmerki.

Učinkovine	Mehanizem/tarča delovanja	Terapevtska plazemska koncentracija in odmerek	Literatura
doksiciklin	vezava na podenoto 30S bakterijskega ribosoma in zavirajo vezavo aminoacil-tRNA na ribosomski kompleks m-RNA	2,3–15,8 µM oz. 1–7 mg/L (100–200 mg)	(62)
minociklin		1,3–9,0 µM oz. 0,6–4,1 mg/L (50–200 mg)	

Imunomodulatorni in nevrozaščitni učinki tetraciklinov se pri nevroloških boleznih kažejo kot delna supresija aktivacije celic mikroglije (specializirani makrofagi v živčnem sistemu) že pri terapevtskih koncentracijah. Pri študiji *in vitro* so podganje celice mikroglije tretirali z 10 μM **minociklina (4,57 mg/L)** ter **doksiciklina (4,44 mg/L)** in nato izpostavili hipoksiji, pri čemer sta oba pokazala supresijo aktivacije mikroglij ter zmanjšano izločanje vnetnih molekul (NO, IL-1 β in TNF- α) (54).

Minociklin se uporablja tudi kot antialergik, ker preprečuje produkcijo IgE. Joks in sodelavci so ugotovili, da pri zdravljenju alergijske astme minociklin v odmerkih 150-250 mg deluje močno supresivno na produkcijo IgE. Ta učinek pa je povezan s supresijo fosforiliranega p38 z mitogeni aktiviranih proteinskih kinaz (MAPK). Aktivacija p38 poti ima namreč pomembno vlogo pri produkciji vnetnih citokinov (IL-1 β , TNF- α ter IL-6). Minociklin in doksiciklin pa sta v eksperimentu *in vitro* na PBMC-jih bolnikov astme pri koncentraciji 21,9 μM (10 $\mu\text{g/mL}$) močno zavrla indukcijo spominskega odgovora IgE (23,63), kar predstavlja višje koncentracije kot terapevtske in v realnosti tako ne bi prišlo do izražanja teh antiasmatičnih učinkov.

Tabela XIV: Imunomodulatorni učinki izbranih tetraciklinov in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo.

Učinkovine	Imunomodulatorno delovanje	Koncentracija	Literatura
doksiciklin	delna supresija aktivacije celic mikroglije	10 μM	(23, 54, 63)
	zmanjšano izločanje vnetnih citokinov (TNF- α , IL-1 β , NO)		
	supresija indukcije spominskega odgovora IgE	21,9 μM	
minociklin	delna supresija aktivacije celic mikroglije	10 μM	
	supresija produkcije IgE	150–250 mg	

Tako kot makrolidi se tudi tetraciklini uporabljajo v dermatologiji zaradi njihovih protivnetnih in imunomodulatornih učinkov, ki so opisani v spodnji tabeli (Tabela XV).

Tabela XV: Imunomodulatorni učinki in odmerki tetraciklinov v dermatologiji (59).

Bolezen/ stanje	ZU	Mehanizem protivnetnega delovanja	Odmerek
granulomska vnetja	doksicilin, minociklin	zaviranje proliferacije T-celic	200 mg/dan
bulozne dermatoze	tetraciklin	zaviranje matriksne metaloproteinaze (MMP) in aktivacije mastocitov	1500 mg/dan
	minociklin		100 mg/dan
	doksiciklin		100 mg/dan
lišaji	doksiciklin	zaviranje odgovora T-celic	200 mg/dan
nevtrofilne motnje	doksiciklin	zaviranje IL-8 in aktivacija nevtrofilcev	200 mg/dan
	minociklin		200 - 300 mg/dan

4.2.3 Fluorokinoloni

Kinoloni so protibakterijske ZU, ki z zaviranjem bakterijske DNK-giraze in topoizomeraze preprečujejo podvojevanje DNK (tabela XVI). Poznamo štiri generacije kinolonov, večina pa jih glede na kemijsko strukturo spada med fluorokinolone. Uporabljajo se predvsem kasnejše generacije. Predstavniki druge generacije so: pefloksacin, ofloksacin, ciprofloksacin, predstavnik kinolonov tretje generacije je levofloksacin, medtem ko so predstavniki četrte generacije moksifloksacin, gemifloksacin in gatifloksacin (64).

Tabela XVI: Fluorokinoloni, klasificirani glede na njihov mehanizem delovanja, terapevtsko plazemsko koncentracijo in odmerek.

Učinkovine	Mehanizem/tarča delovanja	Terapevtska plazemska koncentracija in odmerek	Literatura
ciprofloksacin	zaviranje podvojevanja bakterijske DNK preko zaviranja bakterijske DNK-giraze in topoizomeraze	2,30–3,00 µg/mL (500–750 mg)	(65)
levofloksacin		5,08–7,13 µg/mL (500–750 mg)	
moksifloksacin		1,16–3,34 µg/mL (200–400 mg)	
gatifloksacin		3,86 µg/mL (400 mg)	
gemifloksacin		1,19–2,29 µg/mL (320–640 mg)	
grepafloksacin		0,45–3,17 µg/mL (200–1200 mg)	(66)

trovafloksacin		0,4–4,3 µg/mL (30–300 mg)	(67)
----------------	--	------------------------------	------

Najbolje raziskan predstavnik je **moksifloksacin**, ki je pokazal imunomodulatorne učinke tako v testih *in vitro* kot tudi testih v *in vivo*. Za razumevanje molekularnih mehanizmov, ki so v ozadju imunomodulatornih učinkov moksifloksacina, so izmerili sproščanje vnetnih citokinov (IL-1 β , TNF- α , IL-8) iz monocitov, stimuliranih z LPS. Opazili so inhibicijo vnetnih mediatorjev in inhibicijo treh glavnih transdukcijskih poti, ki so vključene v vnetni odgovor (NF- κ B, aktivacija kinaze ERK ter c-Jun N-terminalne kinaze (JNK)). Do inhibicije izločanja vnetnih citokinov je prišlo pri 5–20 µg/mL, inhibicija signalnih poti pa se je pojavila že pri 5–10 µg/mL (54, 69). Te koncentracije so rahlo višje kot terapevtske, vendar ne gre v nobenem primeru zanemariti teh imunomodulatornih učinkov. Pri eksperimentu na liniji pljučnih celic, stimuliranih z IL-1 β in IFN- γ in moksifloksacinom pri klinično relevantnih koncentracijah (2,5–10 µg /mL), je prišlo do inhibicije sproščanja NO in znotrajceličnih signalnih poti (ERK, JNK, NF- κ B) (54). Podobne rezultate so dobili tudi v študiji *in vitro* na celični liniji bronhialne cistične fibroze, ki so jo stimulirali s TNF- α , IL-1 β ali z LPS v prisotnosti ali odsotnosti 5–50 µg/mL moksifloksacina (54).

Fluorokinoloni v splošnem izkazujejo naslednje imunomodulatorne učinke:

- močno inducirajo *in vitro* sintezo IL-2 ter zavirajo sintezo IL-1 β in TNF- α ;
- značilno povečajo sintezo spodbujevalnih faktorjev rasti kolonij (CSF). CSF povzročijo izločanje glikoproteinov na površini hemopoetičnih izvornih celic, ki lahko proliferirajo in diferencirajo v posebne vrste krvnih celic, običajno v bele krvničke;
- okrepijo hematopoezo s povečanjem koncentracije CSF v pljučih in kostnem mozgu;
- vplivajo na *in vivo* celično ter humoralno imunost preko blaženja odgovora citokinov (IL-10, IL-12) (68).

Imunomodulatorni učinki, ki so jih izkazali v študijah *in vitro*, so naslednji (68):

- **Ciprofloksacin** je koncentracijsko odvisno zmanjšal sintezo citokinov (TNF- α , IL-6). Signifikantne spremembe so se pokazale pri višjih koncentracijah (50–100 $\mu\text{g/mL}$), pri nižjih koncentracijah (1–30 $\mu\text{g/mL}$) pa je bil viden le podoben trend.
- **Trovaflaksacin** je v koncentracijskem območju 1–10 mg/L zavrl izločanje IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-6 ter IL-10 in ni kazal nobene citotoksičnosti.
- **Grepaflaksacin** je v koncentracijskem območju 1–30 $\mu\text{g/mL}$ zavrl produkcijo IL-1 α in IL-1 β ter stimuliral sintezo IL-2 iz z LPS stimuliranih monocitov. Ti učinki so se pojavili tudi na stopnji transkripcije genov, saj je prišlo do inhibicije izražanja TNF- α , IL-1 β , IL-1 α , IL-6 in IL-8 mRNA.
- **Levofloksacin** je v koncentracijskem območju 5–100 $\mu\text{g/mL}$ stimuliral produkcijo IL-2 iz monocitov in zmanjšal produkcijo IL-1 β . Vpliv na zmanjšano izločanje TNF- α pa je bila opazen šele pri 100 $\mu\text{g/mL}$.

Koncentracije, pri katerih so se v študijah *in vitro* ciprofloksacina in trovaflaksacina izrazili imunomodulatorni učinki, so precej višje od terapevtskih, zato se v realnem scenariju ne bi izrazile. V primeru grepaflaksacina in levofloksacina pa bi lahko prišlo do izražanja imunomodulatornih učinkov že pri njihovih terapevtskih koncentracijah.

Levofloksacin pa je v kliničnih študijah pri pljučnih bolnikih ter zdravih prostovoljcih v serumu pri dnevnem terapevtskem odmerku 750 mg povzročil značilno zmanjšanje TNF- α pri obeh preiskovanih skupinah. Pri bolnikih je povečal koncentracijo IL-10, medtem ko jo je zmanjšal pri kontrolni zdravi skupini prostovoljcev. Te učinke bi lahko uporabili neodvisno od protibakterijskih učinkov za zdravljenje infekcij respiratornega trakta, saj zniža koncentracijo vnetnih citokinov ter poviša koncentracijo protivnetnih (70).

Znano je, da fluorokinoloni zmanjšajo sproščanje vnetnih mediatorjev (tabela XVII) pri boleznih dihal. **Ciprofloksacin** ima odlične učinke proti številnim patogenom, ki povzročajo okužbe dihal. Znano je, da se kot tudi ostali fluorokinoloni kopiči v nevtrofilcih in tako omogoča uničenje znotrajceličnih povzročiteljev bolezni, prav tako pa enostavno prehaja skozi epiteljske celice. V študiji *in vitro* na kulturi nosnih epitelnih celic so z bakterijami *S. aureus* tipa *Newman* inducirali vnetje, ki se je kazalo pri povišanju IL-8. Ciprofloksacin pa

je pri terapevtski koncentraciji, ki se uporablja pri zdravljenju bolezni dihal 15 μ M (4,96 mg/L), značilno zmanjšal izločanje IL-8 in tako deloval protivnetno (71).

V študiji *in vivo* so na mišjem modelu kolitisa uporabili ciprofloksacin v odmerkih 7,5 mg/kg in 15 mg/kg, pri čemer se je raven vnetnih citokinov (IL-1 β , IL-8, TNF- α) v homogenatu debelega črevesa signifikantno zmanjšala (72). Ti odmerki (450 mg in 900 mg) so podobni terapevtskim odmerkom ciprofloksacina, zato bi se lahko teoretično uporabljal za zdravljenje kolitisa pri ljudeh.

Tabela XVII: Imunomodulatorni učinki zbranih fluorokinolonov in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo.

Učinkovine	Imunomodulatorno delovanje	Koncentracija
ciprofloksacin	zmanjša izločanje IL-8	4,96 μ g/mL (15 μ M)
	zmanjšanje izločanja vnetnih citokinov	7,5 mg/kg in 15 mg/kg <i>in vivo</i>
	zmanjšana sinteza citokinov (TNF- α , IL- 6)	50–100 μ g/mL
levofloksacin	stimulacija produkcije IL-2 in zmanjšana produkcija IL-1 β	5–100 μ g/mL
moksifloksacin	inhibicija izločanja vnetnih citokinov	5–20 μ g/mL
	inhibicija treh glavnih transdukcijskih poti, ki so vključene v vnetni odgovor (NF- κ B, aktivacija kinaze ERK ter c-Jun N-terminalne kinaze (JNK))	5–10 μ g/mL
grepafloksacin	inhibicija produkcije IL-1 α in IL-1 β , stimulacija sinteze IL-2, inhibicija izražanja vnetnih citokinov	1–30 μ g/mL
trovafloksacin	signifikantna inhibicija izločanja IL1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-6 ter IL-10	1–10 μ g/mL

4.3 PROTITUMORNE ZU

Protitumorne ZU so predvsem antiproliferativne in citotoksične snovi, ki se uporabljajo samostojno ali pa v kombinaciji z drugimi protitumornimi ZU (tabela XVIII). Z namenom, da se izkorenini največje možno število neoplastičnih celic, se v večini primerov uporablja največji dopustni odmerek zdravila (MTD). Pri teh odmerkih pa večina antiproliferativnih ter citotoksičnih učinkovin povzroči neželene stranske učinke, še posebej indukcijo imunosupresije. Poleg protitumornega delovanja pri višjih odmerkih pa pri nižjih odmerkih lahko vplivajo tudi na nekatere druge procese v gostitelju, kot je imunski odgovor, zaradi česar imajo določen terapevtski potencial. Medtem ko so protitumorni učinki izraženi šele blizu vrednosti MTD, pa se potencialno koristni učinki na imunski sistem kažejo že pri nižjih odmerkih (tabela XIX). Za biološka zdravila so te odmerke definirali kot »optimalni biološki sprejemljivi odmerki« (OBRMD). Predstavniki protitumornih ZU, ki bodisi posredno ali neposredno vplivajo na imunski sistem tako pri nizkih kot zmernih odmerkih, so **ciklofosfamid** ter ostale alkilirajoče snovi, **6-mekaptopurin**, **metotreksat**, **5-fluorouracil**, **vinblastin**, **doksorubicin**, **bleomicin**, **mitomicin C**, **cisplatin** in **nitrozurea** (75, 76).

Tabela XVIII: Protitumorne ZU, klasificirane glede na njihov mehanizem delovanja, ter njihove terapevtske plazemske koncentracije in običajni odmerki.

Učinkovine	Mehanizem/tarča delovanja	Terapevtska plazemska koncentracija in odmerek	Literatura
ciklofosfamid	ireverzibilno premreži DNA molekule celic in povzroči apoptozo	20,7–31,8 μM oz. 5,4–8,3 $\mu\text{g/mL}$ (300 mg; 1–5 mg/kg) (visoke doze večje od 120 mg/kg)	(73)
doksorubicin	inhibira podvojevanje DNA preko inhibicije biosinteze makromolekul	0,2–2 μM (2–4 mg/kg; 40–60 mg/mm ²)	(74)
paklitaksel	blokira mitozo celic in tako povzroči njihovo apoptozo	1–10 μM oz. 0,2–0,4 $\mu\text{g/mL}$ (135–175 mg/m ² ; 3,6–4,7 mg/kg)	(82)
imatinib mezilat	selektivni inhibitor tirozin kinaze	1–10 μM (400 mg/dan)	(84)

Tabela XIX: Imunomodulatorni učinki izbranih protitumornih ZU in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo.

Učinkovine	Imunomodulatorno delovanje	Koncentracija
ciklofosfamid	izčrpava regulatorne T-celice in krepi funkcijo efektorskih T-celic	nizki odmerki (1–5 mg/kg)
	poveča proliferativni odgovor T-celic z nespecifično stimulacijo TCR	
	izloča citokine (IFN, IL-2, IL-4, IL-10, IL-17)	
doksorubicin	krepi odgovor CTL	zmerni odmerki (5 mg/kg)
	krepi diferenciacijo makrofagov	nizki odmerki (2–4 mg/kg)
	inhibira regulatorne T-celice	
	stimulira produkcijo IL-2, IL-1, TNF- α , PGE ₂	
	krepi odgovor CTL	
	indukcija apoptoze/nekroze v priželjcu (selektivno izčrpavanje CD3-, CD4+, CD8+ celic)	
paklitaksel	inhibira tumorsko rast, sproži tumorsko specifičen imunski odziv v regionalnih bezgavkah	nizki odmerki v obliki cepiva DC (4–20 mg/kg)
	povzroči tumorsko infiltracijo s CD4+ in CD8+	
	inducira večje število IFN- γ iz CD8+	
	sproščanje citokinov (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8)	10–30 μ M
	povečanje izražanja PHK razreda II in posledično povečanje proliferacije T-celic	1–10 μ M
imatinib mezilat	inhibiracija T-celične proliferacije	2,9–3,9 μ M
	inhibicija produkcije TNF- α v mieloičnih celicah	1–10 μ M

Ciklofosfamid (CTX) je alkirajoča ZU. Pri nizkih odmerkih (1–5 mg/kg) inducira imunostimulatorne učinke preko aktivnega metabolita 4-hidroksi-peroksiciklofosfamida, s katerimi ojača protitumorno imunost pri živalih in ljudeh (76,79). CTX pri nizkih odmerkih izčrpava regulatorne T-supresorske celice in krepi funkcijo efektorskih T-celic. Prav tako z nespecifično stimulacijo TCR poveča proliferativni odgovor T-celic. Raziskave *in vitro* so pokazale, da je tarča ciklofosfamida prekurzor T-supresorskih celic. Velika verjetnost je, da je krepitev humoralnega in celičnega imunskega odgovora posledica inhibicije prekurzorjev regulatornih T-celic (76). Pri nizkih odmerkih CTX spodbudi izločanje citokinov iz Th1 in Th2-celic. Iz Th1-celic se izloča IFN in IL-2, Th2-celice pa povečajo izločanje IL-4 in IL-

10. Zaradi izločanja IL-2 Th1 celice omogočijo proliferacijo spominskih CD8+ CTL, ki so potrebni za lizo tumorjev. Opazili so tudi porast koncentracije IL-17, ki ga izločajo CD4+, kar kaže tudi na določeno mero Th17 polarizacije odziva. Th17 odziv med drugim vključuje povečano izločanje IL-2, TNF in IFN- γ iz Th17-celic (79).

Pri odmerku 20 mg/kg *in vivo* CTX deluje kot selektivni inhibitor regulatornih T-celic brez vpliva na funkcijo T-celic CD4+ in CD8+, medtem ko pri odmerku 200 mg/kg zavre rast tumorja tako pri imunokompetentnih kot tudi imunodeficitarnih miših (76). Nizki odmerki kažejo tudi učinkovito delovanje pri izčrpanju CD4+ in CD25+ celic po razvoju tumorja. Selektivno delovanje CTX proti CD4+ in CD25+ regulatornim T-celicam privede do zmanjšane produkcije IL-10, kar premakne ravnotežje Th1/Th2 odgovora v smer Th1.

Regulatorne T-celice izražajo visoke koncentracije galektina, ki naj bi bil ključen za imunosupresivno delovanje tumorskih celic. V nizkih odmerkih CTX izčrpa regulatorne T-celice in zmanjša izražanje galektina ter tako zavre s tumorji povzročeno imunosupresijo. Omenjeno imunostimulatorno delovanje nizkih odmerkov CTX-a bi lahko izkoristili zlasti v primernih kombinacijah pri kemoimunoterapiji (76).

Doksorubicin (DOX) je v zmernih odmerkih (5 mg/kg) izkazal ugodne odzive na mišjem modelu tumorja, saj je povzročil krepitev odgovora CTL na tumorje ter stimuliral delovanje citotoksičnih makrofagov, kar je privedlo do povečane produkcije IL-1, prostaglandina E₂ (PGE₂) in TNF- α (76). DOX je pri relativno nizkih odmerkih (2-4 mg/kg) prav tako okrepil odgovor CTL, dva dni pred in dva dni po apliciranem aloantigenu. Podobne odzive v smislu okrepljenega odgovora alogenskih vraničnih CTL so dobili tudi v poskusih na miših (5 mg/kg) kot tudi v eksperimentu *in vitro* (10 μ M). Stimulacijo CTL-jev povzroči povečana produkcija IL-2 in selektivna inhibicija T-regulatornih celic. DOX deluje tudi na NK-celice in limfokin aktivacijske celice (LAK), ki jih lahko bodisi stimulira ali pa jih inhibira, odvisno od danih pogojev. Na primer, ko DOX krepi zorenje in aktivacijo makrofagov, hkrati inhibira NK celice v vranici zaradi sproščenega PGE₂, stimulira pa jih v peritonealnem eksudatu celice (75,76).

Zbrani imunomodulacijski učinki DOX-a so:

- krepitev diferenciacije makrofagov,
- inhibicija regulatornih T-celic in NK-celic,
- stimulacija produkcije IL-2, IL-1, TNF- α , PGE₂,
- stimulacija odgovora CTL,
- induciranje apoptoze/nekroze v priželjcu (selektivno izčrpavanje CD3-, CD4+, CD8+ celic) (76).

DOX inducira makrofage, dokazali pa so, da stimulacija makrofagov vodi do stimulacije T-celic in inhibicije T-supresorskih celic. Te imunomodulatorne učinke bi lahko izkoristili pri protitumorni terapiji (75,76).

Paklitaksel (PTX) je širokospektralna protitumorna ZU, ki primarno deluje zaviralno na delitev tumorskih celic. Prav tako pa ima zanimive sekundarne farmakodinamske učinke, saj deluje kot imunostimulans in regulira aktivacijo limfocitov, vpliva pa tudi na ostale celice imunskega sistema kot so makrofagi, DC, NK ter na T- in B- celice (80). PTX deluje protitumorno preko aktivacije makrofagov in s tem preprečuje neoplazijo celic, saj makrofagi izkazujejo posredno citotoksičnost proti tumorskim celicam ali pa neposredno citotoksičnost preko sproščanja vnetnih citokinov (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8), ki aktivirajo NK-celice, CTL ter DC, kar v končni fazi privede do protitumornega imunskega odgovora. Prav tako inducira različne gene, ki kodirajo transkripcijske faktorje in spodbujevalne faktorje rasti kolonij (CFS). Te učinke so ugotovili v različnih študijah *in vitro* na glodalskih makrofagih in človeških monocitih v koncentracijskem območju 10–30 μ M, vendar se te koncentracije v terapevtskih odmerkih ne pojavljajo (80,81).

Nizki odmerki PTX (4–20 mg/kg) so v kombinaciji z imunoterapijo (cepivo iz dendritičnih celic) na glodalskem modelu raka pljuč pokazali bolj uspešno zdravljenje kot zdravljenje s samim PTX ali celičnim cepivom. Uporabljena kombinacija je zavrla tumorsko rast, povzročila tumorsko infiltracijo s CD4+ in CD8+, povečala izločanje IFN- γ iz CD8+ ter sprožila imunski odziv v regionalnih bezgavkah. PTX je tudi pri nizkih odmerkih dovolj močan, da inducira fagocitozo tumorskih antigenov z DC, ki s tem pospešijo svojo dozorevanje in sprožijo protitumorski imunski odziv. Visoki odmerki PTX (40 mg/kg) pa so citotoksični, saj povzročijo apoptozo DC (82). V eksperimentu *in vitro* PTX pri nizkih

koncentracijah sicer ni citotoksičen za DC, saj so Justin in sodelavci dokazali več kot 80 % preživetje celic, izpostavljenih PTX-u za 24 in 48 ur pri koncentracijah, nižjih od 100 μM (83).

PTX pri višjih koncentracijah sicer deluje imunosupresivno, vendar pri nizkih koncentracijah (1–10 μM) povzroči stimulacijo številnih funkcijskih sposobnosti DC. Pri klinično relevantnih koncentracijah poveča izražanje PHK II in tako inducira proliferacijo alogeničnih T-celic, pri nizkih koncentracijah pa je inhibiral tudi izločanje nekaterih vnetnih citokinov (TNF- α , IL-10, IL-8) (83). PTX bi lahko bil imunomodulatorni kemoterapevtik na modulacijo DC. Glede na koncentracijo lahko deluje tako imunostimulatorno kot imunosupresivno.

Imatinib mezilat je selektivni inhibitor tirozin kinaze in se uporablja pri zdravljenju kronične mieloične levkemije (CML), gastrotestinalnih stomalnih tumorjev, eozinofilnih bolezni ter sistemskih bolezni mastocitov. Standardni odmerek, s katerim se doseže serumsko koncentracijo med 1–10 μM , je 400 mg/dan. Različne študije so pokazale, da se pri dolgotrajnem zdravljenju z visokimi odmerki lahko pokažejo tudi učinki na imunski sistem. Allan in sodelavci so ugotovili, da imatinib mezilat pri terapevtskih koncentracijah (2,9–3,9 μM) inhibira T-celično proliferacijo pri zdravljenju CML in gastrointestinalnega stomalnega tumorja (84). Inhibicija T-celične proliferacije lahko klinično koristi pri kontroliranju T-celičnih malignosti ter avtoimunskih bolezni. Wolf in sodelavci pa so dokazali inhibicijo produkcije TNF- α v mieloičnih celicah *in vivo* ter *in vitro* pri terapevtskih koncentracijah 1–10 μM , kar bi lahko blagodejno delovalo pri zdravljenju okvare jeter, povzročene preko TNF- α (85).

4.4 NESTEROIDNE PROTIVNETNE ZU (NSAID)

Nesteroidne protivnetne ZU (NSAID), med katere sodijo **fenoprofen, indometacin, piroksikam, aceklofenak, diklofenak, sulindak, celekoksib** in **acetilsalicilna kislina**, se uporabljajo za lajšanje simptomov pri akutnih ter kroničnih vnetjih (tabela XX). Inhibirajo encim ciklooksigenazo (COX), ki katalizira produkcijo prostaglandinov v vseh celicah, vključno z imunskimi celicami, kot so npr. makrofagi. Imunski odgovor stimulirajo že pri klinično dosegljivih odmerkih. NSAID namreč izkazujejo imunostimulatorne učinke na makrofage in T-celično posredovan imunski odgovor, kar se kaže s povečanim sproščanjem TNF α , produkcijo NO, celično adhezijo ter limfocitno proliferacijo (tabela XXI) (86).

Tabela XX: NSAID, klasificirane glede na njihov mehanizem delovanja ter njihove terapevtske plazemske koncentracije in običajni odmerki

Učinkovine	Mehanizem/tarča delovanja	Terapevtska plazemska koncentracija in odmerek	Literatura
acetilsalicilna kislina	inhibicija COX	10–100 μ M (81–800 mg)	(86,87)
fenilbutazon		32,4–324,3 μ M oz. 10–100 μ g/mL (2,2–4,4 mg/kg)	(86,88)
indometacin		2,8–5,6 μ M oz. 1–2 μ g/mL (25–75 mg)	(89)
diklofenak		3,4–33,8 μ M oz. 0,6–10 μ g/mL (25–100 mg)	(90)

Imunomodulatorne učinke NSAID je Cho s sodelavci dokazal že pri realno dosegljivih koncentracijah od 10 do 100 μ g/ml. **Acetilsalicilna kislina** in **fenilbutazon** sta namreč povečala izločanje *in vitro* TNF α in za 20 % do 40 % znižala sproščanje NO iz LPS-aktiviranih glodalskih makrofagov ter izkazala 50 % do 100 % supresijo proliferacije T-celic na kulturi glodalskih splenocitov (86).

V eksperimentu na vzorcih polne krvi pa je acetilsalicilna kislina izkazala dvofazno delovanje, saj je pri izredno visokih koncentracijah (10–15 mM) zavrla izločanje IL-2, IFN- γ , IL-12, IL-6, IL-8 in TNF- α , medtem ko je pri nizkih koncentracijah (0,1-1 μ M) povečala produkcijo IL-2, IFN- γ , IL-6, IL-8 in TNF- α . **Indometacin** je na istem celičnem modelu od koncentracije odvisno (1–50 μ M) povečal izločanje IL-6 in TNF- α . Vpliv NSAID na izražanje in izločanje vnetnih citokinov je povezan z inhibicijo COX-2 (91).

Diklofenak se uporablja tudi za lajšanje bolečin pri avtoimunskih boleznih, kot je revmatoidni artritis. Za paciente z avtoimunskimi boleznimi je značilno povečano število spominskih efektorskih T-, ki prekomerno izražajo kalijeve kanale Kv1.3, ki imajo pomembno vlogo pri aktivaciji ter proliferaciji T-celic in makrofagov. Odgovorni so namreč za napetostno odvisni tok kalija v T-celicah, v makrofagih pa tok kalija ustvari asociacijo med Kv1.3 in Kv1.5. Diklofenak je v izvedeni študiji *in vitro* v območju terapevtskih koncentracijokrog 1,5–15 μ M inhibiral izražanje Kv1.3 v LPS-aktiviranih makrofagih in T-celicah. Enake učinke so izkazali tudi salicilati, kot je npr. acetilsalicilna kislina (0,3 mM) in indometacin (0,1 mM) v študiji *in vitro* na glodalskih timocitih. Slednje koncentracije pa so vseeno previsoke in potencialno toksične. Ker je Kv1.3 zanimiva tarča za avtoimunsko terapijo, bi lahko bili omenjeni imunosupresivni učinki uporabni pri njenem načrtovanju (92,93).

Tabela XXI: Imunomodulatorni učinki NSAID in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo

Učinkovine	Imunomodulatorno delovanje	Koncentracija
acetilsalicilna kislina	povečano izločanje TNF α	55,5–555,0 μ M oz.
	znižano sproščanje NO	
	supresija proliferacije T-celic	10–100 μ g/mL
	inhibicija produkcije IL-2, IFN- γ , IL-12, IL-6, IL-8 in TNF- α	15 mM
	indukcija produkcije IL-2, IFN- γ , IL-6, IL-8 in TNF- α	0,1–1 μ M
fenilbutazon	povečano izločanje TNF α	32,4–324,3 μ M oz.
	znižano sproščanje NO	
	supresija proliferacije T-celic	10–100 μ g/mL
indometacin	povečano izločanje IL-6 in TNF- α	1–50 μ M
diklofenak	inhibira izražanje Kv1.3 v aktiviranih makrofagih in T-celicah	5,1 μ M oz. 1,5 μ g/mL

4.5 KARDIOVASKULARNE ZU

Kardiovaskularne ZU se uporabljajo za zdravljenje bolezni srca, krvnega obtoka in žilnega sistema (tabela XXII). Študije pri pacientih s srčno okvaro so pokazale visoko izražanje vnetnih citokinov in tako negativno vplivajo na krčljivost srčne mišice.

Tabela XXII: Kardiovaskularne ZU, klasificirane glede na njihov mehanizem delovanja ter njihove terapevtske plazemske koncentracije in običajni odmerki.

Učinkovine	Mehanizem/tarča delovanja	Terapevtska plazemska koncentracija in odmerek	Literatura
furosemid	zavira absorpcijo natrija, klorida in vode v ledvičnih cevkah, kar povzroči diurezo	3,0–10,6 μM oz. 1,0–3,5 $\mu\text{g/mL}$ (20–80 mg)	(94)
kaptopril	zavira encim angiotenzin-konvertazo in prepreči pretvorbo angiotenzina v aktivno obliko in tako posledično zniža krvni tlak	0,2–1,1 μM oz. 0,05–0,23 $\mu\text{g/mL}$ (75–450 mg/dan)	(95)
digoksin	inhibira Na-K-ATP membransko črpalko in poveča intracelularno koncentracijo natrija	< 6,4 nM oz. < 5 ng/mL (0,25–0,50 mg)	(96)
simvastatin	inhibitorji encima HMG-CoA reduktaze, ki sodeluje v biosintezi holesterola	45–74 nM oz. 19–31 ng/mL (40 mg)	(97)
atorvastatin		10,7–12,5 nM 6–7 ng/mL (5 mg)	
lovastatin		0,12 μM oz. 50 ng/mL (80 mg)	
nifedipin	inhibitorji kalcijevih kanalčkov	0,07–0,4 μM oz. 25–150 ng/mL (10 - 90 mg)	(98)
benidipin		1,0–10,9 nM oz. 0,5–5,5 ng/mL (2–8 mg)	(99)

Sheikhi in sodelavci so objavili vpliv kardiovaskularnih ZU (furosemid, kaptopril in digoksin) na zmanjšanje izločanja vnetnih citokinov iz PBMC-celic bolnikov s kronično odpovedjo srca. **Furosemid** je pri koncentracijah 0,75 ng/mL, 1,5 ng/mL in 3 ng/mL povzročil koncentracijsko odvisno inhibicijo izločanja TNF- α . **Kaptopril** je pri 0,3 ng/mL, 1,0 ng/mL in 3,0 ng/mL povzročil od koncentracije odvisno inhibicijo izločanja IL-6, medtem ko **digoksin** ni imel nobenega učinka na inhibicijo oziroma stimulacijo citokinov. Povprečna vrednost uporabljenih koncentracij sicer predstavlja normalno plazemsko oziroma terapevtsko koncentracijo pri zdravljenju kronične odpovedi srca. Ker pri kronični odpovedi srca pride do povišane koncentracije vnetnih citokinov, bi lahko ti protivnetni učinki pripomogli k zdravljenju in tako blagodejno vplivali na bolnike (100).

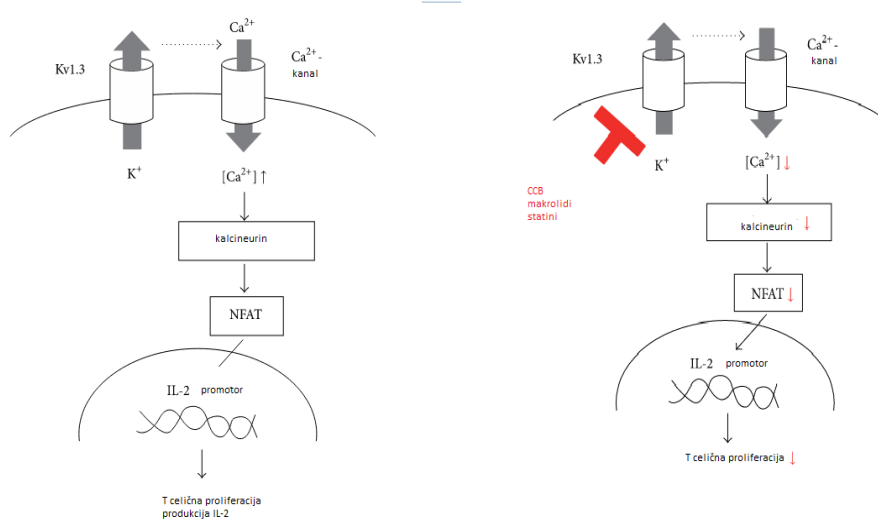
Veliko vlogo pri zdravljenju kardiovaskularnih bolezni imajo tudi ZU, ki znižujejo nivo holesterola v krvi, to so tako imenovani **statini** (atorvastatin, lovastatin, pravastatin in rosuvastatin). **Statini** so zaviralci encima HMG-CoA reduktaze, ki sodeluje v biosintezi holesterola. Ugotovili pa so, da statini lahko modulirajo tudi imunski odgovor, še posebej močan vpliv imajo na diferenciacijo in proliferacijo monocitov, makrofagov in T-celic ter na aktivnost izločanja nekaterih citokinov iz teh celic. Zavrejo namreč izločanje vnetnih citokinov, kot so TNF- α , IFN- γ , IL-17, IL-23, ter povečajo izločanje IL-10 in število regulatornih T-celic. Ti učinki naj bi bili posledica sinergističnih učinkov znižane koncentracije holesterola v plazmi (tabela XXIII) (101,105).

Glavna klinično relevantna imunska učinka statinov, ki so jih opazili, sta:

1. Inhibicija izražanja PHK-II na človeških makrofagih, endotelnih celicah in gladkih mišičnih celicah, stimuliranih z IFN- γ , kar so zaznali že pri nanomolarnih kot tudi mikromolarnih koncentracijah statinov. Učinek je sicer omejen le na APC, dodatno stimulirane z IFN- γ . Redukcija izražanja PHK-II vodi do redukcije proliferacije in diferenciacije T-celic. Mešane limfocitne reakcije so pokazale, da tretiranje endotelijskih in gladkomišičnih celic s statini zmanjša proliferacijo T-celic in sproščanje IL-2.
2. Imunosupresivni učinek statinov predstavlja selektivna blokada β 2 integrina LFA-1 (z levkocitno funkcijo povezanim antigenom-1), poznanega tudi kot CD11a/CD18, ki je izražen na površini levkocitov. Po aktivaciji se le-ta veže na ICAM-1 in povzroči adhezijo celic, hkrati pa je pa tudi ko-stimulator T-celic. Statini blokirajo LFA-1, kar

vodi do zmanjšane adhezije celic in stimulacije T-celic ter tako delujejo imunosupresivno (101).

Podobno kot makrolidi in diklofenak imajo tudi statini zaviralni učinek na tok skozi Kv1.3 kanale, izražene na T-celicah, in na vlogo pri njihovi proliferaciji in aktivaciji. Odgovorni so za patogenezo ledvičnih bolezni, kot je kronično vnetje ledvic in za hiperstimulacijo celične imunosti. Imajo pa tudi pomembno vlogo pri razvoju avtoimunskih bolezni. Kv1.3 skupaj s K_{Ca} (s kalcijem aktivni kalijev kanal) regulirajo membranski potencial v mirovanju in upočasnijo pretok aktivnega Ca^{2+} preko Ca^{2+} kanala v T-celicah. Ta pretok pa aktivira od Ca^{2+} odvisen signal transkripcijske poti in tako inducira aktivacijo, proliferacijo T-celic in sproščanje IL-2 (Slika 3) (102, 103).



Slika 3: *Levo:* Aktivacija T-celic preko Kv1.3 kanalov (znotrajcelični Ca^{2+} stimulira aktivnost kalcineurina, ki defosforilira jedrni faktor aktiviranih T-celic (NFAT), ki se veže na promotor gena, ki kodira IL-2). *Desno:* Blokada toka Kv1.3 z različnimi ZU (znižana T-celična proliferacija) (prirejeno po 102).

Lovastatin je v eksperimentu *in vitro* blokiral tok Kv1.3 in pritok aktivnega Ca^{2+} pri koncentracijskem območju 30–100 μ M in tako posledično zavrl proliferacijo ter sproščanje IL-2 iz človeških T-celic. V istem koncentracijskem območju je prav tako znižal od Ca^{2+} odvisne transkripcijske faktorje NFAT1 in NF- κ B p65/50, ni pa blokiral toka K_{Ca} pri koncentraciji 30 μ M. Opisane koncentracije so precej višje kot terapevtske, zato v realnem scenariju ni pričakovati imunomodulatornih učinkov (103).

Zaradi omenjenih imunomodulatornih učinkov bi lahko bili statini koristni ne samo pri arteriosklerozi, ki vključuje vnetne procese, ampak tudi pri nekaterih avtoimunskih boleznih (101).

Na tok Kv1.3 prav tako delujejo zaviralci kalcijevih kanalčkov (CCB). Predstavniki so **nifedipin, benidipin, diltiazem in verapamil**. CCB zavrejo dotok Ca^{2+} skozi kanale in tako spodbujajo sprostitvev gladkih mišičnih sten srca in ožilja. Poleg njihovih učinkov na hipertenzijo in ishemično bolezen srca so tudi znane po njihovih imunosupresivnih učinkih, saj zmanjšajo migracijo levkocitov ter zavrejo njihovo proliferacijo in sproščanje vnetnih citokinov. Te imunosupresivne učinke izražajo preko blokade toka skozi Kv1.3. Kazama in sodelavci so v študiji *in vitro* na glodalskih timocitih ugotovili, da nifedipin pri 100 μ M in benidipin pri 10 μ M blokirata tok skozi Kv1.3 (104). Opisani imunomodulatorni učinki se izražajo pri precej povišanih koncentracijah in tako predvidevamo, da se pri terapevtskih koncentracijah ne bi izražali.

Tabela XXIII: Imunomodulatorni učinki zbranih kardiovaskularnih ZU in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo.

Učinkovine	Imunomodulatorno delovanje	Koncentracija
furosemid	inhibicija izločanja TNF- α	0,75–3 ng/mL
kaptopril	inhibicija izločanja IL-6	0,3–3,0 ng/mL
statini (simvastatin, atorvastatin, lovastatin, furosemid)	inhibirajo izločanje vnetnih citokinov (TNF- α , IFN- γ , IL-17, IL23)	19–31 ng/mL (simvastatin) 6–7 ng/mL (atorvastatin) 50 ng/mL (lovastatin)
	povečajo izločanje IL-10 in število regulacijskih T-celic	
	inhibicija izražanja PHK-II na človeških makrofagih	
	blokirajo LFA-1, kar vpliva na adhezijo celic in stimulacijo T-celic	
lovastatin	blokira tok skozi Kv1.3 in pritok aktivnega Ca^{2+}	30–100 μ M
nifedipin	blokira tok skozi Kv1.3 v glodalskih timocitih	100 μ M
benidipin	blokira tok skozi Kv1.3 v glodalskih timocitih	10 μ M

4.6 ANTIDEPRESIVI

Antidepresivi so ZU za zdravljenje motenj razpoloženja, kot so depresija, tesnobe, panične motnje, socialne fobije ter obsesivno kompulzivne motnje. Najpogosteje uporabljeni antidepresivi so razdeljeni v skupine glede na način delovanja (tabela XXIV):

1. selektivni zaviralci privzema serotonina,
2. selektivni zaviralci privzema serotonina in noradrenalina,
3. zaviralci privzema noradrenalina in dopamina.

Tesne interakcije med imunskim, endokrinim in živčnim sistemom omogočajo organizmu, da se različno odziva na zunanji ali notranji stres. Depresija je razpoloženje, ki izvira iz nezmožnosti reagiranja organizma na takšne spremembe (106,118,119).

Obstaja nekaj možnih poti za razvoj depresije:

- Klinične študije so pokazale, da so monoamini (noradrenalin, dopamin in serotonin) ključnega pomena pri razvoju sindroma depresije.
- Depresija se lahko razvije tudi med kroničnimi infekcijami. Vzrok naj bi bila povezava med imunskimi spremembami in psihičnimi simptomi. »Makrofagna teorija depresije« predpostavlja, da je pretirano izločanje vnetnih citokinov (IL-1, TNF- α ter IFN- γ) iz makrofagov odgovorno za razvoj depresije (118,119).

Možgani sodelujejo z imunskim sistemom preko osi hipotalamus-hipofiza-nadledvična žleza (os HPA) in preko simpatičnega živčnega sistema (SNS). Simpatični živčni končiči so opremljeni s presinaptičnimi regulatorji sproščanja, imenovani α_2 -adrenoceptorji, ki preko negativne povratne zanke posredujejo informacije o sproščanju **noradrenalina** (NA). Ker imunske celice izražajo adrenoceptorje, lahko NA deluje na imunski sistem neposredno preko β_2 -adrenoceptorja in posredno preko modulacije sproščanja endogenega NA, ki je lahko posledica delovanja nekaterih zdravilnih učinkovin (106). Naprimer pri študiji *in vivo* z antipsihotikom reserpinom (5 mg/kg) se je značilno povečala produkcija z LPS-induciranega izločanja TNF- α zaradi sproščanja endogenega NA, kontroliranega preko presinaptičnih α -adrenoceptorjev. Nekateri visoko selektivni antagonisti α -adrenoceptorjev (CH-38083) pa so preko zaviranja negativne povratne zanke zmanjšali z LPS-inducirano izločanje TNF- α v miših (107). S študijo *in vitro* pa so dokazali, da pri 10 μ M deluje imunosupresivno na mikrogialne celice. Mikrogialne celice izražajo adrenergične receptorje,

NA ter ostali adrenergični agonisti pa lahko zatrejo izločanje vnetnih citokinov (IL-1 β , TNF- α) ter sintezo NO iz z LPS-induciranih mikroglialnih celic (108). NA lahko tako deluje imunostimulatorno kot imunosupresivno. Številni imunski procesi so povzročeni preko modulacije SNS in odvisni tudi od časovnega poteka ter vključenih ostalih signalnih poti. Reakcije akutnega stresa, travme ali poškodbe možganov inducirajo aktivacijo simpatičnih živčnih poti, kar v končni fazi privede do sistemskega sproščanja protivnetnih citokinov, kot je IL-10, s tem pa do imunosupresije in posledično tudi povečanega tveganja za infekcije (106). Imunomodulatornih učinkov **dopamina** (DA) in **serotonina** (5-hidroksitriptamin (5-HT)) niso raziskali v enaki meri kot pri noradrenalinu. Imunomodulatorni učinki DA in 5-HT so odvisni od podtipa receptorjev, ki jih zasedejo. Supresivni učinki DA (0,01–100 μ M) so na produkcijo IL-12 p40 v kultiviranih makrofagih posredovani preko β -adrenoreceptorjev in ne preko DA-receptorjev, saj antagonisti DA-receptorjev niso uspeli preprečiti tega inhibitornega učinka, preprečili pa so ga antagonisti β -adrenoreceptorjev (106,109).

Tabela XXIV: Antidepresivi, klasificirani glede na njihov mehanizem delovanja ter njihove terapevtske plazemske koncentracije in običajni odmerki.

Učinkovine	Mehanizem/tarča delovanja	Terapevtska plazemska koncentracija in odmerek	Literatura
desipramin	vzpostavljajo normalno raven neurotransmiterjev z zaviranjem njihovega ponovnega privzema iz sinaps v CZS	> 0,5 μ M oz. >125 ng/mL (100–200 mg/dan)	(110)
amitriptilin		0,1–0,4 μ M oz. 40–100 ng/mL (75–150 mg/dan)	(111)
mianserin		0,08–0,2 μ M oz. 20–60 ng/mL (30 mg)	(112)
fluoksetin	selektivni zaviralci ponovnega privzema serotonina (SSRI)	0,05–0,17 μ M oz. 15–55 ng/mL (40 mg)	(113)

paroksetin	selektivni zaviralci ponovnega privzema serotonina (SSRI)	0,06–0,18 μ M oz. 20–60 ng/mL (10–40 mg)	(114)
sertralin	selektivni zaviralci ponovnega privzema serotonina (SSRI)	0,46 μ M oz. 142 ng/mL (200 mg/dan)	(115)

Zdravljenje s **tricikličnimi antidepressivi** (TCA) ima kompleksne časovno odvisne imunoregulatorne učinke. Kratkoročna aplikacija TCA namreč stimulira celično posredovano imunost, medtem ko je v študiji *in vivo* dolgoročna terapija s TCA pri terapevtskem odmerku 10 mg/kg povečala izločanje IL-1 β (**desipramin**) oziroma IL-10 (**amitriptilin**). Mehanizem, kako TCA vplivajo na izločanje citokinov, je sicer še nepojasnen (106,116).

Amitriptilin, **mianserin** in **fluoksetin** so pri koncentracijah 10 ng/mL inhibirali izločanje vnetnih citokinov in inducirali izločanje protivnetnega IL-10 iz makrofagov. S supresijo vnetnih citokinov in induciranjem protivnetnih citokinov potencialno lajšajo simptome depresije (117).

Taler in sodelavci so *ex vivo* ovrednotili imunomodulatorne učinke selektivnih zaviralcev ponovnega prevzema serotonina (SSRI) v T-celicah in opazili, da sta **paroksetin** in **sertralin** pri 10 μ M zmanjšala proliferacijo-T celic ter inhibirala izločanje TNF- α . Uporabljene koncentracije so sicer več kot 10-krat višje od terapevtskih koncentracij antidepressivov (<1 μ M) (118). Na živalskem modelu multiple skleroze pa so ugotovili, da sertralin koncentracijsko odvisno 2,5–30 μ M zmanjša izločanje treh vnetnih citokinov IL-22, IFN- γ in TNF- α iz splenocitov (120).

Derivati amfetamina, kot so metilendioksimetamfetamin (MDMA) in metilen dioksiamfetamin (MDA), zvišujejo ravni NA, DA in 5-TH. Connor in sodelavci so v študiji *in vivo* na podganah pri odmerku 10 mg/kg dokazali, da MDMA in MDA zmanjšata število cirkulirajočih limfocitov, kar privede do znižane koncentracije IFN- γ in povečane koncentracije IL-10 v razredčeni kulturi polne krvi. Prav tako sta znižala sproščanje TNF- α iz z LPS-stimuliranih celic polne krvi. Vpliv derivatov amfetamina je bil viden tudi na T-

celicah, saj sta MDMA in MDA inhibirala produkcijo IL-10 iz Th2-celic in znižala izločanje IL-2 iz Th1-celic. Serumske koncentracije so bile sicer enake kot pri ljudeh pri zdravljenju z omenjenimi derivati amfetamina (121).

V spodnji tabeli XXV so povzeti imunomodulatorni učinki izbranih antidepresivov in koncentracije, pri katerih se ti učinki pojavljajo.

Tabela XXV: Imunomodulatorni učinki izbranih antidepresivov in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo.

Učinkovine	Imunomodulatorno delovanje	Koncentracija
desipramin	poveča izločanje IL-1 β	10 mg/kg
amitriptilin	poveča izločanje IL-10	10 mg/kg
	inhibicija izločanja vnetnih citokinov in indukcija IL-10	10 ng/mL
SSRI (paroksetin, sertralin)	zmanjšanje proliferacije T-celic	10 μ M
	inhibicija izločanja TNF- α	
	zmanjšanje izločanja citokinov IL-22, IFN- γ in TNF- α	2,5–30 μ M
derivati amfetamina (MDMA, MDA)	zmanjšano sproščanje TNF- α	10 mg/kg (terapevtski odmerki)
	inhibicija produkcije IL-10 iz Th2	
	MDMA in MDA sta znižala izločanje IL-2 iz Th1	

4.7 ANTIHISTAMINIKI

Antihistaminiki so učinkovine, ki preprečujejo in zmanjšujejo biološki učinek histamina v organizmu. Histamin posreduje alergijski/vnetni odgovor preko vezave na specifične histaminske receptorje: H₁, H₂, H₃ in H₄. V spodnji tabeli XXVI so predstavljeni nekateri tipični antagonisti histaminskih receptorjev (119,122), v tabeli XXVII pa so predstavljeni tipični predstavniki antihistaminikov in njihove terapevtske koncentracije oziroma odmerki.

Tabela XXVI: Predstavitev histaminskih tipov receptorjev ter njihovih antagonistov.

Tip receptorja	Nahajanje	Vloga	Primeri učinkovin, ki delujejo kot antagonisti
			Klinično uporabljeni
receptor H1	gladka mišičnina, endotelij, osrednje živčevje	povzroča bronhodilatacijo, vazodilatacijo	desloratadin, bromfeniramin, cetirizin, loratadin, prometazin, difenhidramin
receptor H2	gladka mišičnina v stenah žil	udeležen pri vazodilataciji, spodbuja nastajanje želodčne kisline	cimetidin, famotidin, lafutidin, nizatidin, ranitidin
			Eksperimentalno uporabljeni
receptor H3	osrednje živčevje	zavira sproščanje živčnih prenašalcev	ciproksifan, klobenpropit, konesin
receptor H4	predvsem bazofilci, kostni mozeg, priželjc, tanko črevo	Ima pomembno vlogo pri kemotaksi	tioperamid, JNJ 7777120, VUF-6002

Tabela XXVII: Antihistaminiki, klasificirani glede na njihov mehanizem delovanja ter njihove terapevtske plazemske koncentracije in običajni odmerki.

Učinkovine	Mehanizem/tarča delovanja	Terapevtska plazemska koncentracija in odmerek	Literatura
olopatadin	antagonisti histaminskih receptorjev	1,8 - 12 nM oz. 0,6 - 4,1 ng/mL (1 mg/dan)	(123)
epinastin		7 - 140 nM oz. 18 - 36 ng/mL (20 mg/dan)	(131)
terferadin		3,2 nM oz. 1,54 ng/mL (120 mg/dan)	(124)
ebastin		4,2–12,8 nM oz. 2–6 ng/mL (10 mg/dan)	(126)
carebastin		120–260 nM oz. 60–130 ng/mL (10 mg/dan)	(125)
cetirizin		800 nM oz. 311 ng/mL (10 mg/dan)	(127)

Pri preobčutljivostnih alergijskih reakcijah so antagonisti histaminskega receptorja H₁ prva izbira terapije. Preobčutljivostne alergijske reakcije ne nastanejo le zaradi sproščanja histamina, ampak so povezane tudi s povečanjem števila Th2-celic, ki izločajo citokine IL-4, IL-5 in IL-13, ter zmanjšanjem števila Th1-celic, ki izločajo IL-2 in IFN- γ . IL-4 je odgovoren za produkcijo IgE, IL-13 inducira produkcijo IgG4 preko B-celic. IL-2 pa je bistven za periferno homeostazo regulatornih T-celic (122). V zadnjem obdobju so ugotovili, da ima večina antagonistov H₁-receptorjev druge generacije dodatne farmakološke učinke,

in sicer imunomodulatorne lastnosti, ki so neodvisne od njihovih učinkov na receptorje H1 (tabela XXVIII).

Kaskada imunskega odgovora vključuje mnogo raznolikih imunskih mediatorskih in efektorskih celic. Antagonisti H1-receptorjev so sposobni supresije Th2-celic, pri čemer se posledično zmanjša izločanje citokinov (IL-4, IL-5, IL-13), prav tako pa lahko s supresijo Th2-celic modulirajo imunsko kaskado preko zmanjševanja izločanja vnetnih citokinov (IL-6 in TNF- α) in kemokinov iz T-celic in makrofagov ter adhezijo molekul. V alergijskem odgovoru imajo vnetni citokini kot sta IL-6 in TNF- α in edotelijske adhezijske molekule bistven pomen pri vnetnem odzivu. Antagonisti receptorjev H1 druge generacije imajo učinke na alergijski vnetni odziv in tako motijo imunsko kaskado pri različnih točkah skozi različne mehanizme, vključno z inhibicijo sproščanja vnetnih mediatorjev (122).

Receptorji ICAM-1 imajo veliko vlogo pri kontaktnih alergijah in atopijskemu dermatitisu, predvsem pri interakcijah s celicami, povezanih s funkcijo ter diferenciacijo T-celic. Učinkovina druge generacije H1-antagonistov **cetirizin** pri zelo visokih koncentracijah (100–1000 μ M) blokira izražanje ICAM-1 na z IFN- γ induciranih keratinocitih. Pri vnetju kože keratinociti močno izražajo površinsko molekulo ICAM-1, ki igra pomembno vlogo pri reakciji limfociti/keratinociti (122,128). Z blokado ICAM-1 bi tako preprečili reakcijo keratinocitov s T-celicami in posledično spodbudili njihovo supresijo.

Pri atopijskem dermatitisu so zaznali kemokine Th2 tipa, kot so aktivacijsko-regulatorni kemokini (CCL17) in kemokini, ki jih izločajo makrofagi (CCL22). **Olopatadin** je pri odmerku 10 mg/kg zavrl izločanje CCL22 in CCL17 iz PBMC bolnikov z atopijskim dermatitisom, **epinastin** pa je pri visokih koncentracijah 2,5 in 5 μ M (623 ng/mL in 1246 ng/mL) zavrl sproščanje CCL17 iz CD4+ T celic periferne krvi (122,129,130,131).

Epinastin prav tako inhibira izločanje citokinov, kot so IL-10, IL-6 in TNF- α , ter poveča izločanje IL-12 iz DC že pri nizkih koncentracijah 25 ng/mL, ki so blizu terapevtskim koncentracijam epinastina 18–36 ng/mL (130,131). Tako lahko predvidevamo, da epinastin tudi v realnem kliničnem scenariju izraža opisane imunomodulatorne učinke in tako deluje protivnetno ter blagodejno deluje pri zdravljenju alergijskih reakcij.

Citokini Th2 celic imajo kritično vlogo pri patogenezi alergijskih preobčutljivostnih reakcij. Pri terapiji bi bilo smiselno uporabiti H1-antagoniste kot modulatorje izločanja Th2-

citokinov, saj inhibirajo le produkcijo citokinov tipa Th2 (IL-4 ter IL-5), ne pa tudi produkcije citokinov tipa Th1 (IFN- γ). Takšne učinke so opazili pri študiji *ex vivo* na T-celicah periferne krvi, zbrane iz zdravih prostovoljcev, ki so jih stimulirali s **terfenadinom** (64 μ M), **ebastinom** (5 μ M) in **carebastinom** (100 μ M). Ebastin in carebastin sta prav tako zavrla sproščanje vnetnih citokinov, kot sta IL-6 in TNF- α (122). Opisane koncentracije pa so precej višje od terapevtskih, kar pomeni da v realnosti ne bi prišlo do imunomodulatornega učinka.

Tabela XXVIII : Imunomodulatorni učinki izbranih antagonistov H1-receptorjev in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo.

Učinkovine	Imunomodulatorno delovanje	Koncentracija
cetirizin	blokira izražanje ICAM-1 na IFN- γ induciranih keratinocitih	100–1000 μ M
olopatadin	zavrl izločanje CCL22 in CCL17 iz PBMC-bolnikov z atopijskim dermatitisom	10 mg/kg
epinastin	zavrl sproščanje CCL17 iz CD4+ T celic periferne krvi	2,5 in 5 μ M
	inhibira izločanje citokinov, kot so IL-10, IL-6 in TNF- α , ter poveča izločanje IL-12 iz DC	18–36 ng/mL
terfenadin	inhibicija produkcije Th2-citokinov (IL-4 ter IL-5)	64 μ M
ebastin	inhibicija produkcije Th2-citokinov (IL-4 ter IL-5) in inhibicija TNF- α in IL-6	5 μ M
cerebastin	inhibicija produkcije Th2-citokinov (IL-4 ter IL-5) in inhibicija TNF- α in IL-6	100 μ M

4.8 ANTIMALARIKI

Antimalariki so učinkovine, ki se primarno uporabljajo za preprečevanje in zdravljenje malarije (tabela XXIX). Prvotno so se uporabljale le za zdravljenje slednje, vendar so pokazale nekatere pozitivne imunomodulatorne in imunosupresivne učinke, zato se danes uporabljajo tudi pri zdravljenju revmatoidnega artritisa in eritomatoznega lupusa. Najbolj prepoznavna predstavnika sta **klorokin** in **hidroksiklorokin**, ki spadata v skupino kinolinov (132).

Tabela XXIX: Antimalariki, klasificirani glede na njihov mehanizem delovanja ter njihove terapevtske plazemske koncentracije in običajni odmerki.

Učinkovine	Mehanizem/tarča delovanja	Terapevtska plazemska koncentracija in odmerek	Literatura
klorokin	veže se na parazitne nukleoproteine in moti njihovo sintezo ter prepreči polimerizacijo hema v hemozoin	0,9–1,88 μM oz. 300–600 ng/mL (500 mg)	(133)
hidroksiklorokin		0,8–1,4 μM oz. 270–470 ng/ml (400 mg)	(134)

Klorokin in hidroksiklorokin že pri terapevtskih koncentracijah zavreta predstavljanje antigena na DC in sproščanje vnetnih citokinov, kot so TNF- α , IL-6 in IL-1 iz makrofagov (tabela XXX). Vnetni citokini imajo primarno vlogo pri patogenezi revmatoidnega artritisa, zato sta klorokin in hidroksiklorokin postala najpogosteje predpisani učinkovini za zdravljenje revmatskih obolenj. Jang in sodelavci so v študiji *in vitro* na z LPS-stimuliranih PBMC dokazali, da klorokin pri različnih koncentracijah od 0–100 μM povzroči inhibicijo vnetnih citokinov (TNF- α , IL-6 in IL-1) (132, 135). Protivnetni in imunomodulatorni učinki analogov klorokina so dobro opaženi pri terapevtskih koncentracijah, vendar njihov mehanizem ni popolnoma razjasnjen.

V nadaljevanju je omenjenih nekaj splošno znanih imunomodulatornih učinkov antimalarikov (132):

- inhibicija predstavitve antigena,
- inhibicija proizvodnje in sproščanje citokinov iz T-celic (IL1, IL-6, TNF- α , IFN- γ),
- povečanje aktivnosti regulacijskih T-celic in povečanje izločanja IL-10, IFN- γ , IL-12,
- zmanjšanje izločanja citokinov Th17,
- inhibicija stimulacije TLR9, ki sodelujejo v imunskem odgovoru,
- znižanje ravni kemokinov CCL2.

Analogi klorokina so sedaj v postopku preučevanja za zdravljenje drugih kožnih bolezni in različnih oblik raka. Njihove lizosomotropične lastnosti so najpomembnejše karakteristike pri zdravljenju malignih stanj. Klorokin se kopiči v lizosomih in viša njihov pH, kar poveča njihovo prepustnost in volumen. Vendar povišan pH ni zadosten za uničenje rakavih celic pri terapevtskih koncentracijah klorokina. Analogi klorokina pri terapevtskih koncentracijah lahko poškodujejo tumorske celice, če se sočasno s sevanjem poveča prepustnost lizosomov, kar povzroči sproščanje proteolitičnih encimov, ki poškodujejo celične funkcionalne proteine, kot so proteini plazemske membrane (132).

Analogi klorokina prav tako inhibirajo endosomske Tollu podobne receptorje (TLR) preko povišanja vrednosti pH znotraj endosomov, kar je pogoj za aktivacijo TLR. TLR so transmembranski receptorji na makrofagih, DC in drugih APC, ki so pomembni predvsem v sklopu prirojenega imunskega odziva. Pomembno vlogo imajo tudi pri povzročanju nekaterih avtoimunskih bolezni (lupus). Imunski kompleksi, ki so v obtoku, sestavljajo protitelesa in endogene nukleinske kisline. Endogene nukleinske kisline aktivirajo DC in B-celice preko aktivacije TLR7 in TLR9. Stimulacija z nukleinskimi kisljinami privede do izločanja IFN- α iz DC, kar povzroči proliferacijo in diferenciacijo avtoreaktivnih B-celic v plazmatke, ki proizvajajo avtoprotitelesa proti jedrnim protitelesom. Klorokin je v študiji *in vitro* pri koncentraciji 3 μ M na človeških embrionalnih ledvičnih celicah (HEK) preko vezave na nukleinske kisline inhibiral aktivacijo endosomskih TLR in tako deloval imunosupresivno. Glede na to, da koncentracija ni veliko višja od terapevtske, bi se lahko ti

učinki potencialno uporabili pri razvijanju novih učinkovin za zdravljenje avtoimunskih bolezni (136).

Tabela XXX: Imunomodulatorni učinki izbranih antimalarikov in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo.

Učinkovine	Imunomodulatorno delovanje	Koncentracija
klorokin	inhibicija izločanja vnetnih citokinov (TNF- α , IL-6 in IL-1)	0–100 μ M
klorokin in njegovi analogi	inhibicija aktivacije endosomatskih TLR	3 μ M

4.9 ZAVIRALCI FOSFODIESTERAZE

Fosfodiesteraze (PDE) so encimi, ki katalizirajo hidrolizo 3'5'-fosfodiesterske vezi cikličnih nukleotidov cAMP (adenozin 3'5' monofosfat) in (cGMP) (gvanozin 3'5' monofosfat). Ciklični nukleotidi so znotrajcelični sekundarni obveščevalci, ki imajo pomembno vlogo pri prenosu signala v mnogih fizioloških procesih in aktivirajo celične proteinske kinaze. Zaviralci fosfodiesteraze so ZU, ki neselektivno ali selektivno zavirajo enega ali več podtipov encimov PDE in tako zavrejo znotrajcelične sekundarne obveščevalce cAMP in cGMP (tabela XXXI). Nekateri zaviralci PDE, na primer **pentoksifilin in rolipram**, pa kažejo tudi zanimive imunomodulatorne učinke (137,138,139).

Tabela XXXI: Zaviralci fosfodiesteraze, klasificirani glede na njihov mehanizem delovanja ter njihove terapevtske plazemske koncentracije in običajni odmerki.

Učinkovine	Mehanizem/tarča delovanja	Terapevtska plazemska koncentracija in odmerek	Literatura
pentoksifilin	kompetativni neselektivni zaviralec fosfodiesteraze	33–77 ng/mL oz. 0,12–0,30 μ M (400mg)	(138)
rolipram	selektivni zaviralec PDE4	Uporablja se za farmakološke raziskave 0,1–5 mg/kg (<i>in vivo</i>)	(140)

Imunosupresivni učinki (XXXII) se lahko pojavijo pri povečanju znotrajceličnih ravni cAMP, saj lahko zavre številne znotrajcelične biološke procese, kot so aktivacija, proliferacija, izražanje T-celic, kot tudi zaviranje izločanja citokinov. Zaviralci PDE4 so odgovorni za zaviranje razgradnje cAMP in cGMP v celicah imunskega sistema, kar posledično vodi v zaviranje aktivacije imunskih celic in zaviranje izločanja vnetnih citokinov (TNF- α , IL-6, IFN- γ) ter tako delujejo protivnetno. Zaviralci PDE4, kot je npr. rolipram, se zaradi njihovih protivnetnih učinkov uporabljajo pri zdravljenju nekaterih pljučnih bolezni (astma, kronična obstruktivna pljučna bolezen, rinitis). **Rolipram** ima visok terapevtski potencial za zdravljenje vnetnih in z imunskim sistemom povzročenih bolezni, saj je v številnih študijah *in vitro* ter *in vivo* izkazal zaviranje izločanja vnetnih citokinov (137,138,139). V študiji *in vivo* na belih miših je pri koncentraciji 1 mg/ml zavrl izločanje TNF- α , IFN- γ in IL-12, zavrl pa je tudi izločanje citokinov (IFN- γ , IL-4) in proliferacijo T-celic v študiji *ex vivo* pri koncentracijskem območju od 0,5 do 10 μ M na PBMC zdravih prostovoljcev in bolnikov z multiplo sklerozo. V študiji *in vitro* je iz z LPS stimuliranih PBMC miši pri koncentraciji 3,1 μ M zavrl produkcijo NO. Zaviranje NO iz makrofagov je prav tako posledica zaviranja razgradnje cAMP (138,141,142,143).

Pentoksifilin spada v skupino neselektivnih zaviralcev PDE, ki je tako v študijah *in vivo* kot v *in vitro* dokazal protivnetne imunomodulatorne učinke na živalskih modelih in na bolnikih z avtoimunskimi boleznimi. Pri odmerku 5×400 mg je v dveh dneh značilno zmanjšal izločanje TNF- α iz PBMC izoliranih iz zdravih prostovoljcev, medtem ko ni bilo vpliva na izločanje IL-1 β , IL-6 in IL-8. To nam pove, da pentoksifilin pri terapevtskih koncentracijah izraža imunomodulatorne učinke. Pri koncentraciji 10 μ M je zavrl izločanje IL-2 in IFN- γ , medtem ko je pri višjih koncentracijah (100 μ M) zavrl izločanje vseh citokinov iz celic človeške polne krvi (138,144).

Zaviralci PDE so zelo zanimiva skupina ZU z odličnim terapevtskim potencialom za zdravljenje različnih stanj vnetja in imunskih bolezni, a so za doseganje popolnih protivnetnih učinkov potrebne dokaj visoke koncentracije pentoksifilina. Ni še dokazano, če je takšne koncentracije mogoče doseči *in vivo*, zato so potrebne nadaljnje klinične študije za ovrednotenje potencialne uporabe teh ZU pri zdravljenju protivnetnih in avtoimunskih bolezni.

Tabela XXXII. Imunomodulatorni učinki izbranih zaviralcev PDE in koncentracije, pri katerih se le-ti pojavljajo.

Učinkovine	Imunomodulatorno delovanje	Koncentracija
pentoksifilin	zaviranje izločanja IL-2 in IFN- γ iz celic polne krvi	10 μ M
	zaviranje izločanja vseh citokinov iz celic polne krvi	100 μ M
rolipram	zaviranje vnetnih citokinov (TNF- α , IFN- γ in IL-12)	0,5–10 μ M
	zaviranje NO iz PBMC miši	3,1 μ M

5. SKLEP

V magistrski nalogi smo s pregledom baz podatkov in literature raziskali zdravilne učinkovine, katerih sekundarni farmakološki učinki modulirajo delovanje imunskega sistema. Nadalje smo primerjali njihove koncentracije, pri katerih je prišlo do imunomodulatornega učinka, s terapevtskimi koncentracijami, ki se uporabljajo za primarno indikacijo. S primerjavo smo dobili vpogled, ali imunomodulatorni učinki v kliničnem okolju, torej pri uporabi standardnih odmerkov zdravilnih učinkovin, lahko pridejo do izraza.

- Od pregledanih **protivirusnih ZU** se v kliničnem okolju imunomodulatorni učinki najbolj izrazijo pri zaviralcih proteaze, ki predstavljajo velik potencial pri zdravljenju tudi drugih bolezni, kot je na primer rak, saj pri nizkih koncentracijah delujejo anti-angiogenetsko, protitumorno in protivnetno. Sakvinavir in ritonavir delujeta imunostimulatorno na PBMC, saj povečata izločanje vnetnih citokinov in bi tako lahko potencialno pomagala pri uravnavi citokinskega ravnotežja pri okužbi z virusom HIV. Nelfinavir zavre aktivnost proteosomske peptidaze. Ti imunosupresivni učinki pa bi se prav tako lahko uporabljali pri HIV-okuženih bolnikih, saj proteasomi predstavljajo osrednje proteaze ATP-odvisne poti ubikvitina (mali regulatorni protein), ki je vključen v številne celične procese, kot je zorenje virusa HIV.
- Od **protibakterijskih ZU** imajo velik potencial za blagodejno imunomodulatorno delovanje makrolidi, saj pri terapevtskih koncentracijah izrazito vplivajo na zaviranje vnetnih citokinov, povečajo sproščanje NO in zavrejo izražanje adhezijskih molekul. Tudi tetraciklini imajo v terapevtskem območju nevrozaščitne učinke, kar se kaže kot supresija aktivacije celic mikroglije in bi se lahko uporabljali pri zdravljenju multiple skleroze. Flurokinoloni delujejo protivnetno, saj zmanjšajo izločanje vnetnih citokinov tako pri terapevtskih kot tudi nekoliko višjih koncentracijah.
- **Protitumorne ZU**, kot so ciklofosamid, doksorubicin in paklitaksel izražajo imunostimulatorne učinke, ki se izražajo že pri nižjih odmerkih od terapevtskih. Preko zaviranja regulatornih T-celic, spodbujanja izločanja citokinov iz Th1- in Th2-celic ter okrepitve odgovora CTL, namreč okrepijo tako humoralni kot celični imunski odziv. Opisane imunostimulatorne učinke bi lahko izkoristili v primernih terapevtskih kombinacijah pri kemoimunoterapiji in za razvoj novih oblik zdravljenja, ki bi vključevale nižje odmerke protitumornih ZU. Imatinib mezilat v

terapevtskem območju inhibira T-celično proliferacijo in bi lahko bil potencialno uporaben pri kontroliranju T-celičnih malignosti ter avtoimunskih boleznih.

- **NSAID** izražajo imunomodulatorne učinke predvsem na makrofage in T-celično posredovan imunski odgovor že pri klinično dosegljivih odmerkih, kar se kaže s povečanim sproščanjem TNF- α , znižano produkcijo NO in supresijo limfocitne proliferacije.
- **Kardiovaskularne ZU**, ki izkazujejo zanimive imunosupresivne učinke pri terapevtskih koncentracijah, so statini, saj znižajo diferenciacijo in proliferacijo monocitov, makrofagov in T-celic ter zmanjšajo izločanje vnetnih citokinov, kot so TNF- α , IFN- γ , IL-17, IL23, in povišajo izločanje protivnetnega citokina IL-10.
- **Antagonisti H1-receptorjev** druge generacije izražajo pri terapevtskih koncentracijah imunomodulatorne učinke. Epinastin, ki je sposoben zmanjšati aktivacijo Th2-celic in posledično zmanjšati izločanje citokinov, kot so IL-4, IL-5 in IL-13, ki imajo kritično vlogo pri patogenezi preobčutljivostih alergijskih reakcij. Tako lahko antihistaminiki tudi preko zaviranja izločanja citokinov še dodatno blagodejno delujejo na zdravljenje alergijskih reakcij.
- **Antimalariki**, klorokin in njegovi analogi delujejo imunomodulatorno že pri terapevtskih odmerkih, saj zavrejo izločanje vnetnih citokinov (TNF- α , IL-6), inhibirajo predstavitev antigena in povečajo aktivnost regulatornih T-celic. Zaradi opisanih učinkov se že uporabljajo za zdravljenje revmatoidnega artritis, njihov potencial za zdravljenje kožnih bolezni in različnih oblik raka pa prav tako aktivno preučujejo v številnih študijah.
- **Zaviralci PDE**, kot je pentoksifilin, pa pri terapevtskih koncentracijah delujejo protivnetno, saj zavrejo izločanje vnetnega citokina TNF- α .

Veliko obravnavanih zdravilnih učinkovin ima že pri terapevtskih koncentracijah imunomodulatorne učinke, zaradi katerih bi se lahko potencialno uporabile pri terapiji drugih bolezni (npr. rakava obolenja, avtoimunske bolezni), kot je njihova primarna indikacija. Vseeno pa je potrebnih še veliko študij *in vitro/in vivo* ter kliničnih raziskav, predvsem pa boljše razumevanje sekundarne farmakodinamike na imunski sistem oziroma razumevanje mehanizmov delovanja, ki so v ozadju teh imunomodulatornih učinkov.

6. LITERATURA

1. Warrington R, Watson W, Kim LH, Antonetti FR: An introduction to immunology and immunopathology. Allergy Asthma Clin Immunol 2011; 7: S1.
2. Vozelj M: Temelji imunologije, DZS, 2000: 1-258.
3. Wikipedija. <https://sl.wikipedia.org/wiki/Fagocitoza#/media/File:Phagocytosis.png>. Dostop: 03.06.2016.
4. Boundless. <https://www.boundless.com/microbiology/textbooks/boundless-microbiology-textbook/immunology-11/antigen-presenting-cells-143/macrophages-727-6652/images/macrophage/>. Dostop:03.06.2016.
5. The free dictionary. <http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/neutrophil> Dostop:03.06.2016.
6. Austin community college. <http://www.austincc.edu/sstrong/eosinophil> Dostop: 03.06.2016.
7. Studyblue. https://classconnection.s3.amazonaws.com/664/flashcards/2619664/png/basofil_granulocyt1358931354680.png. Dostop:03.06.2016.
8. Lekarinfo. <http://www.lekarinfo.com/laboratorija/ly-limfociti/>. Dostop: 03.06.2016
9. ASH. <http://imagebank.hematology.org/image/3599/monocytes--5/>. Dostop: 03.06.2016.
10. Ouyang W, Kolls JK, Zheng Y: The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation. Immunity 2008; 28: 454-467.
11. Wikipedia. https://sl.wikipedia.org/wiki/Humoralna_imunost Dostop:22.07.2016.
12. Bhogal N: Immunotoxicity and immunogenicity of biopharmaceuticals: design concepts and safety assessment. Curr Drug Saf 2010; 5: 293-307.
13. Corsini E, Roggen EL: Immunotoxicology: Opportunities for non-animal test development. Altern Lab Anim 2009; 37: 387-397.
14. Dean JH, Thurmond LM: Immunotoxicology: An overview. Toxicol Pathol 1987; 15: 320-332.
15. Bascones-Martinez A, Mattila R, Gomez-Font R, Meurman J.H: Immunomodulatory drugs: Oral and systemic adverse effects. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2014; 19: e24-31.
16. Patil US, Jaydeokar AV, Bandawane DD: Immunomodulators: A pharmacological review. Int J Pharm Pharm Sci 2012; 4: 30-36.
17. Landrigan PJ, Burrell R, Luster MI, Cavagnaro JA, Mooser S, Colburn TE, Rea WJ, et al.: Identifying and controlling immunotoxic substances. OTA 1991; 27-41.
18. Descotes J: Immunotoxicology: role in the safety assessment of drugs. Drug Saf 2005; 28: 127-136.
19. Natural Toxins Research Center. <http://222.197.192.76/jpkc/swjcs/biosite/files/immunology/myeloma.html> Dostop: 14.10.2016.
20. Abel S, Back JD, Vourvahis M, Maraviroc: pharmacokinetics and drug interactions. Antivir Ther 2009; 14: 607-618.
21. EMA: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_Scientific_Discussion/human/000811/WC500022194.pdf Dostop:09.04.2017.
22. EMA: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_Scientific_Discussion/human/000485/WC500048075.pdf Dostop:09.04.2017.

23. Labro MT: Immunomodulatory effects of antimicrobial agents. Part I: antibacterial and antiviral agents. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2012; 10: 319-340.
24. De Clercq E, Li G: Approved antiviral drugs over the past 50 years. *Clin Microbiol Rev* 2016; 29: 695-747.
25. Funderburg N, Kalinowska M, Eason J, Goodrich J, Heera J, Mayer H, Rajicic N, Valdez H, Lederman MM: Effects of maraviroc and efavirenz on markers of immune activation and inflammation and associations with CD4+ cell rises in HIV-infected patients. *Plos One* 2010; 5: e131188.
26. Pozo-Balado MM, Martinez-Bonet M, Rosado I, Ruiz-Mateos E, Mendez-Lagares G, Rodriguez-Mendez MM, Vidal F, Munoz-Fernandez MA, Pacheco YM, Leal M: Maraviroc reduces the regulatory T-cell frequency in antiretroviral-naive HIV-infected subjects. *J Infect Dis* 2014; 210: 890-898.
27. NORDE. <https://rarediseases.org/rare-diseases/stevens-johnson-syndrome-and-toxic-epidermal-necrolysis/> Dostop. 22.10.2016.
28. Manosuthi W, Sungkanuparph S, Thakkinstian A, et al.: Plasma nevirapine levels and 24-week efficacy in HIV-infected patients receiving nevirapine-based highly active antiretroviral therapy with or without rifampicin. *Clin Infect Dis* 2006; 43: 253-255.
29. Kappelhoff BS, Crommentuyn KM, Mulder MM, Huitema AD, Beijnen JH: Practical guidelines to interpret plasma concentrations of antiretroviral drugs. *Clin Pharmacokinet* 2004; 43: 845-853.
30. Wikipediija. [https://en.wikipedia.org/wiki/Protease_inhibitor_\(pharmacology\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Protease_inhibitor_(pharmacology)) Dostop: 23.10.2016.
31. Deeks SG: Protease inhibitors as immunomodulatory drugs for HIV infection. *Clin Pharmacol Ther* 2007; 82: 298-250.
32. Wikipediija. https://en.wikipedia.org/wiki/Management_of_HIV/AIDS, Dostop: 23.11.2016.
33. Chevillard-Amirayan N, Tissout-Dupont H, et.al.: Impact of highly active antiretroviral therapy (HAART) on the cytokine production and monocyte subsets in HIV-infected patients. *Clin Exp Immunol* 2000; 120: 107-112.
34. Monini P, Sgadari C, Barillari G, Ensoli B: HIV protease inhibitors: antiretroviral agents with anti-inflammatory, anti-angiogenic and anti-tumor activity. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51: 207-211.
35. Pati S, Pelsler CB, Dufraigne J, Beyant J.L, Reitz M.S. Jr, Weichold FF: Antitumorigenic effects of HIV protease inhibitor ritonavir: inhibition of Kaposi sarcoma. *Blood* 2002; 99: 3771-3779.
36. Rizza SA, Badley AD: HIV protease inhibitors impact on apoptosis. *Med Chem* 2008; 4: 75-79.
37. Weaver JG, Rouse MS, Steckelberg JM, Badley AD: Improved survival in experimental sepsis with an orally administered inhibitor of apoptosis. *FASEB J* 2004; 18: 1185-1191.
38. Vlahakis SR, Bennett SAL, Whitehead SN, Badley AD: HIV protease inhibitors modulate apoptosis signaling *in vitro* and *in vivo*. *Apoptosis* 2007; 12: 969-977.
39. Mattioli B, Giordani L, Quaranta MG, Viora M: Effect of indinavir used alone or in double or triple combination with AZT and ddC on human immune functions, *Life Sci* 2003; 74: 2291-2300.

40. Francke S, Orosz CG, Hayes KA, Mathes LE: Effect of zidovudine on the primary cytolytic T-lymphocyte response and T-cell effector function. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 1900-1905.
41. Francke S, Orosz CG, Hsu J, Mathes L.E: Immunomodulatory effect of zidovudine (ZDV) on cytotoxic T lymphocytes previously exposed to ZDV. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 2865-2871.
42. Acosta EP, Henry K, Page LM, Erice A, Balfour HH. Jr, Fletcher CV: Pharmacokinetics and safety of concentration-controlled oral zidovudine therapy. *Pharmacotherapy* 1997; 17: 424-430.
43. Piccinini M, Rinaudo MT, Anselmino A, et al.: The HIV protease inhibitors nelfinavir and saquinavir, but not a variety of HIV reverse transcriptase inhibitors, adversely affect human proteasome function. *Antivir Ther* 2005; 10: 215-223.
44. Kloetzel PM, Ossendorp F: Proteasome and peptidase function in MHC-class-I-mediated antigen presentation. *Curr Opin Immunol* 2004; 16: 76-81.
45. Delmonte OM, Bertolotto G, Ricotti E, Tovo PA: Immunomodulatory effects of two HIV protease inhibitors, saquinavir and ritonavir, on lymphocytes from healthy seronegative individuals. *Immun Lett* 2007; 111: 111-115.
46. Balestrieri E, Forte G, et al.: Effect of lamivudine on transmission of human T-cell lymphotropic virus type 1 to adult peripheral blood mononuclear cells in vitro, *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 3080-3083.
47. Zidek Z, Holy A, Frankova D: Immunomodulatory properties of antiviral acyclic nucleotide analogues: cytokine stimulatory and nitric oxide costimulatory effects. *Int J Immunopharmacol* 1997; 19: 587-597.
48. Chen X, Tharmanathan T, Mannargudi B, Gou H, Utrecht JP: A Study of the specificity of lymphocytes in nevirapine-induced skin rash. *J Pharmacol Exp Ther* 2009; 331: 836-841.
49. Ogbomo H, Michaelis M, Altenbrant B, Doerr H.W, Cinatl J. Jr: A novel immunomodulatory mechanism of ribavirin in suppressing natural killer cell function. *Biochem Pharmacol* 2010; 79: 188-197.
50. Sookoian S, Castano G, Flichman D, Cello J: Effects of ribavirin on cytokine production of recall antigens and phytohemagglutinin-stimulated peripheral blood mononuclear cells. (Inhibitory effects of ribavirin on cytokine production). *Ann Hepatol* 2004; 3: 104-107.
51. Bergamini A, Bolacchi F, Cepparulo M, Demin FF, Uccella I, Bongiovanni B, et al.: Treatment with ribavirin and interferon-alpha reduces interferon-gamma expression in patients with chronic hepatitis C. *Clin Exp Immunol* 2001; 123: 459-464.
52. Ning Q, Brown D, Parodo J, Cattral M, Gorczynski R, Cole E, et al.: Ribavirin inhibits viral-induced macrophage production of TNF, IL-1, the procoagulant fgl2 prothrombinase and preserves Th1 cytokine production but inhibits Th2 cytokine response. *J Immunol* 1998; 160: 3487-3493.
53. Barnes E, Salio M, Cerundolo V, Medlin J, Murphy S, Dusheiko G, Klenerman P: Impact of alpha interferon and ribavirin on the function of maturing dendritic cells. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 3382-3389.
54. Tauber SC, Nau R: Immunomodulatory properties of antibiotics. *Curr Mol Pharmacol* 2008; 1: 68-97.

55. Morikawa K, Watabe H, Araake M, Morikawa S: Modulatory effect of antibiotics on cytokine production by human monocytes in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 1366-1370.
56. Wu L, Zhang W, Tian L, Bao K, Li P, Lin J: Immunomodulatory effects of erythromycin and its derivatives on human T-lymphocyte In vitro. *Immunopharm Immunot* 2007; 29: 587-596.
57. LeBel M: Pharmacokinetic properties of clarithromycin: A comparison with erythromycin and azithromycin. *Can J Infect Dis* 1993; 4: 148-152.
58. Carman CA, Shi J: Pharmacokinetics of telithromycin: application to dosing in the treatment of community-acquired respiratory tract infections. *Curr Med Res Opin* 2005; 21: 1641-1650.
59. Pradhan S, Madke B, Kabra P, Singh A.L: Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of antibiotics and their use in dermatology. *Indian J Dermatol* 2016; 61: 469-481.
60. Kazama I, Maruyama Y: Differential effects of clarithromycin and azithromycin on delayed rectifier K⁺-channel currents in murine thymocytes. *Pharm Biol* 2013; 51: 760-765.
61. Chopra I, Roberts M: Tetracycline antibiotics: Mode of action, applications, molecular biology and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 2001; 65: 232-260.
62. Agwuh KN, MacGowan A: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the tetracyclines including glycylicyclines. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58: 256-265.
63. Joks R, Durkin HG: Non-antibiotic properties of tetracyclines as anti-allergy and asthma drugs. *Pharmacol Res* 2011; 64: 602-609.
64. Aldred KJ, Kerns RJ, Osheroff N: Mechanism of quinolone action and resistance. *Biochemistry* 2014; 53: 1565-1574.
65. Zhanel GG, Fontaine S, Adam H, Schurek K, Mayer M, Noreddin A.M, Gin AS, Rubinstein E, Hoban J: A review of new fluoroquinolones: Focus on their use in respiratory tract infections. *Treat Respir Med* 2006; 5: 437-465.
66. Efthymiopoulos C: Pharmacokinetics of grepafloxacin. *J Antimicrob Chemother* 1997; 40: 35-43.
67. Vincent J, Venitz J, Teng R, Baris BA, Willavize SA, Polzer RJ, Friedman HL: Pharmacokinetics and safety of trovafloxacin in healthy male volunteers following administration of single intravenous doses of the prodrug, alatrofloxacin. *J Antimicrob Chemother* 1999; 39: 75-80.
68. Dalhoff A, Shalit I: Immunomodulatory effects of quinolones. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 359-371.
69. Weiss T, Shalit I, Blau H, Werber S, Halperin D, Levitov A, Fabian I: Anti-inflammatory effects of moxifloxacin on activated human monocytic cells: Inhibition of NF- κ B and mitogen-activated protein kinase activation and of synthesis of proinflammatory cytokines. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 1974-1982.
70. Badari MS, Elgendy SG, Mohamed AS, Hassan AT: Immunomodulatory effects of levofloxacin on patients with pneumonia in Assiut university hospitals. *Egypt J Immunol* 2015; 22: 79-85.

71. Sachse F, von Eiff C, Becker K, Rudack C: Anti-inflammatory effects of ciprofloxacin in *S. aureus* Newman induced nasal inflammation in vitro. *J Inflamm (Lond)* 2008; 5: 11.
72. Lahat G, Halperin D, Barazovsky E, Shalit I, Rabau M, Klausner J, Fabian .: Immunomodulatory effects of ciprofloxacin in TNBS-induced colitis in mice. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 557-565.
73. FDA: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/012141s090,012142s112lbl.pdf. Dostop: 22.04.2017.
74. DailyMed: <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/archives/fdaDrugInfo.cfm?archivid=51500>. Dostop: 22.04.2017.
75. Mihich E: On the immunomodulating effects of anti-cancer drugs and their therapeutic exploitation. *Jpn J Clin Oncol* 2000; 30: 469-471.
76. Mihich E: Anticancer drug-induced immunomodulation and cancer therapeutics. *Cancer Ther Rev* 2007; 3: 174-193.
77. Sistigu A, Vlaud S, Chaput N, Bracci L, Proietti E, Zitvogel L: Immunomodulatory effects of cyclophosphamide and implementations for vaccine design. *Semin Immunopathol* 2011; 33: 369-383.
78. Medsafe: <http://www.medsafe.govt.nz/profs/datasheet/a/adriamycininj.pdf>. Dostop: 22.04.2017.
79. Madondo MT, Quinn M, Plebanski M: Low dose cyclophosphamide: Mechanisms of T cell modulation. *Cancer Treat Rev* 2015; 24: 1-7.
80. Javeed A, Ashraf M, Riaz A, Ghafoor A, Afzal S, Mukhtar MM: Paclitaxel and immune system. *Eur J Pharm Sci* 2009; 38: 283-290.
81. Cassidy PB, Moos PJ, Kelly RC, Fitzpatrick FA: Cyclooxygenase-2 induction by paclitaxel, docetaxel, and taxane analogues in human monocytes and murine macrophages: structure-activity relationships and their implications. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 846-855.
82. Nars MS, Kaneno R: Immunomodulatory effects of low dose chemotherapy and perspectives of its combination with immunotherapy. *Int J Cancer* 2013; 13: 2471-2478.
83. Justin J, Ismail M, Riley C, Askham J, Morgan R, Melcher A, Pandha H: Differential effects of paclitaxel on dendritic cell function, *BMC Immunol* 2010; 11: 1471-2172.
84. Dietz AB, Souan L, Knutson GJ, Bulur PA, Litzow MR, Vuk-Pavlović S: Imatinib mesylate inhibits T-cell proliferation in vitro and delayed-type hypersensitivity in vivo. *Blood* 2004; 104: 1094-1090.
85. Wolf AM, Wolf D, Rumpold H, Ludwiczek S, Enrich B, Gastl G, Weiss G, Tilg H: The kinase inhibitor imatinib meylate inhibits TNF- α production in vitro and prevents TNF-dependent acute hepatic inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 13622-13627.
86. Cho JY: Immunomodulatory effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) at the clinically available doses. *Arch Pharm Res* 2007; 30: 64-74.
87. Drugs.com. <https://www.drugs.com/dosage/aspirin.html>. Dostop: 23.04.2017.
88. Wikipedia. <https://en.wikipedia.org/wiki/Phenylbutazone> Dostop: 23.04.2017
89. FDA. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2016/018829s022lbl.pdf. Dostop: 23.04.2017.

90. Shah I, Barker J, Naughton DP, Barton SJ, Ashraf SS: Determination of diclofenac concentrations in human plasma using a sensitive gas chromatography mass spectrometry method. *Chem Cent J* 2016; 10: 52.
91. Haertel C, von Puttkamer J, Gallner F, Strunk T, Schultz C: Dose-dependent immunomodulatory effects of acetylsalicylic acid and indomethacin in human whole blood: Potential role of cyclooxygenase-2 inhibition. *Scand J Immunol* 2004; 60: 412-420.
92. Villalonga N, David M, Bielańska J, González T, Parra D, Soler C, Comes N, Valenzuela C, Felipe A: Immunomodulatory effects of diclofenac in leukocytes through the targeting of Kv1.3 voltage-dependents potassium channels. *Biochem Pharmacol* 2010; 80: 858-866.
93. Kazama I, Maruyama Y, Murata Y: Suppressive effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs diclofenac sodium, salicylate and indometacin on delayed rectifier K⁺-channel currents in murine thymocytes. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2012; 34: 874-878.
94. Waller ES, Massarella JW, Tomkiw MS, Smith RV, Doluisio JT: Pharmacokinetics of furosemide after three different single oral doses. *Biopharm Drug Dispos* 1985;6: 109-117.
95. Shaw TR, Duncan FM, Williams BC, Crichton E, Thomson SA, Davis JR, Rademaker M, Edwards C.R: Plasma free captopril concentrations during short and long term treatment with oral captopril for heart failure. *Br Heart J* 1985; 54: 160-165.
96. FDA: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2016/021648s009lbl.pdf Dostop: 25.04.2017.
97. Bjoerkhem-Bergman L, Lindh JD, Bergman P: What is a relevant statin concentration in cell experiments claiming pleiotropic effects? *Br J Clin Pharmacol* 2011; 72: 164-165.
98. Launiainen T, Ojanperae I: Drug concentrations in post-mortem femoral blood compared with therapeutic concentrations in plasma. *Drug Test Anal* 2014; 6: 308-316.
99. Yao K, Nagashima K, Miki H: Pharmacological, pharmacokinetic and clinical properties of benidipine hydrochloride a novel long-acting calcium channel blocker. *J Pharmacol Sci* 2006; 100: 243-261.
100. Sheikhi A, Jaber Y, Esmailzadeh A, et al.: The effect of cardiovascular drugs on pro-inflammatory cytokine secretion and natural killer activity of peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic heart failure *in vitro*. *Pak J Biol Sci* 2007; 10: 1580-1587.
101. Palinski W, Tsimikas S: Immunomodulatory effects of statins: Mechanisms and potential impact on arteriosclerosis. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1673-1681.
102. Kazama I: Roles of lymphocyte Kv1.3-channels in the pathogenesis of renal diseases and novel therapeutic implications of targeting the channels. *Mediators Inflamm* 2015; 1-12.
103. Zhao N, Dong Q, Qian C, Li S, Wu QF, et. al: Lovastatin blocks Kv1.3 channel in human T cells: a new mechanism to explain its immunomodulatory properties. *Sci Rep* 2015; 5: 1-14.

104. Kazama I, Maruyama Y, Matsubara M: Benidipine persistently inhibits delayed rectifier K⁺-channel currents in murine thymocytes. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2012; 35: 28-33.
105. Côté-Daigneault J, Mehandru S, Ungaro R, Atreja A, Colombel JF: Potential immunomodulatory effects of statins in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2016; 22: 724-732.
106. Szelényi J, Selmeczy Z: Immunomodulatory effect of antidepressants. *Curr Opin Pharmacol* 2002; 2: 428-432.
107. Szelényi J, Kiss JP, Vizi ES: Differential involvement of sympathetic nervous system and immune system in the modulation of TNF- α production by α 2 and β -adrenoceptors in mice. *J Neuroimmunol* 2000; 103: 34-40.
108. Ishii Y, Yamaizumi A, Kawakami A, Islam A, Choudhury M.E, Takahashi H, Yano H, Tanaka J: Anti-inflammatory effects of noradrenaline on LPS-treated microglial cells: Suppression of NF κ B nuclear translocation and subsequent STAT1 phosphorylation. *Neurochem Int* 2015; 90: 56-66.
109. Haskó G, Szabó C, Németh Z.H, Deitch E.A: Dopamine suppresses IL-12 p40 production by lipopolysaccharide-stimulated macrophages via a beta-adrenoceptors-mediated mechanism. *J Neuroimmunol* 2002; 122,: 34-39.
110. Nelson JC, Jatlow P, Quinlan DM, Bowers MB: Desipramine plasma concentration and antidepressant response. *Arch Gen Psychiatry* 1982; 39: 1419-1422.
111. Milković B, Pokrajac M, Timotijević I, Varagić V: Clinical response and plasma concentrations of amitriptyline and its metabolite nortriptyline in depressive patients. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 1996; 21: 251-255.
112. Shami M, Elliott H.L, Kelman AW, Whiting B: The pharmacokinetics of mianserin. *Br J Clin Pharmacol* 1983; 15: 313-322.
113. FDA. <https://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/04/briefing/2004-4065b1-35-PROZAC-CLASS-LABELING.htm>. Dostop: 02.05.2017.
114. Tomita T, Yasui-Furukori N, Nakagami T, Tsuchimine S, Ishioka M, Kaneda A, Nakamura K, Kaneko S: Therapeutic reference range for plasma concentrations of paroxetine in patients with major depressive disorders. *Ther Drug Monit* 2014; 36: 480-485.
115. FDA. https://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/04/briefing/4006b1_06_zoloft-label.pdf Dostop:02.05.2017.
116. Kubera M, Holan V, Mathison R, Maes M: The effect of repeated amitriptyline and desipramine administration on cytokine release in C57BL/6 mice. *Psychoneuroendocrinology* 2000; 25: 785-797.
117. Qiu W, Wu M, Liu S, Chen B, Pan C, Yang M, Wang K: Suppressive immunoregulatory effects of three antidepressants via inhibition of the nuclear factor- κ B activation assessed using primary macrophages of carp. *Toxicol Appl Pharmacol* 2017; 322: 1-8.
118. Taler M, Gil-Ad I, Lomnitski L, Korov I, Baharav E, Bar M, Zolokov A, Weizman A: Immunomodulatory effect of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) on human T lymphocyte function and gene expression. *Eur Neuropsychopharmacol* 2007; 17: 774-780.
119. Wikipedia. <https://sl.wikipedia.org/wiki/Antihistaminik> Dostop: 12.02.2017

120. Taler M, Gil-Ad I, Korob I, Weizmann A: The immunomodulatory effect of the antidepressant sertraline in an experimental autoimmune encephalomyelitis mouse model of multiple sclerosis. *Neuroimmunomodulation* 2011; 18: 117-122.
121. Connor T.J, Kelly JP, Leonard BE: An assessment of the acute effects of the serotonin releasers methylenedioxymethamphetamine, methylenedioxyamphetamine and fenfluramine on immunity in rats. *Immunopharmacology* 2000; 46: 223-235.
122. Okamoto T, Iwata S, Ohnuma K, Dang N.H, Morimoto C: Histamine H1-receptor antagonist with immunomodulating activities: potential use for modulating T helper type 1 (Th1)/Th2 cytokine imbalance and inflammatory responses in allergic diseases. *Clin Exp Immunol* 2009; 157: 27-34.
123. FDA. <https://www.fda.gov/downloads/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DevelopmentResources/UCM434580.pdf> Dostop: 05.05.2017.
124. Lalonde RL, Lessard D, Gaudreault J: Population pharmacokinetics of terfenadine. *Pharm Res* 1996; 13: 832-838.
125. Vincent J, Liminana R, Meredith PA, Reid LJ: The pharmacokinetics, antihistamine and concentration-effect relationship of ebastine in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol* 1988; 26: 497-501.
126. Medicines evaluation board. <http://db.cbg-meb.nl/Pars/h114865.pdf> Dostop: 05.05.2017.
127. Drugs.com. <https://www.drugs.com/pro/cetirizine.html> Dostop: 05.05.2017.
128. Albanesi C, Pastore S, Fnales-Belasio E, Girolomoni G: Cetirizine and hydrocortisone differentially regulate ICAM-1 expression and chemokine release in cultured human keratinocytes. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 101-109.
129. Furukawa H, Takahashi M, Nekamura K, Kaneko F: Effect of an antiallergic drug (olopatadine hydrochloride) on TARC/CCL17 and MDC/CCL22 production by PBMCs from patients with atopic dermatitis. *J Dermatol Sci* 2004; 36: 165-172.
130. Kanai K, Asano K, Hisamitsu T, Suzuki H: Suppressive activity of epinastine hydrochloride on TARC production from human peripheral blood CD4+ T cells in vitro. *J Pharm Pharmacol* 2005; 57: 1027-1036.
131. Oshima KZ., Asano K, Kannai K.I, Suzuki M, Suzuki H: Influence of epinastine hydrochloride, an H₁-receptor antagonist, on the function of mite allergen-pulsed murine bone marrow-derived dendritic cells In vitro and In vivo. *Mediators Inflamm* 2009; 1-8.
132. Al-Bari MA, Chloroquine analogues in drug discovery: new directions of uses, mechanisms of actions and toxic manifestations from malaria to multifarious diseases. *J Antimicrob Chemother* 2015; 70: 1608-1621.
133. Maitland K, Williams TN, Kotecka BM, Edstein MD, Rieckmann KH, Plasma chloroquine concentrations in young and older malaria patients treated with chloroquine. *Acta Trop* 1997; 66: 155-161.
134. Lim HS, Im JS, Cho JY. et.al: Pharmacokinetics of hydroxychloroquine and its clinical implications in chemoprophylaxis against malaria caused by plasmodium vivax. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 1468-1475.
135. Jang CH, Choi JH, Byun MS, Jue DM: Chloroquine inhibits production of TNF-alpha, IL-1beta and IL-6 from lipopolysaccharide-stimulated human

- monocytes/macrophages by different modes. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45: 703-710.
136. Kužnik A, Benčina M, Švajger U, Jeras M, Rozman B, Jerala R: Mechanism of endosomal TLR inhibition by antimalarial drugs and imidazoquinolines. *J Immunol* 2011; 186: 4797-4804.
 137. Castro A, Jerez MJ, Gil C, Martinez A: Cyclic nucleotide phosphodiesterases and their role in immunomodulatory responses: advances in the development of specific phosphodiesterase inhibitors. *Med Res Rev* 2005; 25: 229-244.
 138. Layseca-Espinosa E, Sánchez-Madrid F, González-Amaro: Phosphodiesterase inhibitors as immunomodulatory drugs. *Imunologia* 2003; 22: 39-52.
 139. Essayan DM: Cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) inhibitors and immunomodulation. *Biochem Pharmacol* 1999; 57: 965-973.
 140. Schaal SM, Garg MS, Ghosh M, Lovera L, Lopez M, Patel M. et al: The therapeutic profile of rolipram, PDE target and mechanism of action as a neuroprotectant following spinal cord injury. *PLoS One* 2012; 19: e43634.
 141. Afifi MA, Al-Rabia MW: The immunomodulatory effects of rolipram abolish drug-assistant latent phase of toxoplasma gondi infection in a murine model. *JMAU* 2015; 3: 86-91.
 142. Bielekova B, Lincoln A, McFarland H, Martin R: Therapeutic potential of phosphodiesterase-4 and -3 inhibitors in Th1-mediated autoimmune diseases. *J Immunol* 2000; 164: 1117-1124.
 143. Beshay E, Croze F, Prud'homme GJ: The phosphodiesterase inhibitors pentoxifylline and rolipram suppress macrophage activation and nitric oxide production in vitro and in vivo. *J Clin Immunol* 2001; 98: 272-279.
 144. Benbernou N, Esnault S, Potron G, Guenounou M: Regulatory effects of pentoxifylline on T-helper cell-derived cytokine production in human blood cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 25: 75-79.