



Lékařská fakulta
Univerzity Palackého
v Olomouci

III. interní klinika
nefrologická, revmatologická
a endokrinologická

Doktorská disertační práce

Idiopatické zánětlivé myopatie

Příspěvek k poznání patogeneze a nových možností léčby

Idiopathic inflammatory myopathies

A contribution to the understanding of pathogenesis and novel treatment options

MUDr. Heřman Mann

doktorský studijní program: Vnitřní nemoci P5171

Forma studia: kombinovaná

Školitel: Prof. MUDr. Pavel Horák, CSc.

Olomouc, 2020

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Olomouci, 10. června 2020

MUDr. Heřman Mann

.....

Identifikační záznam: MANN, Heřman. Idiopatické zánětlivé myopatie: Příspěvek k poznání patogeneze a nových možností léčby (*Idiopathic inflammatory myopathies: A contribution to the understanding of pathogenesis and novel treatment options*). Olomouc 2020. 95s. 18 příloh. Disertační práce. Univerzita Palackého v Olomouci, Lékařská fakulta, III. interní klinika nefrologická, revmatologická, endokrinologická. Školitel Horák, Pavel.

Souhrn:

Úvod: Idiopatické zánětlivé myopatie (IZM) jsou heterogenní skupina vzácných, získaných, potenciálně život ohrožujících, onemocnění, která jsou charakterizována imunitně zprostředkovaným poškozením příčně pruhovaných svalů spojeným s různým stupněm mimosvalového postižení. V etiopatogenezi IZM hraje roli vliv zevního prostředí a genetické rizikové faktory, na poškození svalů a dalších orgánů se podílí komplexní souhra složek přirozené i získané imunity a také další neimunitní procesy.

Cíle práce: Práce se věnuje vlivu zevního prostředí a genetických rizikových faktorů, imunitním a neimunitním patogenetickým mechanismům a v poslední části jsou popsány výsledky léčby abataceptem, inhibitorem kostimulačních receptorů T lymfocytů.

Výsledky: Prokázali jsme vzestup incidence imunitně zprostředkované nekrotizující myopatie, na které se podílí především nárůst počtu nemocných s pozitivitou anti-HMGCR protilátek. Popsali jsme asociaci genů HSPA1A a HSPA1B kódujících proteiny teplotního šoku HSP70 s rizikem přítomnosti autoimunitních revmatických chorob a u nemocných s IZM prokázali zvýšené extracelulární hladiny HSP70. Zjistili jsme, že u japonských nemocných je klinicky amyopatická dermatomyozitida asociována s jednonukleotidovým polymorfismem kódujícím protein tr-WDFY4 a že u evropských pacientů tato asociace není přítomná. Popsali jsme vzájemné vztahy mezi koncentracemi aktivačního faktoru B lymfocytů, titry anti-Jo-1 protilátek a hodnotami C-reaktivního proteinu u nemocných s IZM. Prokázali jsme zvýšenou expresi visfatinu a interleukinu 35 ve svalových biopsiích a korelaci jejich sérových hladin s některými parametry aktivity IZM. Zjistili jsme, že zvýšené hladiny proteinu S100A4 korelují s extramuskulární aktivitou onemocnění, a ne s přítomností malignity. Prokázali jsme zvýšené hladiny proteinu S100A11 u nemocných s IZM. Popsali jsme změny v regulačním systému aktivin A-myostatin-folistatin, které svědčí spíše pro kompenzační mechanismy než pro přímou roli v rozvoji poškození svalů. V klinickém hodnocení fáze IIb jsme prokázali vliv léčby abataceptem na klinickou aktivitu u nemocných s refrakterní IZM a zjistili, že poměr CD4/CD8 T-lymfocytů má vztah ke zlepšení svalové vytrvalosti po léčbě abataceptem.

Závěr: Předložené výsledky rozšiřují znalosti studovaných mechanismů a molekul v patogenezi IZM.

Klíčová slova: idiopatické zánětlivé myopatie, HSP70, IL-35, visfatin, BAFF, S100 proteiny, myostatin, abatacept

Summary:

Introduction: Idiopathic inflammatory myopathies (IIM) are a heterogeneous group of rare, acquired, potentially fatal diseases, characterized by immune mediated injury of skeletal muscles associated with various degree of extramuscular involvement. Environmental and genetic risk factors play a role in etiopathogenesis of IIM, a complex interplay of innate and adaptive immunity with other non-immune mechanisms is responsible for damage of muscles and other organs.

Objectives: This thesis explores the influence of environmental and genetic risk factors, immune and non-immune pathogenetic mechanisms and, in the last part, reports the results of treatment with abatacept, an inhibitor of T-cell co-stimulatory receptors.

Results: We have documented an increasing incidence of immune mediated necrotizing myopathy, mainly due to a growing number of patients with anti-HMGCR positivity. We have reported an association of HSPA1A and HSPA1B genes coding heat shock proteins (HSP) 70 with a risk of autoimmune rheumatic diseases and report increased extracellular levels of HSP70 in patients with IIM. We have found an association of clinically amyopathic dermatomyositis with a single nucleotide polymorphism coding tr-WDFY4 protein in Japanese patients, which is absent in European patients. We have analyzed the relationships between levels of B cell activating factor, anti-Jo-1 antibodies and C-reactive protein in patients with IIM. We have reported increased expressions of visfatin and interleukin 35 in muscle biopsies and correlations of their serum levels with some measures of disease activity in IIM. We have discovered that elevated levels of S100A4 protein correlate with extramuscular activity and not with presence of neoplasia. We have reported increased levels of S100A11 protein in patients with IIM. We have described aberrations in the activin A–myostatin–follistatin regulatory system suggesting compensatory mechanisms rather than direct involvement in muscle damage. In a phase IIb clinical study we have shown an effect of treatment with abatacept on clinical activity in patients with treatment resistant IIM and we have discovered that CD4/CD8 T-cell ratio is associated with improvement of muscle endurance after abatacept therapy.

Conclusion: The presented results improve understanding of the studied mechanisms and molecules in the pathogenesis of IIM.

Key words: idiopathic inflammatory myopathies, HSP70, IL-35, visfatin, BAFF, S100 proteins, myostatin, abatacept

Poděkování: Děkuji svému školiteli Prof. MUDr. Pavlu Horákovi, CSc za velkorysou podporu v průběhu studia. Velký dík patří Prof. MUDr. Jiřímu Vencovskému, DrSc, kterého si nesmírně vážím a bez něhož by žádná z citovaných prací nevznikla. Děkuji za spolupráci všem spoluautorům a kolegům nejen z Revmatologického ústavu, především MUDr. Olze Kryštůfkové, PhD, MUDr. Martinu Kleinovi, PhD, MUDr. Lence Pleštilové, PhD, MUDr. Bc. Kateřině Kubínové, celému Oddělení experimentální revmatologie vedenému Prof. MUDr. Ladislavem Šenoltem, PhD a samozřejmě také Prof. MUDr. Josefu Zámečnickovi, PhD, „našemu“ patologovi z Ústavu patologie a molekulární medicíny 2. LF UK. Řediteli Revmatologického ústavu Prof. MUDr. Karlu Pavelkovi, DrSc. děkuji, že mi umožnil stát se revmatologem. Děkuji svým pacientům, kteří mě tolik naučili. A obrovské poděkování patří mé báječné ženě a dětem, bez nichž bych nebyl tím, kým jsem.

Great ideas originate in the muscles.

Thomas Alva Edison (1847-1931)

OBSAH

Prohlášení	3
Identifikační záznam	3
Souhrn	5
Summary	7
Poděkování	9
1. ÚVOD	
1.1 Historické souvislosti	13
1.2 Klasifikace	14
1.3 Epidemiologie	21
1.4 Etiopatogeneze	21
1.5 Klinické aspekty	30
1.6 Léčba	36
2. HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE	42
3. VÝSLEDKY	44
4. DISKUSE	70
5. ZÁVĚR	74
6. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	75
7. POUŽITÁ LITERATURA	77
8. SEZNAM PUBLIKACÍ	87
9. PŘÍLOHY	95

1. ÚVOD

1.1 Historické souvislosti

Idiopatické zánětlivé myopatie (IZM) jsou heterogenní skupina vzácných, získaných, potenciálně život ohrožujících, onemocnění, která jsou charakterizována imunitně zprostředkovaným poškozením příčně pruhovaných svalů spojeným s různým stupněm mimosvalového postižení (1, 2). Na rozdíl od řady jiných myopatií s obdobnými klinickými projevy, jsou IZM léčitelná onemocnění.

První zmínky o myozitidě v lékařském písemnictví se objevily současně s prvními spolehlivými popisy jiných interních a revmatických chorob, tedy ve druhé polovině 19. století. Lipský patolog a internista, žák Josefa Škody, Ernst Wagner v roce 1863 (3) a pařížský kardiolog Pierre Potain v roce 1875 (4) nezávisle na sobě popsali smrtelné svalové onemocnění odpovídající IZM. Wagner v roce 1887 při líčení případu dalšího nemocného s obdobnými příznaky označil onemocnění jako akutní polymyozitidu (5). Termín dermatomyozitida poprvé použil pro kombinaci svalového a kožního postižení Hans Unverricht v roce 1891 (6). Na klinicky významnou asociaci myozitidy s maligním onemocněním poprvé upozornil Stertz v roce 1916 (7). Za zmínku stojí i příspěvek Rudolfa Bezeckého, dermatologa z lékařské fakulty Německé univerzity v Praze, který v roce 1935 publikoval popis dvou případů žen s paraneoplastickou dermatomyozitidou (8). Roku 1930 precizně popsal kožní změny patognomonické pro dermatomyozitidu německý dermatolog Heinrich Gottron, některé z nich dosud nesou jeho jméno (9). Juvenilní dermatomyozitida se, po zveřejnění souboru pěti kazuistik dětí sledovaných na Univerzitě Johnse Hopkinse, dostala do širšího povědomí lékařů v roce 1940 (10). Díky dostupnosti elektronové mikroskopie popsal v roce 1967 Chou charakteristické buněčné inkluze připomínající nekompletní myxoviry v opakovaných bioptických vzorcích nemocného trpícího myozitidou s inkluzními tělísky (11). Název pro tento podtyp IZM zavedli Yunis a Samaha ve své práci z roku 1971 (12). V roce 1976 byla Reichlinem popsána protilátka nazvaná anti-Mi2 reagující s antigeny telecího brzlíku (13). Anti-Mi2 je první popsanou protilátkou specifickou pro myozitidu, která se vyskytuje u nemocných s typickou dermatomyozitidou. O čtyři roky později byla objevena další důležitá protilátka označená jako anti-Jo-1 asociovaná s tzv. antisyntetázovým syndromem (14).

V prvních desetiletích dvacátého století významná část nemocných s myozitidou umírala, protože nebyla dostupná žádná účinná léčba. Obrat v terapeutických možnostech nastal

v padesátých letech, kdy byl v rámci experimentů s glukokortikoidy a s adrenokortikotropním hormonem (ACTH) u různých revmatických chorob na klinice Mayo prokázán výborný účinek této léčby u nemocných s IZM (15, 16). Paradoxně i po více než 60 letech zůstávají glukokortikoidy a ACTH jedinými léčivými registrovanými americkým regulačním úřadem FDA pro terapii myozitid. V roce 1971 byly publikovány údaje o účinnosti metotrexátu v léčbě IZM po selhání glukokortikoidů (17). Bezpečnost a prospěšnost cvičení, které bývalo dříve nemocným s IZM zakazováno a nyní tvoří nedílnou součást léčebných postupů, byla ověřena až v devadesátých letech dvacátého století (18). Na přelomu tisíciletí byla pod záštitou amerického Národního ústavu zdraví založena první mezinárodní pracovní skupina zaměřená na výzkum IZM nazvaná IMACS (International Myositis Outcome Assessment Collaborative Study Group) (19). Díky intenzivní mezinárodní spolupráci, která je při výzkumu vzácných onemocnění nezbytná, přinesla poslední dvě desetiletí významný posun v poznání patogeneze IZM a s tím spojených nových možností léčby. Jen namátkou lze zmínit provedení dosud největšího klinického hodnocení, do nějž bylo zařazeno dříve nemyslitelných 200 dětských i dospělých pacientů (20), dále realizace první genomové asociační studie u nemocných s IZM (21) a v neposlední řadě navržení nových kritérií pro hodnocení klinické odpovědi, která by měla usnadnit provádění klinických hodnocení (22). Těší mě, že jsem měl možnost se na těchto třech projektech osobně podílet. Bohužel navzdory významnému pokroku posledních let zůstává patogeneze IZM do značné míry stále neobjasněna a léčebné možnosti zůstávají omezené.

1.2 Klasifikace IZM

IZM se tradičně dělí na polymyozitidu (PM), dermatomyozitidu (DM), juvenilní dermatomyozitidu (JDM), myozitidu asociovanou s jiným systémovým onemocněním, paraneoplastickou myozititidu a myozitidu s inkluzními tělísky (IBM) (23). Nověji je jako důležitá samostatná jednotka rozeznávána imunitně zprostředkovaná nekrotizující myopatie (IZNM), která byla dříve většinou klasifikována jako polymyozitida (24). V poslední době se z podskupiny polymyozitidy vyčleňuje ještě tzv. antisynthetázový syndrom (25), u kterého paradoxně nemusí být přítomné postižení svalů. Klasifikace IZM není jednotná a vzhledem k tomu, že různé jednotky jsou definované na základě různých parametrů (např. histopatologický nález u IZNM versus autoprotilátky u antisynthetázového syndromu), může být onemocnění jednoho pacienta paradoxně klasifikováno jako několik různých podjednotek IZM zároveň. Diagnóza IZM se v praxi většinou stále opírá o splnění klasifikačních kritérií podle Bohana a Peteraz roku 1975 (26), která jsou

založena na kombinaci klinických projevů, elektromyografického nálezu, elevace svalových enzymů a výsledku svalové biopsie (Tabulka 1.2.1).

Tabulka 1.2.1. Klasifikační kritéria pro poly- a dermatomyozitidu (26)

1. Převážně nebo výhradně proximální, obvykle symetrická, svalová slabost, která progreduje týdny a měsíce s nebo bez dysfagie a postižení dýchacího svalstva.
2. Bioptický průkaz nekrózy svalových vláken a jejich regenerace, průkaz mononukleárního zánětlivého infiltrátu (perivaskulární nebo intrafascikulární) s perifascikulární atrofii nebo bez ní.
3. Zvýšené hladiny kreatinkinázy, aminotransferáz, laktátdehydrogenázy a aldolázy.
4. Multifokální elektromyografické myopatické změny (malé, krátké a polyfázické potenciály), fibrilace, pozitivní ostré vlny, zvýšená inzerční aktivita a bizarní vysokofrekvenční opakované výboje.
5. Typická vyrážka pro dermatomyozitidu, především heliotropní exantém, periorbitální edém a Gottronovy známky.

Diagnóza PM je považována za jistou při přítomnosti všech čtyř kritérií (1-4), za pravděpodobnou při přítomnosti tří kritérií. Diagnóza DM je považována za jistou při přítomnosti vyrážky a 3 kritérií, za pravděpodobnou při přítomnosti vyrážky a 2 dalších kritérií.

Diagnózu PM a DM lze stanovit až po vyloučení jiné příčiny obtíží, zejména po vyloučení infekce, neurologického, toxického, metabolického, endokrinního onemocnění, svalové dystrofie či polékového poškození.

Kritéria Bohana a Petera jsou v současné době již zastaralá, protože neumožňují diagnózu některých podtypů IZM (např. IBM nebo IZNM) a nezohledňují možnosti moderních vyšetřovacích metod včetně průkazu přítomnosti specifických autoprotilátek. V posledních letech vznikla řada dalších klasifikačních nebo diagnostických kritérií pro IZM, ale žádná z nich nebyla všeobecně přijata k použití v běžné klinické praxi (27). U většiny nemocných s IZM lze v současné době prokázat přítomnost autoprotilátek. Ty lze rozdělit na tzv. protilátky s myozitidou asociované, které se mohou vyskytovat i u jiných revmatických chorob a na protilátky tzv. specifické. Pro myozitidu specifické autoprotilátky (MSA) hrají stále důležitější roli v diagnostice a klasifikaci IZM (28), protože u daného pacienta se obvykle vyskytuje jen jedna z nich a zároveň každá z těchto protilátek je spojena s charakteristickým klinickým obrazem.

1.2.1 Polymyozitida

V současné době je polymyozitida jako samostatná jednotka považována za poměrně vzácné onemocnění, protože u většiny nemocných splňujících klasifikační kritéria Bohana a Petera (viz výše) lze diagnózu uzavřít jako jiné onemocnění. PM tedy představuje spíše diagnosis per exclusionem u nemocných, jejichž onemocnění nelze diagnostikovat jinak. Stejně jako u ostatních forem IZM, je hlavním příznakem PM symetrická proximální svalová slabost, která se rozvíjí subakutně a je obvykle nebolestivá. Histologicky je PM charakterizována přítomností endomyziálního zánětlivého infiltrátu tvořeného převážně CD8+ T lymfocyty, které obklopují a invadují zdravě vypadající svalová vlákna (2). Na povrchu svalových vláken je u nemocných s PM difúzně přítomna abnormální exprese antigenů MHC I. Nález tzv. komplexu MHC–CD8 je pro PM specifický a má diagnostický význam při odlišení od jiných onemocnění (např. svalových dystrofií), při kterých může být ve svaích také přítomen zánětlivý infiltrát.

1.2.2 Antisyntetázový syndrom

Antisyntetázový syndrom (ASS) je klinický syndrom charakterizovaný přítomností jednoho nebo více ze šesti klinických příznaků (Tabulka 1.2.2.1.) a pozitivitou protilátky proti jedné z aminoacyl-tRNA syntetáz (25). Dosud byly popsány protilátky proti osmi tRNA syntetázám, nejčastější jsou protilátky proti histidyl-tRNA syntetáze nazvané anti-Jo-1. U většiny nemocných s anti-Jo-1 pozitivitou je přítomná myozitida a intersticiální plicní postižení.

Tabulka 1.2.2.1. Klinické projevy antisyntetázového syndromu

horečka
myozitida
intersticiální plicní postižení
kožní změny charakteru prstů mechanika
Raynaudův fenomén
artritida

Klinické projevy antisyntetázového syndromu ale mohou být různorodé, někdy může jeden z příznaků klinickému obrazu dominovat, nebo se mohou některé manifestace objevit až po čase. U části nemocných s antisyntetázovým syndromem, především pokud je spojený s pozitivitou jiných než anti-Jo-1 protilátek, nemusí být svaly postiženy vůbec, a proto nelze antisyntetázový syndrom považovat za podskupinu PM. Zatím nejsou k dispozici všeobecně akceptovaná

klasifikační kritéria pro antisyntetázový syndrom, diagnostická kritéria byla navržena Solomonem v roce 2011 (Tabulka 1.2.2.2) (30).

Tabulka 1.2.2.2. Navržená diagnostická kritéria pro antisyntetázový syndrom (30)

Velká kritéria
1. Přítomnost intersticiálního plicního postižení, které nelze vysvětlit jinou příčinou
2. Splnění kritérií Bohana a Petera pro polymyozitidu nebo dermatomyozitidu
Malá kritéria
1. artritida
2. Raynaudův fenomén
3. prsty mechanika
Základním předpokladem pro použití těchto kritérií je průkaz protilátky proti jedné z tRNA syntetáz.
K diagnóze je třeba splnění dvou velkých nebo jednoho velkého a alespoň dvou malých kritérií.

1.2.3 Imunitně zprostředkovaná nekrotizující myopatie

Nemocní s IZNM mají podobné klinické projevy jako pacienti s PM, tedy svalovou slabost bez kožních projevů charakteristických pro DM (24). Slabost při IZNM může být provázena myalgiemi a elevace svalových enzymů bývají výraznější než při PM, což je zřejmě odrazem závažnějšího svalového poškození. IZNM lze rozdělit na několik podjednotek, které se mezi sebou liší etiologií a klinickým průběhem (Tabulka 1.2.3.1.).

Tabulka 1.2.3.1. Jednotlivé typy imunitně zprostředkované nekrotizující myopatie (IZNM)

IZNM asociovaná s anti-HMGCR protilátkami
IZNM asociovaná s anti-SRP protilátkami
IZNM při antisyntetázovém syndromu
IZNM u jiných „onemocnění pojiva“ (např. u systémové sklerózy)
Paraneoplastická IZNM

IZNM je definována histopatologickým nálezem, ve kterém dominuje obraz nekrózy svalových vláken bez výraznějšího lymfocytárního zánětlivého infiltrátu. Stejně jako u PM bývá na svalových vláknech patrná zvýšená exprese MHC I. Diagnóza IZNM se opírá o splnění kritérií navržených na 119. zasedání Pracovní skupiny pro výzkum svalů Evropského nervosvalového centra (MSG/ENMC) z roku 2003 (Tabulka 1.2.3.2.) (31).

Tabulka 1.2.3.2. Diagnostická kritéria pro IZNM (31)

<p>1. Klinická kritéria: začátek po 18. roce věku, subakutní nebo pomalý začátek nástup příznaků, symetrická slabost proximálních > distálních svalů a flexorů > extenzorů krku. Vyloučení myozitidy s inkluzními tělísky, toxické a endokrinní myopatie, amyloidózy, dystrofie, neuropatie.</p> <p>2. Laboratorní kritéria: zvýšená hladina kreatinkinázy</p> <p>3. Další laboratorní kritéria (alespoň jedno ze tří):</p> <ul style="list-style-type: none">a) typické změny při elektromyografickém vyšetřeníb) difuzní či fokální edém ve svalové tkáni při vyšetření obrazu magnetické rezonance v STIR sekvencic) průkaz specifické autoprotilátky <p>4. Svalová biopsie:</p> <p>Kvalifikační kritéria: Výrazné množství nekrotických svalových vláken jako hlavní abnormalita v histopatologickém nálezu. Zánětlivé buňky jsou jen málo četné nebo uloženy jen mírně perivaskulárně; perimysialní infiltrát není přítomný. Mohou být přítomna depozita útočných složek komplementu v malých cévách, v elektronové mikroskopii nejsou tubuloretikulární inkluze v endoteliálních buňkách.</p> <p>Vylučující kritéria: Nesmí být přítomny biopsické známky naznačující jiné svalové onemocnění.</p>
--

1.2.4 Dermatomyozitida

U nemocných s dermatomyozitidou jsou přítomné charakteristické kožní projevy, které mohou někdy předcházet rozvoji svalových příznaků (32), nebo se mohou objevit i bez postižení svalů (tzv. amyopatická dermatomyozitida) (33). V obličeji bývá otok dolních víček a/nebo červenofialové zbarvení kolem očí, které se pro svou podobnost s barvou kvítků otočnicku nazývá heliotropní exantém. Nafialovělé Gottronovy papuly jsou typicky lokalizovány nad drobnými klouby rukou, mohou být doprovázeny změnami na cévách nehtového lůžka. Erytém nad klouby na extenzorové straně končetin se nazývá Gottronův příznak. Heliotropní exantém a Gottronovy změny jsou považovány za patognomické pro dermatomyozitidu. Ve svalové biopsii je pro DM typická přítomnost zánětlivého infiltrátu perivaskulárně a intermysialně (23). Ve stěně endomyziálních kapilár nemocných bývá patrné ukládání komplementového membranolytického útočného komplexu (34), což způsobuje ischemii a poškození svalových vláken s obrazem charakteristické perifascikulární atrofie. Poměrně senzitivním a specifickým nálezem pro DM je zvýšená cytoplazmatická exprese proteinu myxovirové rezistence A (MxA), který patří mezi

molekuly indukované interferonem typu 1 (35). Klasický histologický nález v kožních biopsiích nemocných s DM je přítomnost dyskeratózy, zvýšeného ukládání mucinu a dilatace nebo poškození cév v místě přechodu mezi vrstvami epidermis a povrchové dermis (36). Tyto změny označované termínem interface dermatitis, ale nejsou specifické pro DM a bývají přítomné i u systémového lupusu erytematodes a dalších onemocnění.

1.2.5 Juvenilní dermatomyozitida

IZM mohou vzácně postihovat i děti, v 90 % případů se jedná o dermatomyozitidu (37). Juvenilní dermatomyozitida je definována jako onemocnění s prvními projevy před 16 rokem věku. Klinické projevy JDM jsou podobné jako u dospělých nemocných, ale děti mívají častěji podkožní kalcifikace a vaskulitidu. Na rozdíl od dospělé formy není JDM spojena se zvýšeným rizikem maligních onemocnění.

1.2.6 Paraneoplastická myozitida

Výskyt nádorových onemocnění je u nemocných s IZM celoživotně zvýšený (38). Relativní riziko maligního onemocnění u nemocných s dospělou formou dermatomyozitidy je, ve srovnání s běžnou populací, vyšší asi trojnásobně. U polymyozitidy je riziko nádorového onemocnění o něco nižší. Za paraneoplastickou IZM se obvykle považuje onemocnění vzniklé v období 3 roky před nebo po diagnóze malignity (29), nejvyšší riziko nádoru je v období jednoho roku od začátku příznaků IZM. Důležitým pokrokem v posledních letech je zjištění, že především protilátky anti-TIF1 γ a anti-NXP2 a negativita protilátek jsou spojené s nejvyšším rizikem malignity. Spektrum nádorů, které se objevují u nemocných s IZM, je velmi široké a zhruba odpovídá výskytu malignit v běžné populaci.

1.2.7 Myozitida v rámci překryvného syndromu

Výrazem překryvný syndrom označujeme onemocnění, které splňuje klasifikační kritéria pro dvě různá systémová onemocnění pojiva (39). Myozitida se v rámci překryvných syndromů nejčastěji vyskytuje u nemocných se systémovou sklerózou, se systémovým lupusem erytematodes a se Sjögrenovým syndromem. Samostatná nosologická jednotka smíšené onemocnění pojiva, dříve označované jako Sharpův syndrom, tvoří samostatnou kapitolu, protože přítomnost myozitidy je součástí klasifikačních kritérií tohoto onemocnění (40). U nemocných s myozitidou v rámci překryvných syndromů bývají přítomné tzv. s myozitidou asociované protilátky (např. anti-Ku, PM/SCI a U3-RNP) (41).

1.2.8 Myozitida s inkluzními tělísky

Myozitida s inkluzními tělísky (IBM) typicky začíná po padesátce a je zřejmě častější u mužů než u žen (2). Charakteristická je velmi pomalu progredující svalová slabost, která může být asymetrická. Selektivní postižení musculus quadriceps femoris a flexorů zápěstí a prstů spojené s výraznou atrofií v této distribuci je často patrné již v časných fázích onemocnění. V histologickém obraze IBM jsou patrné všechny nálezy typické pro PM včetně přítomnosti komplexu CD8-MHC, ale navíc jsou patrné další chronické myopatické změny jako zmnožení vazivové tkáně a kolísání velikosti svalových vláken, přítomnost autofagických vakuol, cytochrom oxidáza negativních svalových vláken spojené a kongofilních depozit amyloidu. Při elektronmikroskopickém vyšetření jsou ve svalech nemocných s IBM vidět tubulofilamentární inkluze o délce 12-16 nm, podle kterých bylo toto onemocnění pojmenováno. Charakteristické klinické projevy a bioptický nález jsou zohledněny v diagnostických kritériích IBM (Tabulka 1.2.8.1) (42).

Tabulka 1.2.8.1. Diagnostická kritéria pro myozitidu s inkluzními tělísky (42, 1)

1. Trvání potíží > 6 měsíců
2. Věk na začátku onemocnění > 30 let
3. Svalová slabost proximálních a distálních svalů horních a dolních končetin a přítomnost nejméně jednoho z následujících projevů:
 1. Slabost flexorů prstů
 2. Slabost flexorů zápěstí > slabost extenzorů
 3. Slabost kvadricepsů
4. Zvýšení kreatinkinázy <12-ti násobek horní hranice normy
5. Bioptický nález ve svalu:
 1. Mononukleární infiltrát invadující non-nekrotická svalová vlákna
 2. Vakuoly ve svalových vláknech
 3. Intracelulární depozita amyloidu nebo tubulofilamenta v elektronové mikroskopii.
6. EMG obraz zánětlivé myopatie

Diagnóza je považována za jistou při splnění všech kritérií bioptického nálezu a za možnou, pokud je v biopsii patrný jen zánět bez ostatních patologických změn a zároveň jsou splněna všechna klinická a laboratorní kritéria.

U části nemocných s IBM nemusí být patrné charakteristické histologické bioptické změny a diagnóza proto může být chybně určena jako PM. U pacientů s klinickými projevy IBM, u nichž nebyla diagnóza potvrzena histologicky, mluvíme jako o tzv. klinicky prokázané IBM (43). IBM se od ostatních IZM významně liší nejen klinickými projevy, ale především patogenezí a s tím spojenou rezistencí na imunosupresivní léčbu. Z těchto důvodů nebude v dalším textu tomuto podtypu IZM již věnována pozornost.

1.3 Epidemiologie

IZM jsou vzácná onemocnění, podle metaanalýzy publikovaných údajů je průměrná prevalence 14 (2,4 až 33,8) případů na 100 000 obyvatel a roční incidence 8 (1,1 až 19) nových případů na milion (44). Hlášená incidence i prevalence IZM se postupně zvyšuje, ale je otázkou, zda se jedná o skutečný nárůst případů nebo jen o odraz přesnější diagnostiky těchto onemocnění. V celkové prevalenci IZM nejsou významnější geografické rozdíly a lze tedy odhadovat, že v České republice trpí tímto onemocněním 1500-2500 nemocných. Dermatomyozitida je asi 3x častější u žen a má dva vrcholy výskytu – jednak u dětí (JDM) a dále kolem 50. roku věku, kdy výrazně stoupá riziko paraneoplastické etiologie. Polymyozitida je u žen jen mírně častější než u mužů, postihuje převážně dospělé a u dětí se vyskytuje raritně.

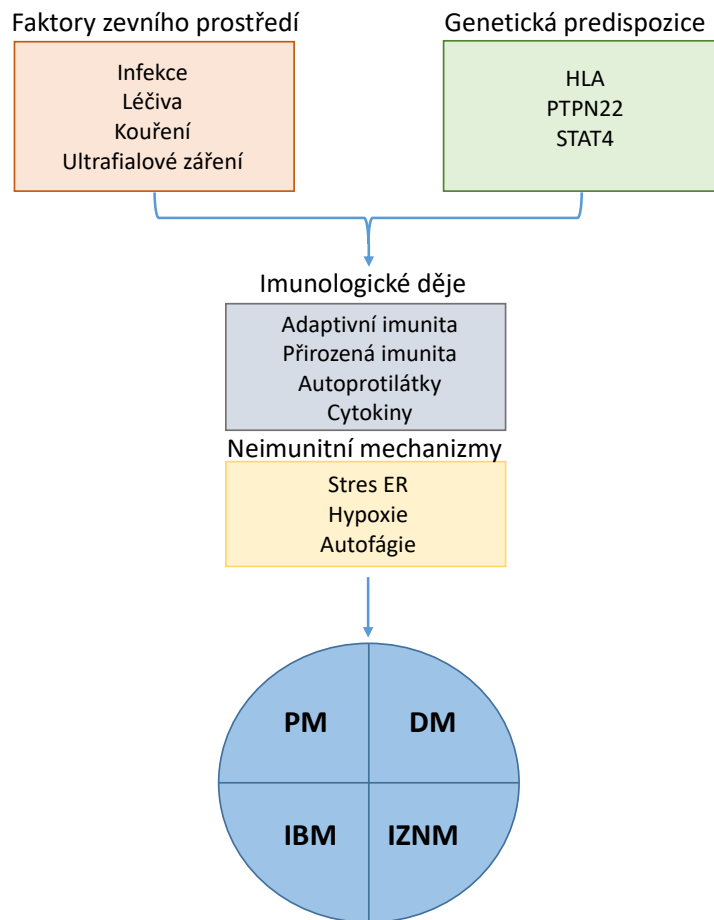
1.4 Etiopatogeneze

Etiologie IZM zůstává dosud neobjasněna, stejně jako u jiných autoimunitních revmatických chorob je pro vznik onemocnění zásadní dědičná predispozice nemocných a působení faktorů zevního prostředí (45). Na rozvoji poškození svalů a dalších orgánů se podílí komplexní souhra složek přirozené i získané imunity a také další neimunitní mechanismy (Obrázek 1.4.1). Etiopatogeneze se zřejmě u jednotlivých podtypů IZM liší.

1.4.1 Faktory zevního prostředí

Pro vliv faktorů zevního prostředí na vznik IZM svědčí mimo jiné sezónní a geografické variace jejich výskytu. Již dlouho se předpokládá, že důležitou roli hrají infekce, především virové (46). Přes značnou snahu ale dosud nebyl jednoznačně prokázán vztah konkrétního patogenu se vznikem IZM. Nepřímou podporu pro aktivaci imunitního systému virovou infekcí poskytuje opakovaně prokázaná zvýšená exprese proteinů indukovaných interferonem, označovaná jako tzv. interferonový podpis, v krvi a v tkáních nemocných s IZM (47). Kouření je rizikovým faktorem u nemocných s anti-Jo-1 pozitivním antisynthetázovým syndromem (48).

Obrázek 1.4.1. Schematické znázornění patogeneze IZM (upraveno podle 45)



Použité zkratky: DM: dermatomyozitida, ER: endoplazmatické retikulum, IBM: myozitida s inkuzními tělísky, IZNM: imunitně zprostředkovaná nekrotizující myopatie, PM: polymyozitida

Na vznik dermatomyozitidy má vliv expozice UV záření, byla prokázána korelace geografického výskytu DM s intenzitou slunečního záření v dané oblasti (49). Řada léků může vyvolávat myopatie, většinou se jedná o toxické myopatie odeznívající po vysazení daného léčivého přípravku (50). Ovšem některá léčiva mohou vyvolávat i skutečnou myozitidu, většinou se jedná o přípravky s imunomodulačním účinkem, jako jsou např. blokátory tumor nekrotizujícího faktoru (TNF), interferon nebo inhibitory kontrolních bodů imunitní reakce používané v onkologii (51). Zajímavý model autoimunitního onemocnění představuje imunitně zprostředkovaná myopatie s pozitivitou anti-HMGCR protilátek, která může být indukována léčbou statiny (52). Mezi faktory zevního prostředí lze zahrnout i onkogenní vlivy vyvolávající nádory u nemocných

s paraneoplastickou myozitidou. Předpokládaným mechanismem vzniku IZM u těchto nemocných je přesmyk protinádorově zaměřené imunitní reakce proti vlastním tkáním (53).

1.4.2 Genetická predispozice

IZM jsou vzácná onemocnění, proto existuje jen málo údajů o jejich rodinném výskytu a tím o celkovém vlivu dědičnosti. U nemocných s IZM a jejich prvostupňových příbuzných byl, ve srovnání se zdravou populací, popsán častější výskyt jiných autoimunitních onemocnění jako jsou např. systémový lupus erythematoses (SLE), diabetes mellitus 1. typu a autoimunitní thyroditida (54). Ve dvou průzkumech zaměřených na výskyt autoimunitních onemocnění na Taiwanu bylo zjištěno vyšší relativní riziko IZM u příbuzných nemocných se systémovou sklerózou (55) a SLE (56). Tyto výsledky svědčí pro sdílenou genetickou predispozici pro tato onemocnění. S rizikem vzniku IZM jsou spojené především geny hlavního histokompatibilního komplexu (MHC). Genomová asociační studie zahrnující 2566 pacientů s IIM evropského původu ze 14 zemí včetně České republiky prokázala nejsilnější asociaci s alelami ancestrálního haplotypu 8.1 - HLA-DRB1*03:01 pro polymyozitidu a HLA-B*08:01 pro dermatomyozitidu (21). Při genetické analýze 2582 pacientů s IZM byla u osmi z dvanácti podskupin nemocných definovaných podle přítomnosti pro myozitidu specifické protilátky zjištěna významná asociace s konkrétním haplotypem (57). Kromě genů MHC jsou s rizikem IIM spojené i polymorfismy některých non-HLA genů jako např. STAT4 a PTPN22, které jsou rizikové i pro vznik dalších autoimunitních onemocnění (58).

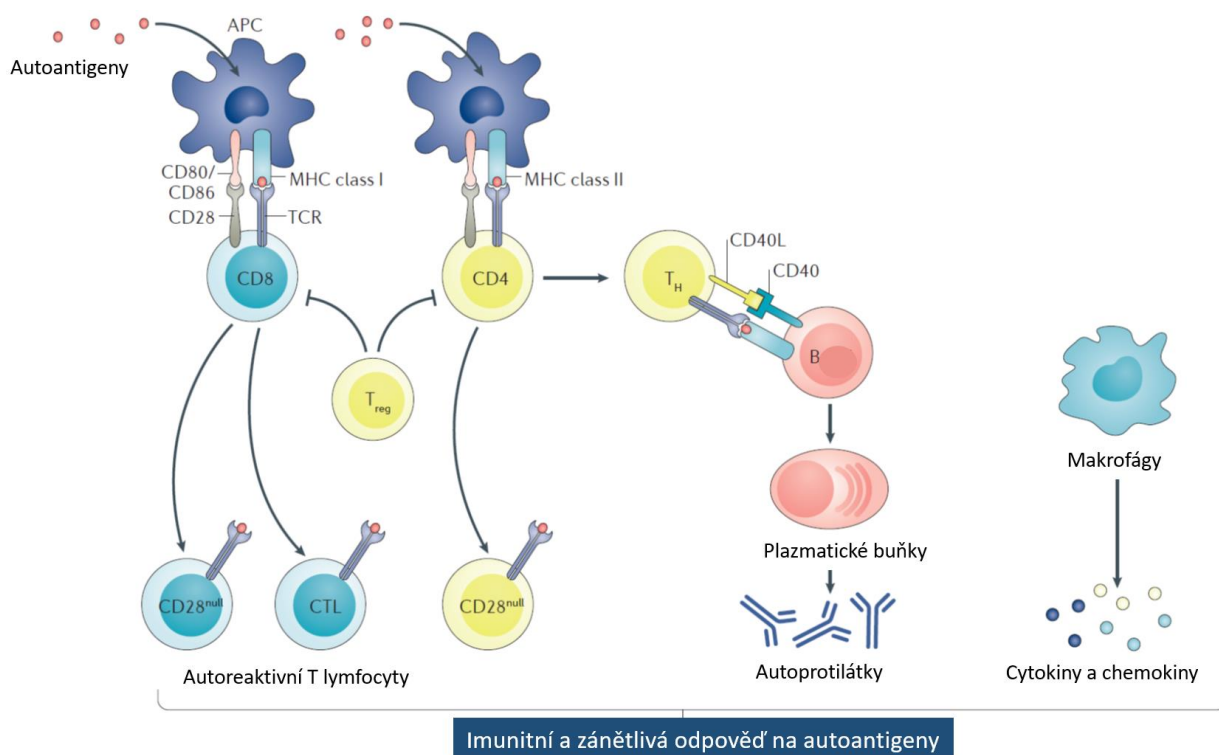
1.4.3 Imunitní mechanismy

Základní funkcí imunitního systému je udržování integrity organismu tím, že rozpoznává „škodlivé“ od „neškodného“, a chrání tak před škodlivinami zevního i vnitřního původu (59). Při správné funkci poskytuje imunitní systém účinnou obranyschopnost proti vnějším škodlivinám a imunitní dohled nutný k odstranění vnitřních škodlivin a zároveň udržuje toleranci k vlastním tkáním. Při autoimunitních onemocněních dochází k nepřiměřené aktivaci a k poruše regulace imunitní odpovědi, což vede ke ztrátě autotolerance a k poškození vlastních zdravých tkání. V případě IZM dochází k poškození nejen svalů a kůže, ale i plic a dalších orgánů zánětem, proto je označujeme jako systémová onemocnění.

1.4.3.1 Získaná imunita

Zásadní role získané imunity v patogenezi IZM je podporována již zmíněnou asociací HLA genů s rizikem rozvoje onemocnění a s jednotlivými fenotypy, dále skutečností, že u většiny nemocných lze v séru prokázat přítomnost autoantilátka a v neposlední řadě přítomnosti aktivovaných T a B lymfocytů v zánětlivých infiltrátech ve svalových biopsiích (Obrázek 1.4.3.1.1).

Obrázek 1.4.3.1.1. Podíl adaptivní imunity na patogenezi IZM (upraveno podle 45)



Použité zkratky: APC: antigeny prezentující buňka, CD: diferenciační skupina, CTL: cytotoxický lymfocyt, MHC: hlavní histokompatibilní komplex, TCR: receptor T lymfocytů

T lymfocyty hrají klíčovou roli při zahájení a regulaci imunní odpovědi. Při autoimunitních onemocněních dochází ke stimulaci CD4+ T lymfocytů vlastními antigeny a tím ke ztrátě autotolerance. Tento proces nemusí u nemocných s IZM probíhat ve svalové tkáni a například u nemocných s antisyntetázovým syndromem k němu zřejmě dochází v plicích (60). Na tkáňové úrovni se uplatňuje lokální působení CD8+ lymfocytů. Ve svalech nemocných s polymyozitidou je zánětlivý infiltrát tvořen cytotoxickými CD8+ T lymfocyty, které obklopují a invadují zdravě

vypadající svalová vlákna. Tyto CD8⁺ T lymfocyty vykazují klonální expanzi (61), expresi kostimulačních molekul (62) a zvýšenou tvorbu cytokinů a chemokinů (63), což svědčí pro antigenem vyvolanou aktivaci. Pravděpodobně vlivem cytokinů uvolňovaných aktivovanými T lymfocyty dochází na povrchu svalových vláken k expresi molekul hlavního histokompatibilního komplexu (MHC) třídy I, která za normálních okolností není přítomna (2). Část T lymfocytů infiltrujících svaly nemocných s IZM postrádá kostimulační molekulu CD28 (64). Tyto terminálně diferencované CD28^{null} T lymfocyty produkují velké množství prozánětlivých cytokinů a cytotoxických látek jako např. perforin a granzym B, zároveň jsou méně náchylné k apoptóze a mohou přežívat několik let (65). CD28^{null} T lymfocyty prokazatelně přetrvávají ve svalové tkáni i po léčbě a mohou se podílet na rezistenci k terapii. FOXP3⁺ regulační T lymfocyty hrají zásadní roli při udržování homeostázy imunitního systému a při zabránění rozvoje autoimunitních a chronických zánětlivých reakcí. U nemocných s IZM nebyl potvrzený snížený počet těchto buněk (66) a na dysregulaci imunitní odpovědi se podílí spíše porucha jejich funkce (67).

B lymfocyty se mohou podílet na rozvoji autoimunitních onemocnění různými mechanismy včetně tvorby autoprotilátek a imunokomplexů, předkládáním antigenů T lymfocytům a produkcí prozánětlivých cytokinů. Pro významný vliv B lymfocytů v patogenezi IZM svědčí jednak skutečnost, že u většiny nemocných lze prokázat přítomnost autoprotilátek (68) a dále také jejich zvýšený výskyt v periferní krvi a přítomnost ve svalové tkáni (69, 70). U nemocných s dermatomyozitidou jsou B lymfocyty charakteristicky přítomné v perivaskulárních zánětlivých infiltrátech, ve svalových biopsiích nemocných s polymyozitidou byl popsán výskyt plazmatických buněk (69). Aktivační faktor B lymfocytů (BAFF) a ligand indukující proliferaci (APRIL) jsou ligandy ze superrodiny tumor nekrotizujících faktorů, které hrají důležitou roli při stimulaci proliferace a přežívání B lymfocytů (71). V minulosti jsme prokázali, že zvýšené sérové hladiny BAFF u nemocných s anti-Jo-1 protilátkami korelují pozitivně s hodnotami kreatinkinázy a negativně s léčbou glukokortikoidy (72).

1.4.3.2 Autoprotilátky

K tvorbě protilátek dochází po stimulaci B lymfocytů specifickými CD4⁺ T lymfocyty. U většiny nemocných s IZM lze zjistit přítomnost autoprotilátek, které lze rozdělit na protilátky tzv. s myozitidou asociované, které se mohou vyskytovat i u jiných revmatických chorob a na protilátky specifické (MSA) (68). MSA hrají důležitou roli v diagnostice IZM, protože u jednoho nemocného

se obvykle vyskytuje jen jedna z nich a zároveň jsou jednotlivé MSA vázány s konkrétním fenotypem (Tabulka 1.4.3.2.1.). Přestože titry některých MSA korelují s aktivitou onemocnění, zatím chybí jednoznačné důkazy o jejich přímém patogenním působení. MSA často cílí proti jaderným nebo cytoplazmatickým strukturám, které se účastní genové transkripce, translokace proteinů nebo obrany proti virovým infekcím. Například TIF1 (transkripčního intermeriární faktor 1) hraje důležitou roli v supresi buněčného růstu a NXP2 (faktor 2 nukleární matrix) reguluje aktivaci a lokalizaci tumor supresorového genu p53. Protilátky zaměřené proti TIF1 a proti NXP2 jsou asociované se zvýšeným výskytem maligních onemocnění u dospělých nemocných s DM (38). Zajímavá je také skutečnost, že protilátky proti antigenům s obdobnou funkcí (tRNA-syntetázy) jsou spojené s obdobnými klinickými projevy (tzv. antisyntetázový syndrom) (25).

Tabulka 1.4.3.2.1. Přehled protilátek specifických pro myozitidu (upraveno podle 68)

Název	Antigen	Četnost	Klinické projevy
Antisyntetázové protilátky			
Anti-Jo-1 Anti-PL-7 Anti-PL-12 Anti-EJ Anti-OJ Anti-KS Anti-Ha Anti-Zo	tRNA syntetáza histidyl treonyl alanyl glycyl izoleucin asparaginyln fenylalanyl tyrozyln	anti-Jo-1 20-30% ostatní jsou vzácnější	Antisyntetázový syndrom (myozitida, intersticiální plicní postižení, artritida, horečka, Raynaudův fenomén, prsty mechanika). Může dominovat postižení plic (spíše u jiných protilátek než anti-Jo-1).
Protilátky specifické pro IZNM			
Anti-SRP	signál rozeznávající částice	5 %	IZNM, postižení myokardu, refrakterní na léčbu
Anti-HMGCR	3hydroxy-3methylglutaryl- koenzym A reductáza	6 %	IZNM, většinou v souvislosti s užíváním statinů
Protilátky specifické pro DM			
Anti-Mi2	helikázový protein, část komplexu NuRD	5-10 %	DM, obvykle dobře odpovídá na léčbu
Anti-TIF1	transkripční intermeriární faktor	15-20 %	DM, často paraneoplastická
Anti-NXP2	faktor 2 nukleární matrix	1-17% (častější u dětí)	Kalcinóza, možná asociace s malignitou
Anti-MDA5	protein 5 asociovaný s diferenciací melanomu	0-13% (častější v Asii)	Klinicky amyopatická DM, kožní vředy, intersticiální plicní postižení
Anti-SAE	enzym aktivující malý ubikvitinu podobný modifikátor	6-8 %	Klinicky amyopatická DM s pozdějším rozvojem myozitidy

1.4.3.3 Nespecifická imunita

Zánětlivé infiltráty u nemocných s IZM obsahují kromě lymfocytů také zralé a nezralé dendritické buňky (73). Myeloidní dendritické buňky prezentují antigeny naivním T lymfocytům, což představuje důležitý krok při zahájení adaptivní imunitní odpovědi. Plazmacytoidní dendritické buňky produkují interferony typu I (74, 75). Interferon β u nemocných s dermatomyozitidou vyvolává uvolnění volných kyslíkových radikálů a poškození mitochondrií (76). Interferon α indukuje na povrchu svalových buněk expresi molekul MHC I, která za normálních okolností není přítomna. Myocyty exprimující MHC I jsou následně citlivější na působení cytotoxických T lymfocytů i na navození buněčné smrti endoplazmatickým retikulem. U nemocných s imunitně zprostředkovanou nekrotizující myopatií v histologickém nálezu charakteristicky chybí výraznější lymfocytární infiltrát, ale bývají přítomné makrofágy 2 typu, které se podílí na hojení poškozených myocytů (77). Nově se objevily údaje o roli dysregulovaných neutrofilů a jimi produkovaných extracelulárních pastí, které mohou indukovat autoimunitní odpověď prostřednictvím působení na toll-like receptory (TLR) a také přímo poškozovat myotubuly (78).

Alarmíny, označované také jako molekulární vzory asociované s nebezpečím (DAMP), jsou endogenní proteiny, které se při poškození tkání nebo v rámci stresové reakce uvolňují do mezibuněčného prostoru a tam se podílejí na regulaci zánětlivých a imunitních procesů (79). Mezi alarmíny, které pravděpodobně hrají roli v patogenezi IZM patří protein HMGB1 (high mobility group box 1), dále proteiny teplotního šoku a S100 proteiny. Sérové hladiny HMGB1 jsou u nemocných s IZM významně zvýšené. Vlivem HMGB1 může docházet ke zvýšené expresi MHC I na svalových vláknech (80) a zároveň ke zvýšenému uvolňování Ca^{2+} ze sarkoplazmatického retikula a tím ke vzniku svalové slabosti (81). Proteiny teplotního šoku (HSP) se podílejí na regulaci metabolismu bílkovin v buňkách (82). HSP se podle své molekulové hmotnosti dělí na rodiny HSP90 a HSP70. HSP70 se účastní časných fází translace, zabráňují předčasnému složení polypeptidového řetězce. HSP90 se vážou na bílkoviny v pozdních fázích syntézy, jejich cílovými proteiny jsou většinou kinázy a transkripční faktory. V regenerujících svalových vláknech nemocných s IZM a v perifascikulárních vláknech u nemocných s DM byla prokázána zvýšená exprese HSP90 a HSP70 (83). Předpokládá se, že ve svalových vláknech hrají HSP protektivní roli. Na druhou stranu byla prokázána zvýšená exprese HSP90 v CD68+ lymfocytech napadajících svalová vlákna u nemocných s PM a v zánětlivých infiltrátech byl prokázán zvýšený poměr HSP90:HSP70. Role HSP v patogenezi IZM tedy zřejmě dvojaká. Rodina S100 proteinů zahrnuje

25 známých členů, které se podílejí na řadě intra a extracelulárních regulačních procesů (84). Expresí S100 proteinů se liší v jednotlivých typech buněk a tkání. Při poškození tkání nebo po stresové aktivaci dochází k uvolňování S100 proteinů do extracelulárního prostoru, kde se podílejí na regulaci zánětlivých a imunitních procesů. Dosud nejlépe prozkoumaný je S100A4, který byl pro svou roli při šíření maligních nádorů nazván metastazin. V minulosti jsme prokázali zvýšené hladiny S100A4 u nemocných s IZM (85).

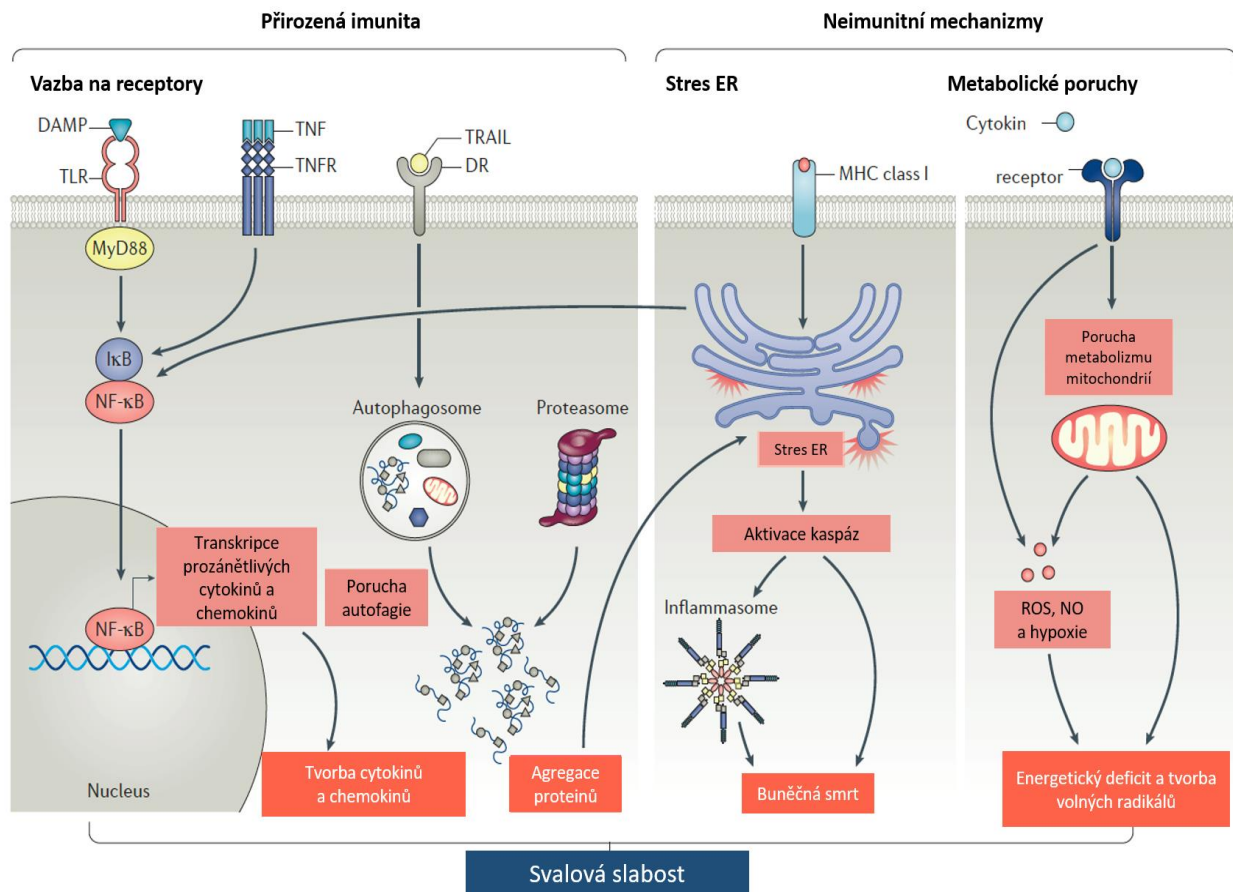
1.4.4 Neimunitní mechanismy

Závažnost svalové slabosti u řady nemocných s IZM nekoreluje s intenzitou zánětlivé aktivity patrné ve svalové biopsii nebo při vyšetření MRI a určitý stupeň svalové slabosti často přetrvává i po úspěšné imunosupresivní léčbě. Tyto skutečnosti svědčí pro podíl neimunitních mechanismů na vzniku svalové slabosti u nemocných s IZM (Obrázek 1.4.4.1) (86). Nejvíce pozornosti bylo dosud věnováno významu stresové aktivace endoplazmatického retikula (ER). Endoplazmatické retikulum plní v buňce několik důležitých funkcí. Kontroluje eflux kalciových iontů, což je důležité pro funkci svalových vláken. Dále se podílí na kontrole zrání a skládání proteinů, syntézy lipidů a prezentaci antigenů. Při vychýlení homeostázy ER dochází k poruše všech těchto komplexních mechanismů (87). ER stres je vyvolán stavem akumulace nezpracovaných nebo špatně složených proteinů. Může být vyvolán zvýšenou expresí molekul MHC I na povrchu svalových vláken, k níž dochází u většiny nemocných s IZM. ER je ve svalové buňce strukturálně navázáno na mitochondrie prostřednictvím sítě proteinů, která umožňuje obousměrnou komunikaci mezi oběma organelami. Ta je zásadní pro udržení buněčné homeostázy a zároveň umožňuje rychlý eflux Ca^{2+} potřebný k provedení svalové kontrakce. Aktivace stresové odpovědi ER vede k poruše buněčného dýchání a k nadprodukci volných kyslíkových radikálů, které vyvolávají oxidativní poškození a aktivují katabolické a autofagické procesy. ER může přispívat k patogenezi IZM i dalšími mechanismy včetně ovlivnění transkripce pleiotropního transkripčního faktoru NF- κ B, což vede ke zvýšené tvorbě řady cytokinů a chemokinů a může také vést přímo k poškození svalů.

Dalším dlouhodobě zkoumaným neimunitním mechanismem je hypoxie. V biopsiích nemocných s PM a především DM jsou patrné změny mikrovaskulatury, které mohou vyvolávat poškození svalové tkáně (88). Ve stěně endomyziálních kapilár nemocných s dermatomyozitidou je charakteristicky patrné ukládání komplementového membranolytického útočného komplexu,

což způsobuje ischemii a poškození svalových vláken s obrazem perifascikulární atrofie (2). Autofagie je proces odstraňování nepotřebného buněčného materiálu pomocí aktivní lysozomální degradace. Dříve se předpokládalo, že autofágie se podílí pouze na patogenezi IBM. Podle novějších studií dochází i u nemocných s jinými typy IZM ke zvýšené expresi TRAIL (TNF příbuzný ligand navozující autofágie) spojeným s autofágií (89).

Obrázek 1.4.4.1. Podíl přirozené imunity a neimunitních mechanismů na patogenezi IZM (upraveno podle 45)



Použité zkratky: DAMP: molekulární vzory asociované s nebezpečím, ER: endoplazmatické retikulum, NF-κB: nukleární receptor NF kappa B, ROS: volné kyslíkové radikály, TLR: receptor typu toll-like, TNF: tumor nekrotizující faktor, TRAIL: TNF příbuzný ligand navozující autofágie

1.5 Klinické aspekty

1.5.1 Klinické projevy

IZM typicky začínají subakutně nebo chronicky a hlavním projevem bývá převážně proximální symetrická svalová slabost, která se rozvíjí v průběhu týdnů až měsíců (1). Dlouhodobé onemocnění může vést ke vzniku svalových atrofií. Nemocní mívají obtíže vstát z nízké sedačky, vystoupit na vyšší schod, vylézt z vany nebo si umýt vlasy. Při těžším průběhu jsou pacienti upoutáni na lůžko a zcela odkázáni na pomoc druhé osoby. Svalová slabost je obvykle nebolestivá. IZM nepostihují pouze kosterní svalstvo. Postižení svalstva jícnu se projevuje orofaryngeální dysfagií, která je spojená s rizikem aspirace. Postižení myokardu není časté, může se projevovat převodními poruchami nebo srdečním selháním. Postižení dýchacích svalů je vzácné.

U nemocných s dermatomyozitidou se onemocnění projevuje charakteristickými kožními změnami. V obličeji bývá otok dolních víček a/nebo červenofialové zbarvení kolem očí, které se pro svou podobnost s barvou kvítků otočnicku nazývá heliotropní exantém. Nařívovělé Gottronovy papuly jsou typicky lokalizovány nad drobnými klouby rukou, mohou být doprovázeny periunguálními změnami. Erytém nad klouby na extenzorové straně končetin se nazývá Gottronův příznak. Heliotropní exantém a Gottronovy změny jsou považovány za patognomické příznaky dermatomyozitidy (Obrázek 1.5.1.1.). Tmavě červený až fialový exantém může být v dekoltu nebo na zadní straně krku a na ramenou (šálový příznak), někdy je patrný na zevní straně stehen. Kožní projevy mohou předcházet svalovému postižení o několik měsíců až let. Někdy se může dermatomyozitida manifestovat jako čistě kožní onemocnění bez svalového zánětu (tzv. amyopatická forma DM) a jindy mohou být změny typické pro dermatomyozitidu přítomny v biopsickém nálezu u nemocného bez kožních projevů (dermatomyositis sine dermatitis). U nemocných s antisyntetázovým syndromem mohou být přítomny hyperkeratotické léze na dlaních nebo laterálních stranách prstů, které se pro svůj vzhled nazývají „prsty“ nebo „ruce mechanika“.

Obrázek 1.5.1.1: Charakteristické kožní projevy dermatomyozitidy

a) Heliotropní exantém



b) Gottronovy papuly



IZM jsou systémová onemocnění s řadou mimosvalových příznaků, které mohou u některých pacientů dominovat klinickému obrazu. Periferní artritida je častým příznakem antisynthetázového syndromu, svou distribucí někdy napodobuje revmatoidní artritidu a, pokud se objeví jako první příznak, může být takto chybně diagnostikována. Artritida bývá ale přítomná i u ostatních forem IZM, jak jsme v minulosti zdokumentovali (Tabulka 1.5.1.1.) (90).

Tabulka 1.5.1.1. Výskyt artritidy u jednotlivých podtypů IZM (90)

Diagnóza	Artritida kdykoliv	Artritida v úvodu
Polymyozitida (n=46)	59 %	41 %
Dermatomyozitida (n=40)	55 %	38 %
Paraneoplastická myozitida (n=8)	25 %	13 %
Imunitně zprostředkovaná nekrotizující myopatie (n=11)	36 %	13 %
Myozitida s inkluzními tělísky (n=1)	100 %	100 %
Celkem (n=106)	53 %	37 %

Závažnou komplikací IZM je intersticiální plicní postižení. Nejčastěji má obraz nespecifické intersticiální pneumonie (NSIP) nebo obvyklé intersticiální pneumonie (UIP). Intersticiální plicní postižení se často vyskytuje u nemocných s antisyntetázovým syndromem. Velmi špatnou prognózu má akutní plicní postižení charakteru difúzního alveolárního postižení (DAD) u nemocných s dermatomyozitidou s pozitivitou anti-MDA5 protilátek. V souvislosti s postižením plic, ale jako samostatná komplikace se může u nemocných s IZM rozvinout plicní arteriální hypertenze.

Již více než 100 let je známá sociace IZM s nádory. Za paraneoplastickou IZM se obvykle považuje onemocnění vzniklé v období 3 roky před nebo po diagnóze malignity, nejvyšší riziko nádoru je v období jednoho roku od začátku příznaků IZM. Výskyt nádorových onemocnění je u nemocných s IZM zvýšený celoživotně. Relativní riziko maligního onemocnění u nemocných s dospělou formou dermatomyozitidy je, ve srovnání s běžnou populací, vyšší asi trojnásobně. U polymyozitidy je riziko nádorového onemocnění o něco nižší. Důležitým pokrokem v posledních letech je zjištění, že především protilátky anti-TIF1 a anti-NXP2 a nepřítomnost protilátek jsou spojené s vysokým rizikem malignity.

1.5.2 Laboratorní a další vyšetření

Postižení svalů se laboratorně manifestuje zvýšením sérových hladin svalových enzymů (kretinkináza, laktát dehydrogenáza, aldoláza), myoglobinu a aminotransferáz. Hodnoty CRP a

sedimentace erytrocytů nebývají zvýšené. Diagnosticky má velký význam průkaz přítomnosti pro myozitidu specifických protilátek, které jsou pozitivní u většiny nemocných. Elektromyografické (EMG) vyšetření je důležité především při odlišení neurogenní a myogenní svalové slabosti. U nemocných s aktivní myozitidou bývá na EMG patrná zvýšená inzerční aktivity v podobě fibrilačních potenciálů a pozitivních ostrých vln, dále polyfázické, úzké a nízké potenciály a bizarní vysokofrekvenční opakované výboje (91). Tyto EMG projevy jsou pro IZM charakteristické, ale nejsou specifické. Ze zobrazovacích metod se uplatňuje především magnetická rezonance svalů (MRI), která dokáže rozlišit aktivitu onemocnění projevující se edémem svalů patrným při zobrazení v sekvencích s potlačením tuku od atrofie a tukové přestavby nejlépe patrné v T1 váženém obraze. MRI může také pomoci vytipovat optimální místo pro provedení svalové biopsie (92). V poslední době se rozšiřuje využití kombinovaného vyšetření pozitronovou emisní tomografií s počítačovou tomografií, které zachytí aktivitu svalového procesu a zároveň může pomoci při pátrání po skrytých malignitách (93). Nejdůležitějším pomocným vyšetřením v diagnostice svalového postižení je pak svalová biopsie. Pro zajištění validního výsledku biopsie je nutné zajistit vyšetření čerstvého nebo zamraženého vzorku na specializovaném pracovišti, kde je k dispozici zkušený patolog a kde jsou dostupné všechny potřebné techniky včetně enzymové histochemie a elektronmikroskopie. Při diagnostice a monitorování plicního postižení nemocných s IZM se používá především funkční vyšetření včetně měření difuzní kapacity pro oxid uhelnatý a dále vyšetření plic pomocí počítačové tomografie.

1.5.3 Diferenciální diagnostika

IZM jsou vzácná a poměrně heterogenní skupina onemocnění s velmi širokou diferenciální diagnózou. Řada neurologických, infekčních, endokrinních a metabolických onemocnění se může manifestovat svalovou slabostí (Tabulka 1.5.3.1) (94). Poněkud jednodušší je situace u pacientů s dermatomyozitidou, u nichž jsou přítomné patognomonické kožní projevy. Diagnóza polymyozitidy je mnohem složitější, protože neexistuje žádný specifický příznak nebo nález, s možnou výjimkou několika specifických autoprotiátek, a proto poměrně často bývá diagnóza určena chybně (2). Je důležité vědět, že i u nemocných se svalovými dystrofiemi nebo s jinými nezánětlivými myopatiemi může dojít v průběhu léčby glukokortikoidy k částečnému zlepšení, a proto nelze odpověď na léčbu použít jako průkaz autoimunitní etiologie onemocnění. Chybně indikovaná léčba glukokortikoidy u nemocného s nezánětlivou myopatií vystavuje pacienta zbytečnému riziku vedlejších účinků (94). U nemocných, u nichž nepozorujeme očekávanou

odpověď na léčbu, je nezbytné pečlivě revidovat anamnézu, klinické projevy a výsledky provedených vyšetření (Tabulka 1.5.3.2.) se zvláštním důrazem na výsledek svalové biopsie (95).

Tabulka 1.5.3.1. Onemocnění, která mohou klinicky napodobovat myozitidu (94).

<p>Toxické myopatie</p> <p>Infekce: trichinelóza, toxoplazmóza, virová onemocnění, pyomyozitida</p> <p>Endokrinopatie: hypo-, hypertyreóza, Cushingův syndrom, akromegalie, hyperparatyreóza, hypovitaminóza D</p> <p>Neurologická onemocnění: amyotrofická laterální skleróza, spinální svalová atrofie, myasthenia gravis, Lambert-Eatonův syndrom, kanálopatie</p> <p>Metabolická onemocnění: glykogenózy: d deficit kyselá maltázy (Pompeho choroba), fosfofruktokinázy, myofosforylázy (McArdleova choroba), fosforyláza B kinázy, amylo-1,6-glukosidázy, střádavá onemocnění lipidů, deficit karnitin palmityltransferázy II</p> <p>Svalové dystrofie: pletencové svalové dystrofie, dysferlinopatie, myotonická dystrofie typu II, facioskapulohumerální svalová dystrofie, Beckerova svalová dystrofie, ženské nosičky genu pro dystrofinopatie, dezminmyopatie</p> <p>Mitochondriální onemocnění</p>
--

Tabulka 1.5.3.2. Příznaky a projevy důležité pro diferenciální diagnostiku IZM (95)

Svědčí spíše pro	
idiopatické zánětlivé myopatie	jiný typ myopatie
postupný rozvoj svalové slabosti (týdny-měsíce)	rodinná anamnéza myopatie
převážně proximální a symetrická svalová slabost	slabost svalů obličeje
typické kožní změny	rychlý rozvoj svalové atrofie nebo jakákoliv hypertrofie svalů
intersticiální plicní postižení	časová souvislost obtíží s fyzickou námahou, jídlem nebo hladověním
jiné příznaky systémového onemocnění pojiva (např. artritida, Raynaudův fenomén)	křeče, fascikulace, myotonie
přítomnost autoprotilátek	velmi vysoké hodnoty kreatinkinázy (>100x horní hranice normy)

1.5.4 Hodnocení aktivity onemocnění a odpovědi na léčbu

Častou chybou v klinické praxi je spoléhat se při monitorování nemocných s IZM pouze na vyšetření svalových enzymů, které často nekorelují s aktivitou onemocnění. V průběhu léčby je nutné sledovat vývoj svalové slabosti, k tomu se obvykle používá semikvantitativní hodnocení na stupnici 0-10 v osmi svalových skupinách pomocí svalového testu (MMT8) (96). Svalovou vytrvalost a únavnost při cvičení sedmi svalových skupin objektivizuje index FI-2 (Myositis Functional Index-2) (97). Ovšem IZM nepostihují jen příčně pruhované svaly a mohou mít řadu jiných projevů, proto společnost IMACS vypracovala základní soubor nástrojů pro hodnocení aktivity onemocnění, rozsah poškození a kvalitu života u nemocných s myozitidou (98). K posouzení aktivity onemocnění slouží šest položek: hodnocení celkové aktivity onemocnění lékařem a pacientem na vizuální analogové škále (VAS), dotazník HAQ (Health Assessment Questionnaire), svalový test MMT8, hodnoty svalových enzymů (dva z následujících: kreatinkináza, laktát dehydrogenáza, ALT, AST) a zvláštní validizovaný nástroj k hodnocení extramuskulární aktivity MYOACT. MYOACT v kombinaci s VAS svalové aktivity jsou zahrnuty do formuláře MDAAT (Myositis Disease Activity Assessment Tool) (Obrázek 1.5.4.1.). MDAAT byl původně vytvořen pro užití v rámci klinických hodnocení, ale nachází uplatnění i v běžné klinické praxi. Precizní hodnocení rozsahu kožní aktivity a poškození u nemocných s dermatomyozitidou umožňuje index CDASI (Cutaneous Disease Activity Index) (99). Pro potřebu klinických hodnocení byla nově navržena kritéria hodnocení odpovědi na léčbu, která na základě šesti parametrů (globální aktivita dle lékaře a pacienta, svalová síla, výsledek dotazníku HAQ, hodnota svalových enzymů, extramuskulární aktivita) umožňují kvantifikovat odpověď na škále 0-100 a která definují minimální, střední a významné zlepšení (22). Tato nová kritéria by měla umožnit lepším posouzení účinků léčby IZM v klinických hodnoceních.

Obrázek 1.5.4.1. Formulář MDAAT k hodnocení aktivity IZM (98)

Aktivita u PM a DM

Klinické projevy jsou hodnoceny na základě a) předchozích 4 týdnů!!!! a b) je jsou způsobeny aktivitou myozitidy!!!!

NA = nezhodnoceno nebo není známo, 0 = nebylo, 1= zlepšuje se, 2= bez změny, 3 = horší, 4 = nově

Na 10 cm vizuální škále ohodnoťte aktivitu příznaků, tj. vlevo na začátku není žádná aktivita, úplně vpravo je např. těžká svalová slabost vedoucí k mobilitě, nebo např. výrazný erytém s rozsáhlejšími nekrotizacemi, či aktivní alveolotida s křídlovou dušností a DLCO pod 50%.

Hodnotí se změny způsobené aktivitou choroby, nehodnotí se zde již vzniklé poškození jako je např. slabost svalová způsobená atrofií svalů).

Jméno pacienta: Datum vyšetření: Jméno vyšetřujícího:

Konstituční projevy:

1. Horečka >38°C	NA	0	1	2	3	4
2. Pokles hmotnosti	NA	0	1	2	3	4
3. Únava / letargie	NA	0	1	2	3	4

Kožní projevy:

4. Kožní ulcerace	NA	0	1	2	3	4
5. Erytodermie	NA	0	1	2	3	4
6. Pankulitida	NA	0	1	2	3	4
7. Erytematózní vyrážka						
a) se sekundárními změnami (vesikulobulózní změny, eroze, nekróza)	NA	0	1	2	3	4
b) bez sekundárních změn	NA	0	1	2	3	4
8. Heliotropní ráš	NA	0	1	2	3	4
9. Gottronovy papuly / známky	NA	0	1	2	3	4
10. Periangiální kapilární změny	NA	0	1	2	3	4
11. Alopecie						
a) difúzní	NA	0	1	2	3	4
b) fokální	NA	0	1	2	3	4
12. Ruce mechanika	NA	0	1	2	3	4

Skeletální aktivita:

13. Artritida						
a) vysoce aktivní polyartritida	NA	0	1	2	3	4
b) středně aktivní artritida	NA	0	1	2	3	4
c) mírná artritida	NA	0	1	2	3	4
14. Atralgie	NA	0	1	2	3	4

Gastrointestinální aktivita:

15. Dysfagie						
a) střední až těžká	NA	0	1	2	3	4
b) mírná	NA	0	1	2	3	4
16. Bolesti břicha						
a) silné	NA	0	1	2	3	4
b) střední	NA	0	1	2	3	4
c) mírné	NA	0	1	2	3	4

Plicní aktivita:

17. Slabost dýchacích svalů bez ILD						
a) dušnost	NA	0	1	2	3	4
b) dušnost při námaze	NA	0	1	2	3	4
18. Aktivní reversibilní intersticiální plicní onemocnění (ILD)						
a) dušnost nebo kašel v důsledku ILD	NA	0	1	2	3	4
b) abnormality parenchymu na RTG / HRCT	NA	0	1	2	3	4
c) ≥ 10% změna FVC nebo DLCO	NA	0	1	2	3	4

19. Dysfonie

a) střední nebo těžká	NA	0	1	2	3	4
b) mírná	NA	0	1	2	3	4

Kardiovaskulární aktivita:

20. Perikarditida	NA	0	1	2	3	4
21. Myokarditida	NA	0	1	2		
22. Arytmie						
a) těžká	NA	0	1	2	3	4
b) jiná kromě sinus.tachykardie	NA	0	1	2	3	4
23. Sinusová tachykardie	NA	0	1	2	3	4

Jiná aktivita:

24. Specifikuj	NA	0	1	2	3	4
----------------------	----	---	---	---	---	---

Celková extramuskulární aktivita:

.....

Svalové onemocnění

25. Myozitida						
a) těžká	NA	0	1	2	3	4
b) střední	NA	0	1	2	3	4
c) mírná	NA	0	1	2	3	4
26. Myalgie	NA	0	1	2	3	4

Celkové hodnocení aktivity lékařem:

.....

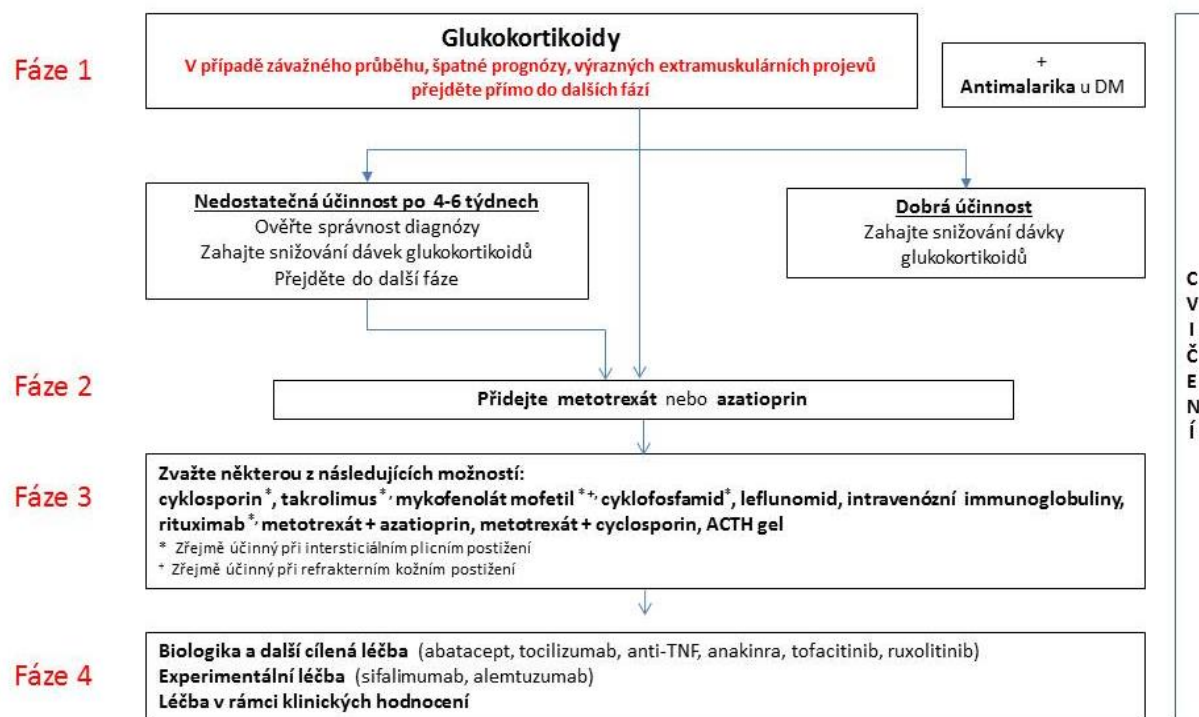
1.7 Léčba

Problematiku léčby IZM jsem jako spoluautor zpracoval pro monografii vydanou v roce 2017 (100), v dalších odstavcích vycházím z tohoto textu.

Hlavním cílem léčby IZM je zlepšit svalovou sílu, potlačit extramuskulární aktivitu onemocnění a zároveň minimalizovat riziko komplikací spojených s léčbou. Vzestup svalové síly je většinou doprovázen i poklesem svalových enzymů, ale není tomu tak vždy. Proto je chybou léčit jen podle hodnot svalových enzymů, hlavním parametrem léčebné odpovědi musí být vždy klinický stav pacienta.

Léčba IZM je obtížná, protože se jedná o vzácná onemocnění s heterogenními klinickými projevy a s neobjasněnou etiopatogenezí. Účinnost jednotlivých léčiv je založena na empirii, nebo v lepším případě na výsledcích několika málo randomizovaných kontrolovaných klinických hodnocení u malého počtu nemocných. Základní léčebný postup je shrnut na obrázku 1.7.1.

Obrázek 1.7.1. Základní léčebný algoritmus idiopatických zánětlivých myopatií



Kromě farmakoterapie hraje velmi důležitou roli fyzioterapie a rehabilitace, která by měla být zahájena v časných stadiích léčby. Všem nemocným s IZM je třeba poskytnout odpovídající edukaci, psychologické a sociální služby. Celkově je nutné konstatovat, že výsledky léčby IZM jsou mnohdy neuspokojivé. Nemocní musí léky užívat mnoho let, jen málokdy se podaří léčbu ukončit a jen málo pacientů dosáhne na léčbě stavu úplného zdraví.

1.7.1. Farmakoterapie

Lékem volby pro úvodní léčbu IZM jsou glukokortikoidy (101). Jejich použití je založeno na zkušenostech, neexistují kontrolované klinické studie. Obvyklá úvodní dávka je 0,5-1 mg/kg prednisonu nebo ekvivalentní dávka jiného glukokortikoidu denně, následovaná pomalým snižováním po 2-4 týdnech za pečlivého sledování léčebné odpovědi s cílem dosažení udržovací dávky 5-10 mg denně v průběhu 6-12 měsíců. U nemocných s těžkým průběhem onemocnění lze použít v úvodu léčby IV pulzy metylprednisolonu (500-1000 mg denně po dobu 3-5 dnů). U většiny nemocných samotné glukokortikoidy nestačí k dostatečnému potlačení aktivity, případně musí být dávka glukokortikoidů rychle snižována z důvodů nežádoucích účinků, proto bývají i v časných fázích léčby do kombinace s glukokortikoidy přidávány různé imunosupresivní přípravky. Obvykle je jako první volen metotrexát v dávkování obdobném jako při léčbě

revmatoidní artritidy (17). Další možností je azatioprin, který může být v léčbě IZM použit samostatně nebo v kombinaci s metotrexátem (102). Azatioprin je obvykle nasazován v dávce 50 mg denně a postupně navýšen na 2-3 mg/kg/den; nástup účinku může trvat až 6-8 měsíců.

U nemocných s nepříznivou prognózou nebo nedostatečnou odpovědí na úvodní léčbu lze zvažovat další imunosupresiva. U nemocných s intersticiálním plicním postižením a u nemocných s anti-Jo-1 pozitivním antisyntetázovým syndromem řada odborníků na základě nezaslepených sledování a retrospektivních analýz doporučuje použití cyklosporinu (103). Novější kalcineurinový inhibitor takrolimus je v léčbě IZM používán stále častěji, hlavně u nemocných s intersticiálním plicním onemocněním (104). Mykofenolát mofetil byl, jak samotný tak v kombinaci s jinými imunosupresivy, účinný v léčbě refrakterní PM a DM včetně klinicky amyopatické DM s plicním postižením (105). Cyklofosfamid se osvědčil v léčbě různých autoimunitních onemocnění, nicméně vzhledem ke své toxicitě je při léčbě IZM obvykle považován za lék druhé volby, především u nemocných s intersticiálním plicním postižením (106). Cyklofosfamid je obvykle podáván jako IV pulzy v dávkách obdobných jako při léčbě lupusové nefritidy nebo ANCA asociované vaskulitidy. Leflunomid se jeví jako účinný především při léčbě rezistentní dermatomyozitidy (107). Účinnost intravenózních imunoglobulinů (IVIg) byla prokázána před více než 20 lety v dvojité slepé, placebem kontrolované studii u celkem 15 nemocných s DM rezistentní na předchozí léčbu (108). Následná klinická hodnocení již nepřinesla tak jednoznačné výsledky, ovšem IVIg jsou obecně považovány za účinné u nemocných s rezistentní PM nebo IMNM. Podle publikované série kazuistik mohou být IVIg úspěšně použity jako úvodní léčba u nemocných s IMNM a kontraindikací glukokortikoidů (109). IVIg jsou dobrou léčebnou alternativou pro léčbu IZM u nemocných s imunodeficitem, infekcí nebo u těhotných. Přírodní adrenokortikotropní hormon s prodlouženým uvolňováním (ACTH gel), který se podává ve formě intramuskulárních nebo subkutánních injekcí, byl schválen Americkou lékovou agenturou FDA pro léčbu myozitid již v roce 1952. Tento přípravek indukuje tvorbu endogenního kortizolu, ale má i další imunomodulační účinky. ACTH gel je účinný u nemocných s IZM rezistentní na předchozí léčbu (110), ovšem jeho použití je omezeno vysokou cenou.

Z biologických léčiv se zatím nejslibněji jeví rituximab, monoklonální protilátka proti molekule CD20, která způsobuje depleci B lymfocytů (20). O účinnosti inhibitorů tumor nekrotizujícího faktoru (TNFi) nebo anakinry v léčbě IZM nejsou přesvědčivé důkazy. Dokonce bylo popsáno několik případů IZM indukované léčbou TNFi (51). Navzdory izolovaným

kazuistickým sdělením popisujícím zlepšení nebo steroidy šetřící účinek biologických přípravků u nemocných s IZM nelze na základě dostupných údajů biologickou léčbu, s výjimkou rituximabu, doporučit k použití v běžné klinické praxi. Určitou nadějí se v poslední době staly inhibitory janus kinázy. Byly publikovány slibné výsledky při léčbě rezistentního kožního postižení u nemocných s dermatomyozitidou (111) a dokonce při léčbě plicního postižení u nemocných s pozitivitou MDA5 protilátek, které má obvykle velmi nepříznivou prognózu (112). Přehled doporučeného dávkování imunosupresivních a imunomodulačních léčiv poskytuje tabulka 1.7.1.1.

Tabulka 1.7.1.1. Imunosupresivní a imunomodulační léčba IZM (100)

Léčivo	Aplikace	Dávka	Nežádoucí účinky	Potřeba sledování
Prednison	per os	1-2 mg/kg/den 2-4 týdny, pak detrakce přibližně o 20% stávající dávky každý měsíc	Hypertenze, přírůstek na váze, retence tekutin, hyperglykémie, hypokalémie, katarakta, osteoporóza, infekce, aseptická nekróza	Váha, krevní tlak, glukóza, kalium, tvorba katarakty
Metylprednisolon	intra-venózní	1000 mg/denně nebo každý druhý den, celkem 3-6 dávek	Arytmie, porucha chuti, nespavost, psychické příznaky, a další podobně jako prednison	Puls, krevní tlak, glykémie, kalium
Azatioprin	per os	2-3 mg/kg/den; v jedné ranní dávce	Hepatotoxicita, pankreatitida, leukopenie, makrocytóza, infekce, nádory, teratogenicita	Měsíčně krevní obraz a jaterní testy, po stabilizaci stačí 1x za 3 měsíce
Metotrexát	per os subkutánní	7,5-20 mg týdně	Hepatotoxicita, plicní fibróza, infekce, leukopenie, nauzea, alopecie, stomatitida, infertilita, nádory, teratogenicita	Týdně jaterní testy a krevní obraz, po stabilizaci 1x měsíčně
Cyklosporin	per os	3-5 mg/kg/den, ve 2 dávkách	Nefrotoxicita, hypertenze, infekce, hepatotoxicita, hirsutismus, třes, hypertrofie dásní, teratogenicita	Krevní tlak, kreatinin, jaterní testy, případně hladiny cyklosporinu
Cyklofosfamid	per os intra-venózní	1,5-2 mg/kg/den v jedné ranní dávce 1 g/m ² 1x měsíčně	Útlum kostní dřeně, hemoragická cystitida, infertilita, alopecie, infekce, nádory, teratogenicita navíc nauzea a zvracení	Měsíčně krevní obraz a moč 1x za 1-2 týdny kompletní krevní obraz, včetně destiček, moč. Před a po infuzi při stabilním dávkování.
Leflunomid	per os	20mg denně	Hepatotoxicita, plicní fibróza, infekce, leukopenie, nauzea, alopecie, stomatitida, kožní reakce, teratogenicita	Týdně jaterní testy a krevní obraz, po stabilizaci 1x měsíčně
Mykofenolát mofetil	per os	1-1,5 g 2x denně; ne více než 1 g denně u renálního selhávání	Útlum kostní dřeně, hypertenze, průjem, třes, nauzea, zvracení, bolesti hlavy, sinusitida, kašel, amblyopie, zmatenost, infekce, teratogenicita, nádory	Krevní obraz 1x týdně 1. měsíc, 2x měsíčně 2. a 3. měsíc a pak 1x měsíčně
Takrolimus	per os	0,075 mg/kg/den rozděleno do dvou dávek	Nefrotoxicita, hypertenze, infekce, hepatotoxicita, hirsutismus, třes, hyperplazie dásní, teratogenicita	Krevní tlak, měsíčně hladiny takrolimu, kreatinin, jaterní testy
Intravenózní imunoglobuliny	intra-venózní	2 g/kg během 2-5 dnů; opakovat každých 4-8 týdnů podle potřeby	hypotenze, arytmie, nefrotoxicita, bolesti hlavy, aseptická meningitida, anafylaxe, mozková příhoda	Puls, krevní tlak, kreatinin

1.7.2 Cvičení

V minulosti nebylo nemocným s IZM cvičení a posilování svalů doporučováno pro obavy z možného zhoršení svalového zánětu. Od roku 1993 přibývá studií, které potvrzují bezpečnost a prospěch cvičení především u nemocných s aktivním nebo krátce trvajícím onemocněním (113). Bylo navrženo několik různých cvičebních programů založených na cvičení proti odporu, aerobním cvičení nebo na kombinaci obou. Cvičení vede ke zlepšení funkce svalů, aerobního výkonu i kvality života. V současné době nejsou k dispozici žádná jednoznačná doporučení pro cvičení nemocných s IZM. Obecně platí, že zátěž a intenzita cvičení musí být přizpůsobena stupni svalového postižení, celkovému stavu nemocného a aktivitě onemocnění. Při tvorbě cvičebního plánu je třeba brát v úvahu i komorbidity a užívanou medikaci.

1.7.3 Prediktory odpovědi na léčbu

Těžká svalová slabost, dysfagie, přítomnost extramuskulárních projevů a opožděné zahájení léčby jsou spojené s horší prognózou IZM. Přítomnost maligního onemocnění je také nezávislým prognostickým faktorem, osud těchto nemocných závisí především na výsledku léčby nádoru. Na druhou stranu je třeba uvést, že velmi vysoké hodnoty svalových enzymů v úvodu onemocnění nejsou spojené s horší léčebnou odpovědí (95).

2. HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE

Hypotéza této disertační práce je založena na předpokladu, že lepší pochopení patogeneze idiopatických zánětlivých myopatií (IZM) může výhledově zlepšit terapeutické možnosti. Pro vznik onemocnění je zásadní přítomnost dědičné predispozice a působení faktorů zevního prostředí. Na rozvoji poškození svalů a dalších orgánů se podílí komplexní souhra složek přirozené i získané imunity a také další neimunitní procesy, přičemž podíl různých mechanismů se u jednotlivých podtypů IZM liší a dosud nebyl plně objasněn. Předchozí výzkum na našem pracovišti se věnoval otázkám spojeným s rolí S100 proteinů, adipocytokinů, aktivačního faktoru B lymfocytů (BAFF) a interleukinu-35 v patogenezi různých zánětlivých revmatických onemocnění, především revmatoidní artritidy. Tato disertační práce na dřívější výsledky částečně navazuje ve snaze potvrdit účast těchto molekul v patogenezi IZM, případně lépe prozkoumat mechanismus jejich působení. V poslední části jsou zařazeny výsledky projektu ARTEMIS, pilotního klinického hodnocení zkoumajícího účinnost a bezpečnost přípravku abatacept v léčbě IZM.

Dílčí cíle mé doktorské práce lze rozdělit podle jednotlivých tematických okruhů na část týkající se vlivu vnějšího prostředí a genetických rizikových faktorů, dále na okruh zabývající se imunitními a neimunitními patogenetickými mechanismy IZM a na část popisující výsledky léčby abataceptem, inhibitorem kostimulačních receptorů T lymfocytů.

Vliv faktorů vnějšího prostředí a genetických rizikových faktorů

- 1.** Stoupá výskyt imunitně zprostředkované nekrotizující myopatie indukované statiny?
- 2.** Jsou polymorfismy genů proteinů teplotního šoku HSP70 spojené s rizikem vzniku autoimunitních onemocnění?
- 3.** Jsou mezi asijskými a evropskými nemocnými s IZM genetické rozdíly a liší se genetické rizikové faktory u pacientů s amyopatickou dermatomyozitidou, která má především u asijských nemocných špatnou prognózu?

Imunitní a neimunitní patogenetické mechanismy

- 4. a 5.** Korelují hladiny BAFF a visfatinu s aktivitou IZM u nemocných s pozitivitou anti-Jo-1 protilátek, a jaké jsou jejich vzájemné vztahy?
- 6. a 7.** Hraje interleukin-35 nebo prozánětlivý protein S100A11 roli v patogenezi IZM?

8. Korelují hladiny proteinu S100A4 s výskytem malignit u nemocných s IZM?
9. Dochází u nemocných s IZM ke změnám regulační dráhy aktivin A-myostatin-folistatin?

Terapie

10. a 11. Je terapeutické ovlivnění aktivace T lymfocytů přípravkem abatacept účinné v léčbě IZM a lze u nemocných po léčbě prokázat změny fenotypů periferních T a B lymfocytů?

3. VLASTNÍ VÝSLEDKY PRÁCE

Tato disertační práce je založena na jedenácti publikacích, které představují formou souhrnů. V originální podobě jsou články zařazeny do přílohy, která navíc obsahuje také sedm přehledných článků týkajících se problematiky idiopatických zánětlivých myopatií.

Vliv faktorů vnějšího prostředí a genetických rizikových faktorů

3.1. Rostoucí incidence imunitně zprostředkované nekrotizující myopatie: zkušenosti z jednoho pracoviště.

Úvod: Imunitně zprostředkovaná nekrotizující myopatie (IZNM) je relativně nově popsána chorobná jednotka, která patří mezi idiopatické zánětlivé myopatie (IZM). IZNM se klinicky projevuje proximální svalovou slabostí, obvykle bez výraznějších myalgií a bez extramuskulárního postižení. Pro diagnózu IZNM je určující výsledek svalové biopsie, přičemž v histologickém obraze, na rozdíl od jiných typů IZM, převažují nekrotické změny bez lymfocytárního zánětlivého infiltrátu. Pro autoimunitní původ IZNM svědčí především častá přítomnost specifických autoprotilátek a odpověď na imunosupresivní léčbu. Část nemocných s IZNM má protilátky proti 3-hydroxy-3-metylglutaryl koenzym A reduktáze (HMGCR). U většiny nemocných s anti-HMGCR protilátkami předcházela vzniku onemocnění léčba statiny, jejichž terapeutický účinek je založen na inhibici HMGCR. Předpokládá se tedy, že léčba statiny může toto onemocnění indukovat. Vzhledem k tomu, že jsme v poslední době zaznamenali nárůst nových případů IZNM jsme se rozhodli tento trend analyzovat.

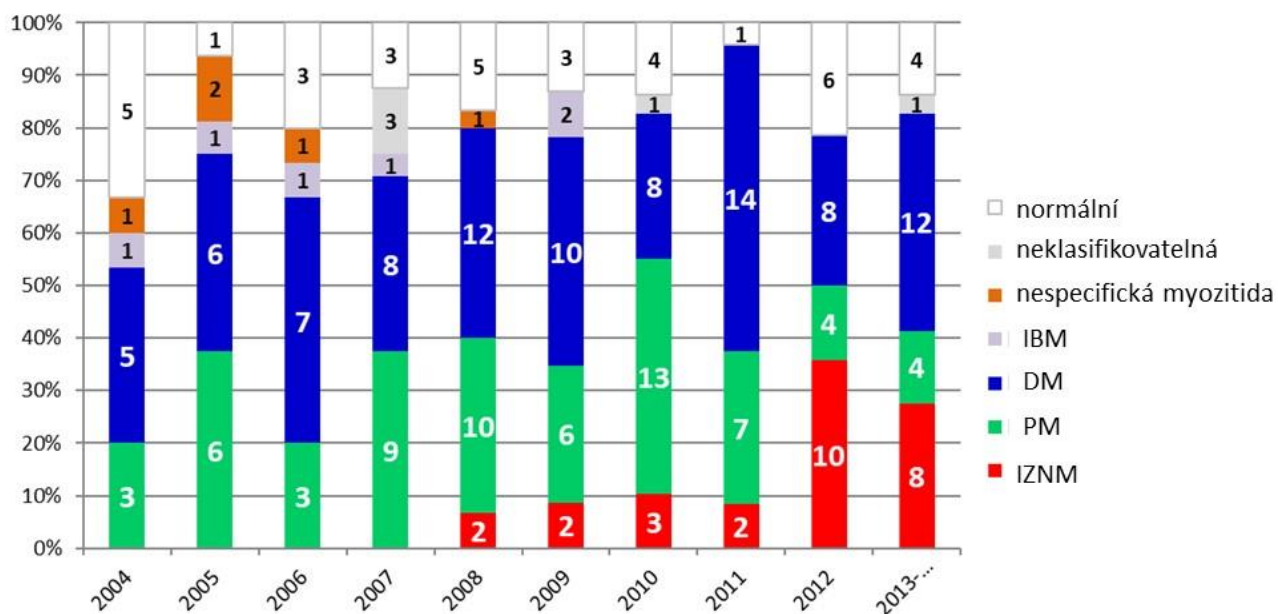
Cíle: Posoudit vývoj incidence IZNM v průběhu 10 let se zaměřením na podskupinu nemocných s pozitivitou anti-HMGCR protilátek v souvislosti s užíváním statinů.

Metodika: Provedli jsme retrospektivní vyhodnocení výsledků všech diagnostických svalových biopsií indikovaných na našem pracovišti v období od ledna 2004 do června 2014. Na základě původních popisů patologa byly biopsie klasifikovány v souladu s doporučením ze 119 setkání pracovní skupiny Evropského neuromuskulárního centra (ENMC). V dostupných vzorcích sér nemocných jsme zjišťovali metodou ELISA přítomnost anti-HMGCR protilátek. U nemocných s IZNM byla doplněna podrobná anamnéza užívání statinů v minulosti.

Výsledky: Ve sledovaném období byla svalová biopsie provedena u celkem 357 nemocných, 233 z nich splnilo klasifikační kritéria pro IZM včetně 27 (11,6 %), kteří byli klasifikováni jako IZNM.

V období 2004 – 2007 nebyly zjištěny žádné případy IZNM. Mezi roky 2008 a 2011 byla IZNM diagnostikována u dvou až tří nemocných ročně. V následujících dvou a půl letech bylo diagnostikováno 18 nových případů IZNM, což představovalo 66,6 % ze všech provedených svalových biopsií. Tento nárůst incidence byl statisticky významný ($p < 0,0001$) (Obrázek 3.1.1.).

Obrázek 3.1.1: Poměrná distribuce výsledků svalových biopsií v letech 2004-2013



Použité zkratky: DM: dermatomyozitida, IBM: myozitida s inkluzními tělísky, PM: polymyozitida, IZNM: imunitně zprostředkovaná nekrotizující myopatie

Všechny biopsie odečítal jeden zkušený patolog podle stejného protokolu. Třináct z celkem 27 nemocných s IZNM (48 %) užívalo statiny v minulosti. U jedenácti z nich (85 %) byla prokázána přítomnost anti-HMGCR protilátek. Všichni nemocní s pozitivitou anti-HMGCR protilátek měli anamnézu užívání statinů, nejčastěji atorvastatinu. Neprokázali jsme souvislost vzniku IZNM s jinými faktory vnějšího prostředí.

Závěr: Naše výsledky potvrzují nárůst incidence IZNM, především asociované s pozitivitou anti-HMGCR protilátek. Předpokládáme, že na stoupající incidenci anti-HMGCR pozitivní IZNM se podílí častější předepisování statinů v souladu s agresivnějším přístupem k léčbě dyslipidemií.

Tato práce byla publikována v časopise Rheumatology (IF: 4,475) a její originální znění je přiloženo jako příloha č. 1.

3.2. Exprese HSP70 genů HSPA1A a HSPA1B lokalizovaných v oblasti hlavního histokompatibilního komplexu je spojena s rizikem autoimunitních revmatických onemocnění.

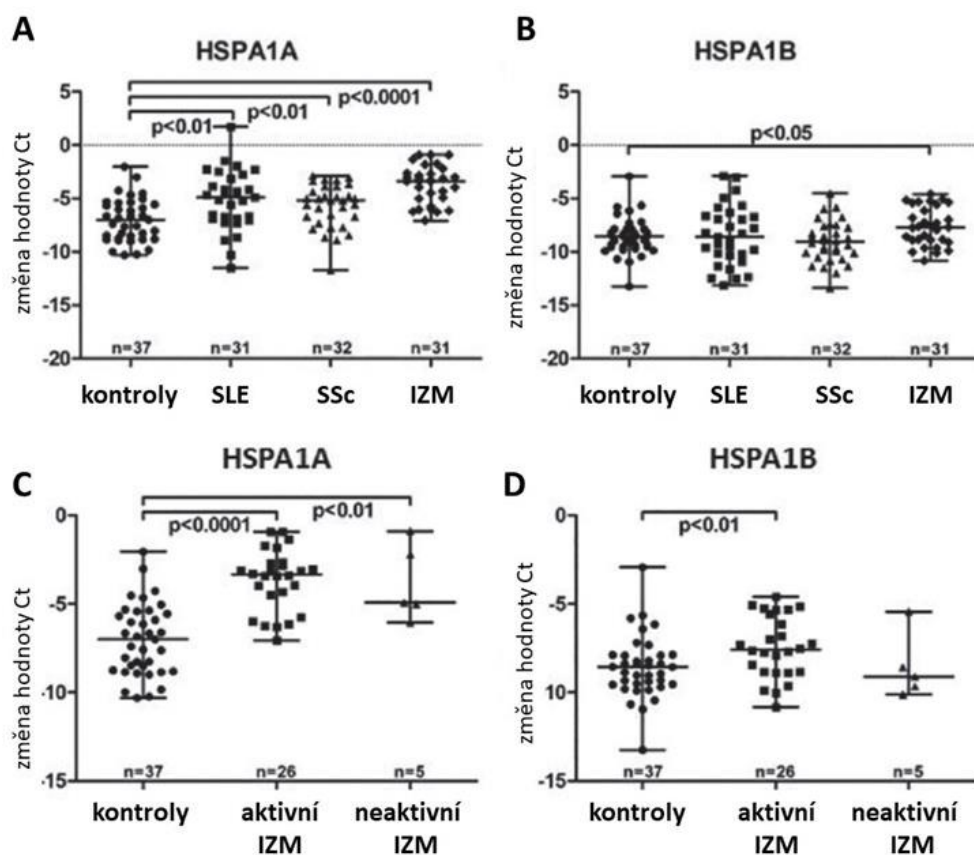
Úvod: Riziko rozvoje autoimunitních onemocnění je nejsilněji spojeno s geny hlavního histokompatibilního komplexu. Tato oblast zahrnuje, kromě genů kódujících antigen prezentující molekuly, i další geny podílející se na regulaci imunitní odpovědi. Dva z nich: HSPA1A a HSPA1B kódují proteiny teplotního šoku (HSP) 70, které jsou v buňkách vlivem stresu zvýšeně exprimovány. HSP70 se účastní časných fází translace, zabraňují předčasnému složení polypeptidového řetězce. Jejich role se liší podle lokalizace. Intracelulárně přítomné HSP70 zabraňují apoptóze a tím plní ochrannou roli tzv. molekulárních chaperonů. Extracelulárně uvolněné HSP70 mohou přenášet stimulační signály mezi buňkami a tím působit imunogenně. V regenerujících svalových vláknech nemocných s idiopatickými zánětlivými myopatiemi (IZM) a v perifascikulárních vláknech u nemocných s dermatomyozitidou byla v minulosti prokázána zvýšená exprese HSP70, což svědčí pro jejich možnou roli v patogenezi.

Cíle: Cílem práce bylo analyzovat regulaci exprese dvou indukovatelných HSP70 genů (HSPA1A and HSPA1B) lokalizovaných v oblasti hlavního histokompatibilního komplexu u nemocných se systémovými revmatickými chorobami a posoudit jejich možnou roli jako molekulárních markerů autoimunitních procesů.

Metodika: Do této studie bylo zařazeno celkem 94 nemocných se systémovými revmatickými chorobami, z nichž 31 mělo IZM, 31 systémový lupus erytematodes (SLE) a 32 systémovou sklerodermii (SSc). V kontrolní skupině bylo 37 zdravých osob. Expresse mRNA byla stanovena pomocí metody real-time PCR. Expresse intracelulárních HSP70 proteinů byla vyšetřována pomocí průtokové cytometrie a plazmatické koncentrace HSP70 pomocí metody ELISA.

Výsledky: Expresse genu HSPA1A byla, ve srovnání se zdravými osobami, významně zvýšena u nemocných se všemi chorobami (SLE: $p < 0,01$; SSc: $p < 0,01$; IIM: $p < 0,0001$). Expresse genu HSPA1B byla významně zvýšena jen u nemocných s IZM ($p < 0,05$) (Obrázek). U nemocných s IZM bylo patrné zvýšení exprese obou genů v závislosti na aktivitě onemocnění (Obrázek 3.2.1). Tento rozdíl byl méně významný u SSc a SLE.

Obrázek 3.2.1. Expresse genů HSPA1A a HSPA1B u nemocných s různými revmatickými chorobami (A, B) a u nemocných s IZM v závislosti na aktivitě onemocnění (C, D).



Použité zkratky: IZM: idiopatické zánětlivé myopatie, SLE: systémový lupus erytematoses, SSc: systémová sklerodermie

U nemocných s IZM byla exprese genu HSPA1B asociována s rizikovou alelou HLA-DRB1*03. Dalším zjištěním byl vztah regulace exprese genu HSPA1A s přítomností autoantilátěk u nemocných se SLE a IZM. Intracelulární hladiny HSP70 nebyly zvýšené, ale u nemocných se SLE a IZM byla prokázána zvýšená extracelulární koncentrace proteinu HSP70 ve srovnání s kontrolami.

Závěr: Naše výsledky potvrzují roli HSP70 u autoimunitních revmatických onemocnění a ukazují, že HSP70 geny HSPA1A a HSPA1B lokalizované v oblasti hlavního histokompatibilního komplexu se podílejí na patogenezi těchto chorob.

*Tato práce byla publikována v časopise *Clinical and Experimental Rheumatology* (IF: 3,542) a její originální znění je přiloženo jako příloha č. 2.*

3.3. Sestříhová varianta genu WDFY4 posiluje signalizaci MDA5 a zvyšuje riziko rozvoje klinicky amyopatické dermatomyozitidy.

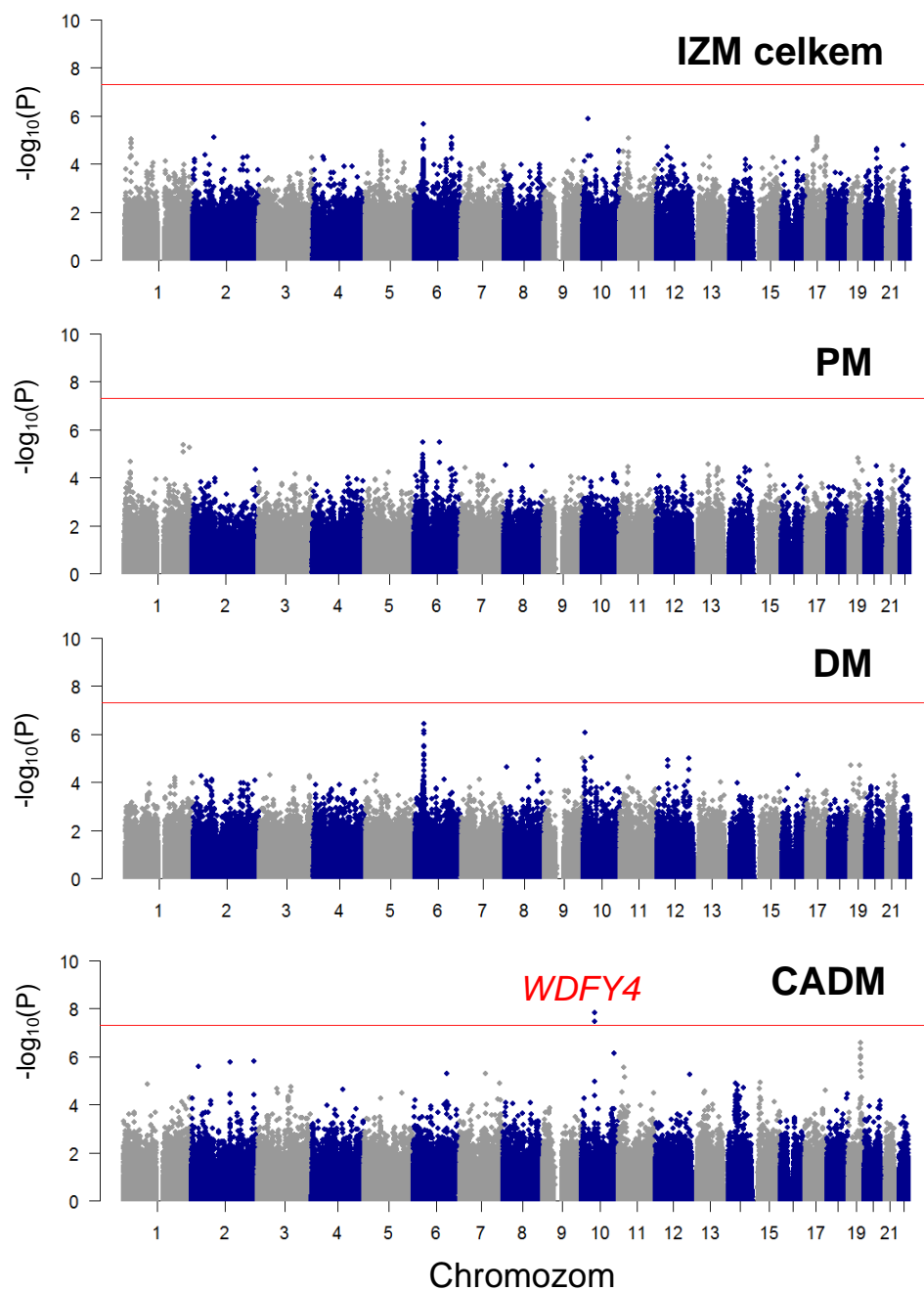
Úvod: Anti-MDA5 autoprotilátky byly poprvé popsány v roce 2005 u japonských pacientů s amyopatickou dermatomyozitidou (CADM). Na základě své molekulární hmotnosti (140 k-Da) a klinické asociace s CADM byly původně pojmenovány anti-CADM-140. Antigen MDA5 (protein 5 asociovaný s diferenciací melanomu) je cytoplazmatický PRR (receptor rozeznávající molekulové vzory), který se prostřednictvím stimulace tvorby interferonu typu I podílí na obraně proti virovým infekcím. Anti-MDA5 protilátky se vyskytují u asi 10-20 % japonských pacientů s dermatomyozitidou a jsou klinicky asociované s amyopatickou formou onemocnění, která bývá komplikována rychle progredující intersticiální pneumonií s vysokou mortalitou. Zatím není známo, zda je pozitivita anti-MDA5 protilátek asociována s konkrétní genetickou predispozicí.

Cíle: Cílem práce bylo provést první genomovou asociační studii u japonských pacientů s idiopatickými zánětlivými myopatiemi (IZM) se zvláštním zaměřením na CADM a následně ověřit možné kauzální mechanismy nalezených genových variant.

Metodika: Celkem bylo zařazeno 236 nemocných s polymyozitidou a 340 s dermatomyozitidou, včetně 33 nemocných s CADM z 18 japonských pracovišť. Jako kontrolní skupina sloužilo 6270 osob bez anamnézy autoimunitních onemocnění. Genové asociace japonských nemocných s CADM byly porovnávány s výsledky 21 evropských pacientů s CADM a 84 kontrol. Pomocí Illumina SNP čipů byly analyzovány asociace 496 819 jednonukleotidových polymorfismů (SNP). V další fázi studie byly pro nalezené varianty asociované s onemocněním doplněny analýzy in silico a funkční in vitro experimenty zaměřené na odhalení možných kauzálních mechanismů.

Výsledky: V této první genomové asociační studii provedené u asijských pacientů s IZM nebyly na úrovni celého genomu nalezeny žádné významné asociace ($P < 5 \times 10^{-8}$) a to, jak v celé vyšetřované kohortě, tak v podskupinách nemocných s poly- a dermatomyozitidou. Překvapivě nebyla prokázána ani asociace s MHC oblastí, což kontrastuje s dřívějšími výsledky u nemocných s IZM evropského původu. Ovšem ve skupině 33 nemocných s CADM byla zjištěna významná asociace se SNP rs7919656v regionu WDFY4 (WD repeat- and FYVE domain-containing protein 4) ($p = 1,5 \times 10^{-8}$; OR = 3,87; 95% CI, 2,23–6,55) (obrázek 3.3.1.).

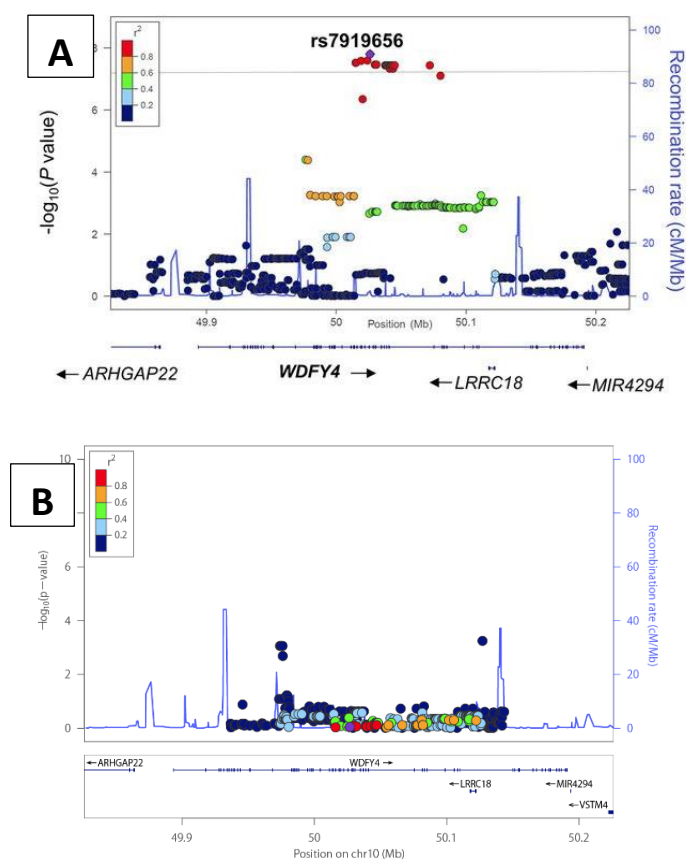
Obrázek 3.3.1.: Manhattanský graf znázorňující výsledky genomové asociační studie japonských nemocných s IZM.



Použité zkratky: IZM: idiopatické zánětlivé myopatie, PM: polymyozitida, DM: dermatomyozitida, CADM: klinicky amyopatická dermatomyozitida. Červená úsečka odděluje úroveň statistické významnosti $p=5 \times 10^{-8}$.

V kontrolní skupině 21 evropských nemocných s CADM nebyla asociace s rs7919656 prokázána, ale byl patrný trend pro sousední varianty (rs11101462, $p=0,0092$ a rs2889697, $p=0,0058$) (Obrázek 3.3.2.). Produktem rs7919656 je zkrácená isoforma tr-WDFY4, která je v buňkách kolokalizována s MDA5. Funkční analýzy ukazují, že obě isoformy WDFY4 posilují NF- κ B signalizaci Toll like receptorech 3,4,9 a receptoru MDA5. Nejsilnější interakce byla zjištěna mezi tr-WDFY4 a MDA5.

Obrázek 3.3.2.: Asociační graf oblasti WDFY4 lokalizované na chromozomu 10 u japonských (A) a evropských (B) nemocných s CADM.



Závěr: První genomová asociační studie provedená u japonských nemocných s IZM překvapivě nepotvrdila zvýšené riziko spojené s polymorfismy genů hlavního histokompatibilního komplexu. U nemocných s CADM byla zjištěna asociace se SNP kódujícím zkrácenou isoformu tr-WDFY4, která posiluje signalizaci různých PRR včetně MDA5.

Tato práce byla publikována v časopise Annals of Rheumatic Diseases (IF: 14,299) a její originální znění je přiloženo jako příloha č. 3.

Imunitní a neimunitní patogenetické mechanismy

3.4. Sérové hladiny aktivačního faktoru B lymfocytů (BAFF) korelují s titrem anti-Jo-1 protilátek a s aktivitou onemocnění u pacientů s polymyozitidou a dermatomyozitidou s pozitivitou anti-Jo-1 protilátek.

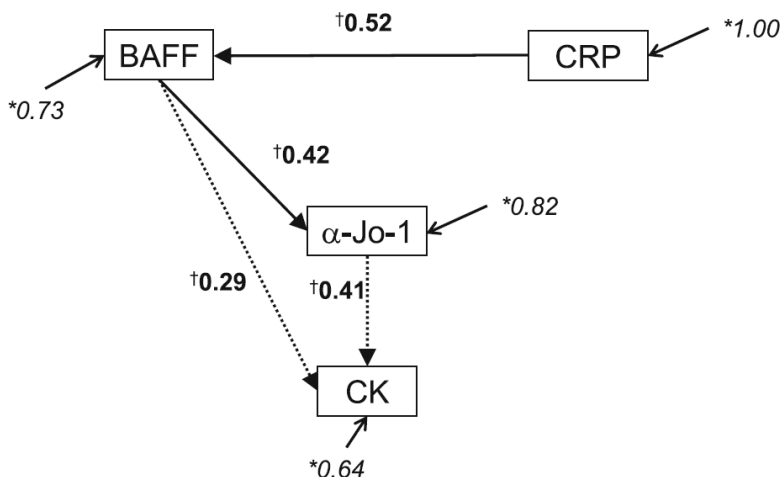
Úvod: Aktivační faktor B lymfocytů (BAFF) je ligand ze superrodiny tumor nekrotizujících faktorů, který stimuluje proliferaci a přežívání B lymfocytů. BAFF hraje roli v patogenezi autoimunitních onemocnění a ovlivňuje tvorbu autoprotilátek. Anti-Jo-1 protilátky jsou zaměřené proti histidyl-tRNA syntetáze a klinicky jsou asociované s tzv. antisyntetázovým syndromem. Onemocnění probíhá většinou jako polymyozitida (PM), u části nemocných i jako dermatomyozitida (DM). Klinicky významné a někdy dominující jsou u nemocných s pozitivitou anti-Jo-1 extramuskulární projevy, především intersticiální plicní postižení a periferní artritida. Artritida a plicní postižení mohou být spojené s elevací C-reaktivního proteinu (CRP), který jinak u nemocných s myozitidou zvýšený nebývá. Bylo prokázáno, že titry anti-Jo-1 protilátek korelují s aktivitou onemocnění. V minulosti jsme zjistili zvýšené sérové hladiny BAFF u nemocných s myozitidou s pozitivitou anti-Jo-1 protilátek a jejich korelaci s aktivitou onemocnění.

Cíle: Cílem práce bylo na základě statistické analýzy průřezových a longitudinálních měření posoudit vzájemné vztahy mezi sérovými koncentracemi BAFF, titry anti-Jo-1 protilátek a parametry aktivity onemocnění.

Metodika: V kohortě 63 pacientů (41 s PM a 22 s DM) s pozitivitou anti-Jo-1 protilátek byly pomocí metody ELISA změřeny sérové hladiny BAFF a anti-Jo-1 protilátek. 48 nemocných (76 %) mělo intersticiální plicní postižení prokázané pomocí zobrazovacích metod nebo funkčního vyšetření. V kontrolní skupině bylo zařazeno 41 věkem a pohlavím odpovídajících zdravých dobrovolníků bez zánětlivého onemocnění. Aktivita PM a DM byla hodnocena na základě hladin laboratorních ukazatelů poškození svalů [myoglobin, kreatinkináza (CK), aminotransferázy (AST, ALT)], C-reaktivního proteinu (CRP) a pomocí nástroje MDAAT (Myositis Disease Activity Assessment Tool). U části nemocných byla k dispozici longitudinální data ze dvou (46 nemocných) nebo 3-5 (23 nemocných) různých časů. Vzájemné vztahy mezi BAFF, anti-Jo-1, aktivitou onemocnění a hodnotami CRP včetně změn při longitudinálním sledování byly analyzovány pomocí korelační analýzy, mnohočetné regresní analýzy (MR), metody dráhových koeficientů (path analysis, PA) a hierarchických lineárních modelů (HLM).

Výsledky: Nemocní s PM a DM měli ve srovnání se zdravými kontrolami významně vyšší hladiny BAFF [1,8 (0,3-20,9) ng/ml versus 0,8 (0,4-2,0) ng/ml; $p < 0,0001$]. Analýza průřezových dat prokázala významnou korelaci mezi hladinami BAFF a anti-Jo-1 jak pro celou kohortu nemocných ($r=0,42$; $p=0,0006$), tak pro podskupiny PM, DM a nemocné s nebo bez plicního postižení. Sérové hodnoty BAFF a anti-Jo-1 významně korelovaly s laboratorními svalovými ukazateli, s hodnotou CRP a u nemocných s DM i s kožní aktivitou. PA prokázala přímý vliv anti-Jo-1 na hladiny kreatinkinázy ($\beta = 0,41$) a zároveň přímý ($\beta = 0,42$) i nepřímý vliv (prostřednictvím anti-Jo-1 protilátek, $\beta = 0,17$) hladin BAFF na hladiny kreatinkinázy (Obrázek 3.4.1).

Obrázek 3.4.1. Schematické znázornění vzájemných vztahů mezi hladinami CRP, BAFF, anti-Jo-1 protilátek a CK podle modelu na základě analýzy metodou PA. Zobrazeny jsou statisticky signifikantní †path koeficienty a *residuální rozptyly. Šipky ukazují směr vlivů jednotlivých proměnných, které naznačují možnou kauzální souvislost



$$\chi^2=1,24; df=2; RMSEA=0.000; CFI=1.0; PNFI=0.328$$

Použité zkratky: CFI: comparative fit index, PNFI: parsimony normed fit index, RMSEA: root mean square error of approximation

Změny BAFF a anti-Jo-1 v čase mezi dvěma odběry byly spojené se změnami myoglobinu a aminotransferáz a změny BAFF korelovaly se změnami CK a změnami celkové, svalové, kožní a skeletální aktivity onemocnění. Při longitudinálním sledování došlo u 40 nemocných (17,5 %) k vymizení anti-Jo-1 protilátek, což bylo spojeno s významným poklesem BAFF (ze 1,9 na 0,7 ng/ml; $p=0,02$) a se snížením aktivity onemocnění. Hladiny BAFF se v průběhu času měnily

výrazněji než titry anti-Jo-1 protilátek. Model HLM přisoudil 79% rozptylu hodnot anti-Jo-1 titrů změnám BAFF, opačný kauzální vztah prokázán nebyl.

Závěr: Tyto výsledky potvrzující asociaci mezi hladinami BAFF a titry anti-Jo-1 protilátek svědčí pro roli BAFF při tvorbě autoprotilátek. Navíc modelované vztahy jednotlivých proměnných u těchto nemocných naznačují nejen možnou roli CRP jako biomarkeru aktivity onemocnění, ale i jeho zapojení v patogenezi onemocnění.

*Tato práce byla publikována v časopise **Arthritis Research and Therapy (IF: 4,121)** a její originální znění je přiloženo jako příloha č. 4.*

3.5. Zvýšené sérové hladiny visfatinu jsou asociované s vyšší aktivitou onemocnění u nemocných s myozitidou s pozitivitou anti-Jo-1 protilátek

Úvod: Visfatin je cytokin, který je přítomný ve všech tkáních, ale vzhledem ke zvýšené expresi v tukových buňkách a prokázané roli v regulaci energetického metabolismu bývá obvykle řazen mezi adipocytokiny. Visfatin má také prozánětlivé a imunomodulační účinky, pro svůj stimulační vliv na vyžrávání časných stádií B lymfocytů bývá označován jako pre-B cell colony-enhancing factor. U nemocných s řadou chronických zánětlivých a autoimunitních onemocnění byly prokázány zvýšené sérové koncentrace visfatinu. U nemocných s revmatoidní artritidou korelují hladiny visfatinu s klinickou aktivitou a zároveň byla prokázána zvýšená tvorba visfatinu v buňkách kloubu a v periartikulární tukové tkáni. O možné roli visfatinu v patogenezi idiopatických zánětlivých myopatií (IZM) není dosud nic známo. Aktivační faktor B lymfocytů (BAFF) stimuluje proliferaci a přežívání B lymfocytů. V minulosti jsme prokázali, že zvýšené sérové hladiny BAFF u nemocných s IZM s pozitivitou anti-Jo-1 protilátek korelují pozitivně s aktivitou onemocnění.

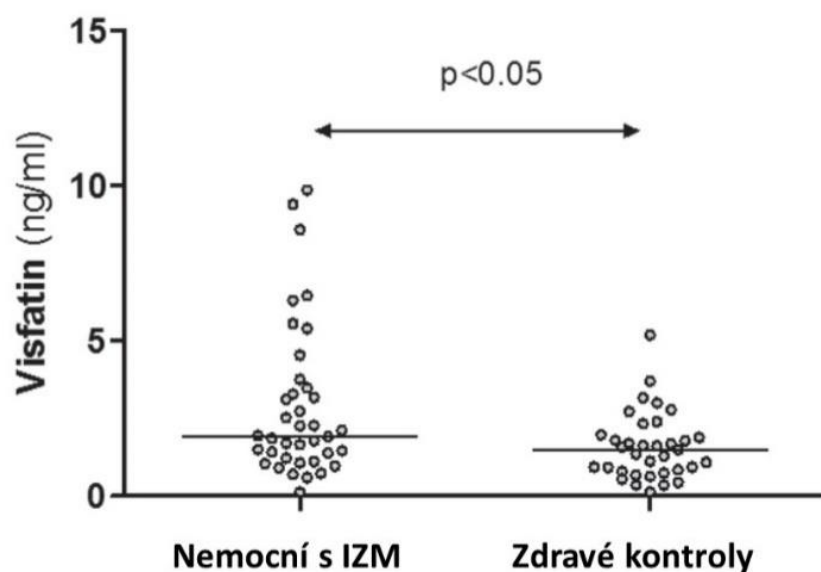
Cíle: Cílem práce bylo zjistit, zda jsou sérové hladiny visfatinu u nemocných s IZM s pozitivitou anti-Jo-1 protilátek zvýšené ve srovnání se zdravými kontrolami a jaký je jejich vztah k hodnotám BAFF, titru anti-Jo-1 protilátek a ke klinické aktivitě. Dále jsme porovnávali expresi visfatinu ve svalových biopsiích nemocných s IZM a kontrolních osob.

Metodika: V kohortě 38 nemocných s IZM s pozitivitou anti-Jo-1 protilátek a u 35 zdravých osob v kontrolní skupině byly změřeny sérové hladiny visfatinu a BAFF pomocí metody ELISA. Aktivita IZM byla hodnocena pomocí nástroje MYOACT (Myositis Disease Activity Assessment Tool) a pomocí laboratorních svalových markerů. Expres visfatinu ve svalové tkáni byla vyšetřena

imunohistochemicky u deseti nemocných s IZM a v pěti kontrolních vzorcích od nemocných s myastenii gravis.

Výsledky: Sérové hladiny visfatinu byly u pacientů s IZM významně vyšší než u zdravých osob [1,94 (0,13–9,86) versus 1,51 (0,14–5,20) ng/ml; $p < 0,05$] (Obrázek 3.5.1.). Sérové koncentrace visfatinu se významně nelišily u nemocných s poly- nebo dermatomyozitidou [1,96 (0,71–9,86) versus 1,91 (0,13–9,41) ng/ml; $p = 0,89$] ani v závislosti na pohlaví [1,73 (0,13–6,48) ng/ml u mužů versus 2,28 (0,6–9,86) ng/ml u žen; $p = 0,23$].

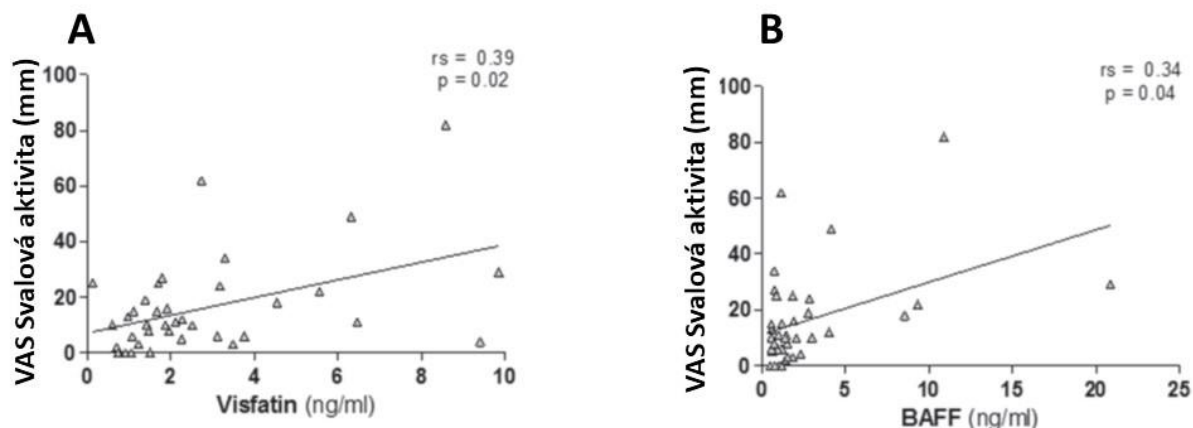
Obrázek 3.5.1. Sérové koncentrace visfatinu u nemocných s IZM a u zdravých kontrol



Použité zkratky: IZM: idiopatické zánětlivé myopatie

Hladiny visfatinu u nemocných s IZM korelovaly pozitivně s hodnotami BAFF ($r = 0,44$; $p = 0,01$). Hladiny visfatinu i BAFF korelovaly s aktivitou svalového poškození (Obrázek 3.5.2) a byl patrný trend i s celkovou aktivitou onemocnění ($r = 0,28$; $p = 0,09$ pro visfatin a $r = 0,33$; $p = 0,05$ pro BAFF). Sérové koncentrace BAFF významně korelovaly s hodnotami svalových markerů (kreatinkinázy a myoglobin) i s titrem a anti-Jo-1 protilátek. Naproti tomu hladiny visfatinu korelovaly pouze středně významně s hodnotami laktát dehydrogenázy. Ve svalových biopsiích byla u nemocných s IZM ve srovnání s kontrolními biopsickými vzorky patrná zvýšená exprese visfatinu především v místech endomyziálních a perimyziálních zánětlivých infiltrátů.

Obrázek 3.5.2. Hladiny visfatinu (A) i BAFF (B) korelují s aktivitou svalového postižení.



Použité zkratky: BAFF: Aktivační faktor B lymfocytů, VAS: vizuální analogová škála

Závěr: Zvýšená exprese visfatinu ve svalové tkáni nemocných s IZM s pozitivitou anti-Jo-1 protilátek a prokázaná asociace zvýšených sérových koncentrací visfatinu se svalovou aktivitou onemocnění svědčí pro jeho možnou roli v patogenezi.

Tato práce byla publikována v časopise Clinical and Experimental Rheumatology (IF: 3,410) a její originální znění je přiloženo jako příloha č. 5.

3.6. Interleukin-35 u idiopatických zánětlivých myopatií

Úvod: Interleukin-35 (IL-35) je heterodimerický cytokin z rodiny IL-12, který se skládá ze dvou podjednotek p35 (IL-12a) a EB13 (IL-27b) vzájemně spojených disulfidovou vazbou. U myši je IL-35 konstitutivně exprimován T a B lymfocyty, ale v lidských tkáních dochází k jeho expresi až po stimulaci zánětem. Obecně je IL-35 považován za protizánětlivý cytokin, ovšem v patogenezi autoimunitních revmatických onemocnění je jeho role komplexnější. U nemocných s revmatoidní artritidou (RA) jsme v minulosti prokázali zvýšené sérové hladiny IL-35 ve srovnání s nemocnými s osteoartrózou, u dosud neléčených nemocných s RA došlo po nasazení léčby k poklesu IL-35. Zvýšené sérové koncentrace IL-35 byly také prokázány u nemocných s psoriatickou artritidou a se sklerodermií (SSc). Na druhou stranu u nemocných se aktivním systémovým lupusem erytematodes (SLE) byla sérová hladina IL-35 nižší než u nemocných s inaktivním onemocněním. Zvýšená exprese IL-35 v synoviální tkáni nemocných s RA svědčí pro lokální tvorbu tohoto cytokinu v místě zánětu. V kohortě 104 čínských nemocných s idiopatickými zánětlivými myopatiemi (IZM) byly

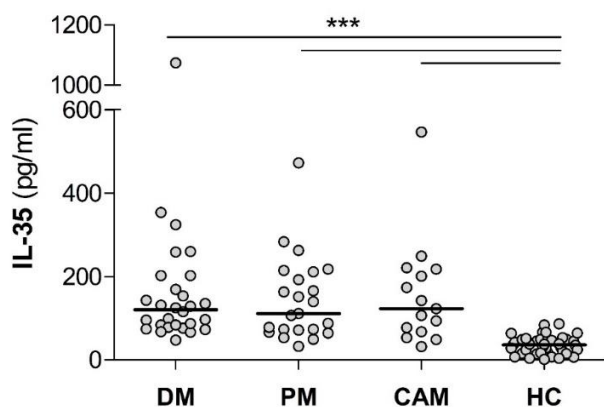
sérové hladiny IL-35 vyšší než u nemocných s RA, SLE, SSc a se Sjögrenovým syndromem. Zatím nebyly publikovány žádné práce zkoumající místo produkce IL-35 u nemocných s IZM.

Cíle: Cílem této práce bylo zjistit, zda jsou sérové hladiny IL-35 u nemocných s IZM zvýšené a zda je IL-35 exprimován lokálně ve svalové tkáni.

Metodika: V biotických vzorcích svalů získaných od 9 nemocných s IZM a od 7 pacientů s jinými chorobami jsme zjišťovali expresi obou podjednotek IL-35. Ve skupině 66 nemocných s IZM [23 s polymyozitidou (PM), 28 s dermatomyozitidou (DM), 15 s paraneoplastickou myozitidou (CAM)] byly pomocí metody ELISA změřeny koncentrace IL-35 a porovnány s výsledky 40 zdravých osob. Sérové koncentrace IL-35 byly dále korelovány s aktivitou onemocnění hodnocenou pomocí laboratorních parametrů a pomocí vizuálních analogových škál nástroje MYOACT (myositis disease activity assessment tool) a s trváním léčby.

Výsledky: Prokázali jsme, že obě podjednotky IL-35 jsou exprimovány v buňkách zánětlivého infiltrátu u nemocných s PM a DM a nejsou prokazatelné v kontrolních svalových biopsiích. Naměřené sérové hladiny IL-35 byly u nemocných s IZM významně vyšší než u zdravých kontrol [119,5 (32,1-1074,5) versus 36,2 (1,5-86,5) pg/ml, $p < 0,001$] (Obrázek 3.6.1.).

Obrázek 3.6.1.: Sérové koncentrace IL-35 U nemocných s IZM a u zdravých kontrol.

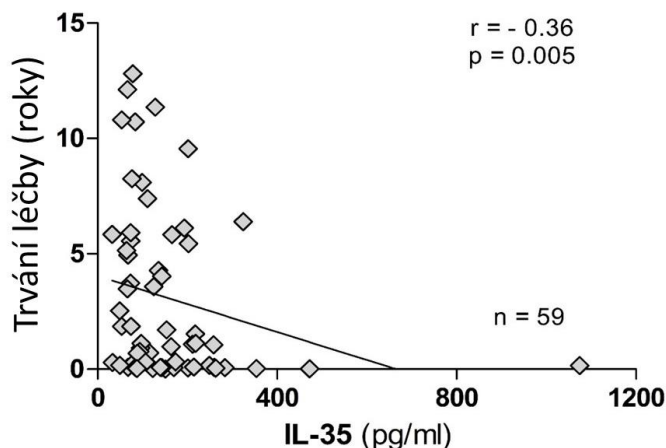


Použité zkratky: CAM: paraneoplastická myozitida, DM: dermatomyozitida, HC: zdravé kontroly, PM: polymyozitida. * $p < 0,001$ pro všechny podskupiny versus zdravé kontroly.

Sérové hladiny IL-35 korelovaly pozitivně s celkovou aktivitou onemocnění hodnocenou pomocí skóre MYOACT ($r=0,26$, $p=0,036$), v podskupině 30 nemocných s intersticiálním plicním postižením korelovaly sérové koncentrace IL-35 s aktivitou plicního procesu ($r=0,39$, $p=0,037$). U

26 nemocných (39 % z celkového počtu), kteří byli léčeni po dobu kratší než 3 měsíce, byly hladiny IL-35 významně vyšší než u déle léčených nemocných. Zjistili jsme významnou negativní korelaci mezi sérovými hladinami IL-35 a trváním léčby ($r=-0,36$, $p=0,005$) (Obrázek 3.6.2.)

Obrázek 3.6.2.: Vztah sérových hladin IL-35 s trváním léčby IZM



Závěr: U nemocných s IZM je IL-35 je zvýšeně exprimován v zánětlivých infiltrátech a sérové hladiny IL-35 jsou vyšší než u zdravých kontrol. Sérové hladiny korelují pozitivně s některými parametry aktivity IZM a negativně s délkou léčby. Naše výsledky svědčí pro možnou prozánětlivou roli lokálně tvořeného IL-35 u nemocných s IZM.

Tato práce je v recenzním řízení v časopise Cytokine (IF: 3,078) a její originální znění je přiloženo jako příloha č. 6.

3.7. Zvýšené sérové koncentrace S100A4 proteinu u nemocných s idiopatickými zánětlivými myopatiemi jsou asociovány s klinickou aktivitou, a ne s přítomností malignity.

Úvod: Rodina S100 proteinů zahrnuje 25 polypeptidů s nízkou molekulární hmotností (10-12kDa), které se podílejí na řadě intra a extracelulárních regulačních procesů. Dosud nejlépe prozkoumaný je protein S100A4, který byl pro svou roli při šíření maligních nádorů popsán také jako metastazin. U řady maligních nádorů byla popsána korelace mezi expresí S100A4 a prognózou pacienta. S100A4 je zvýšeně exprimován také při řadě nenádorových autoimunitních onemocnění, v minulosti jsme prokázali zvýšenou expresi S100A4 v zánětlivých infiltrátech ve svalech u nemocných s idiopatickými zánětlivými myopatiemi (IZM). IZM jsou obecně spojené se zvýšeným rizikem nádorových onemocnění a u části nemocných je onemocnění samotné považováno za

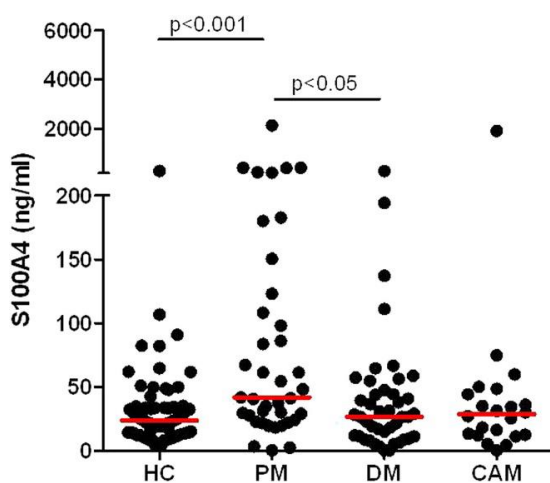
paraneoplastický projev, nabízí se proto otázka zda je u nemocných s IZM zvýšená tvorba proteinu S100A4 spojena s aktivitou onemocnění nebo s přítomností nádorového onemocnění.

Cíle: Cílem této práce bylo porovnat sérové hladiny S100A4 u pacientů s IZM a u zdravých kontrol a zhodnotit možný jejich možný vztah s aktivitou onemocnění a s přítomností maligního onemocnění.

Metodika: Ve skupině 104 pacientů s IZM [43 s dermatomyozitidou (DM), 39 s polymyozitidou (PM) a 22 s paraneoplastickou myozitidou (CAM)] a 77 zdravých kontrol byly pomocí metody ELISA změřeny sérové hladiny S100A4 proteinu. Porovnávali jsme sérové hladiny mezi nemocnými celkově a jednotlivými podskupinami IZM s výsledky zdravých jedinců. Vyhodnocovali jsme vztah sérových koncentrací S100A4 s přítomností autoprotilátek, aktivitou IZM, se svalovou silou nemocných a s přítomností maligních nádorů.

Výsledky: U pacientů s myozitidou jsme naměřili významně zvýšené hladiny S100A4 proteinu v porovnání se zdravými kontrolami [31,5 (17,4 – 59,5) versus 23,8 (14,5 - 33,7) ng/ml, $p < 0,05$]. U nemocných s PM byly hladiny S100A4 významně vyšší než u nemocných s DM a u zdravých kontrol [(41,6 (24,2 – 123,1) ng/ml versus 26,7 (11,3 – 47,5) ng/ml; $p < 0,05$ a versus 23,8 (14,5 – 33,7) ng/ml; $p < 0,001$). Sérové koncentrace S100A4 u nemocných s CAM byly srovnatelné s nemocnými bez maligního onemocnění (Obrázek 3.7.1.).

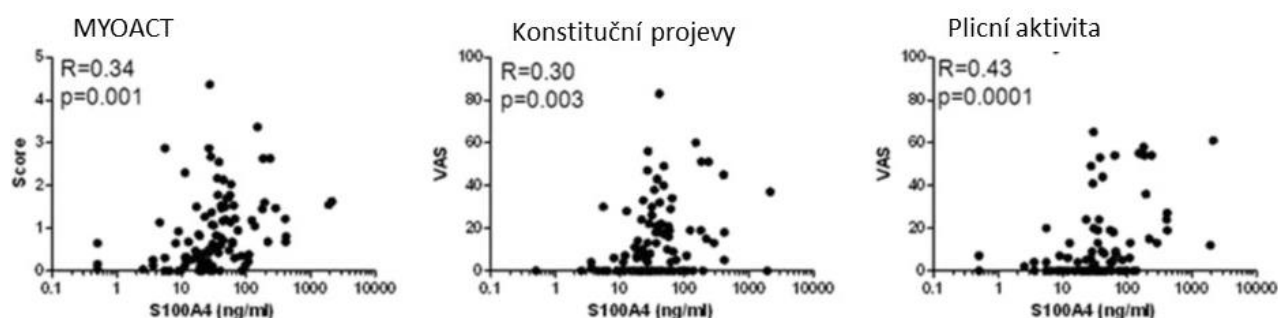
Obrázek 3.7.1. Sérové hladiny S100A4 u nemocných s polymyozitidou, dermatomyozitidou, paraneoplastickou myozitidou a u zdravých kontrol.



Použité zkratky: CAM: paraneoplastická myozitida, DM: dermatomyozitida, HC: zdravé kontroly, PM: polymyozitida

Nemocní s pozitivitou protilátek anti-TIF1 asociovaných se zvýšeným rizikem rozvoje malignit (n=17) měli statisticky významně nižší sérové koncentrace S100A4 než nemocní s IZM bez těchto protilátek (n=87) [17,1 (11,3 - 25,1) versus 36,6 (21,8 – 66,7) ng/ml, p = 0,001]. Sérové koncentrace S100A4 pozitivně korelovaly s řadou laboratorních a klinických parametrů aktivity onemocnění, především s extramuskulárními doménami skóre MYOACT (Obrázek 3.7.2.). Nezjistili jsme vztah mezi hladinami S100A4 s aktivitou svalového postižení nebo s výsledkem svalového testu.

Obrázek 3.7.2. Korelace hladin S100A4 s extramuskulární aktivitou IZM.



Závěr: Neprokázali jsme zvýšené sérové koncentrace S100A4 u nemocných s paraneoplastickou myozitidou ani u nemocných s přítomností protilátek anti-TIF1 asociovaných s rizikem malignity. Zvýšené hladiny S100A4 u nemocných s IZM korelují s extramuskulární aktivitou onemocnění.

*Tato práce byla publikována v časopise *Arthritis Research and Therapy* (IF: 3,753) a její originální znění je přiloženo jako příloha č. 7.*

3.8. Zvýšení prozánětlivého proteinu S100A11 u nemocných s idiopatickými zánětlivými myopatiemi je asociováno s aktivitou onemocnění a s extramuskulárními projevy.

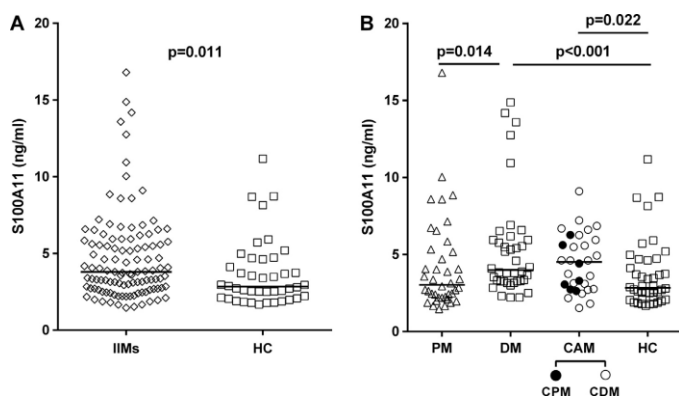
Úvod: S100A11 (calgizzarin) byl poprvé izolován v roce 1991 z hladké svaloviny zažívacího traktu kuřat. Zvýšená exprese S100A11 byla prokázána v lidských nádorových tkáních a předpokládá se, že tento protein hraje roli v regulaci onkogeneze. S100A11 ovlivňuje aktivitu enzymů, endo- a exocytózu, buněčnou proliferaci, apoptózu a diferenciaci. V poslední době přibývá důkazů o vztahu S100A11 k zánětlivým onemocněním. U nemocných s revmatoidní artritidou dochází k akumulaci S100A11 v synovii a v synoviální tekutině a byla prokázána asociace s aktivitou onemocnění. O možném významu S100A11 v patogenezi idiopatických zánětlivých myopatií (IZM) zatím není nic známo.

Cíle: Cílem této práce bylo analyzovat expresi S100A11 ve svalových biopsiích nemocných s IZM a sérové koncentrace tohoto proteinu u různých podtypů IZM ve vztahu ke klinickým projevům a aktivitě.

Metodika: Pomocí imunohistochemických metod byla zkoumána exprese S100A11 ve svalových biopsiích získaných od jedenácti nemocných s IZM [5 s poly- (PM) a 6 s dermatomyozitidou (DM)], od pěti nemocných s myastenii gravis a od pěti zdravých kontrol. V kohortě 110 nemocných s IZM a u 42 zdravých kontrolních osob byly vyšetřeny plazmatické hladiny S100A11. Aktivita IZM byla posuzována pomocí vyšetření svalových enzymů, C-reaktivního proteinu a nástroje MYOACT (myositis disease activity assessment tool).

Výsledky: U nemocných s IZM jsme prokázali nahromadění S100A11 v cytoplasmě regenerujících a nekrotických svalových vláken. U nemocných s DM byl S100A11 přítomen především ve svalových vlákních obklopujících cévy, zatímco u nemocných s PM byla zvýšená exprese ve vlákních lokalizovaných v blízkosti zánětlivých infiltrátů. Plazmatické koncentrace S100A11 byly u nemocných s IZM významně vyšší než u zdravých kontrol [3,8 (1,5-16,8) versus 2,8 (1,7-11,2) ng/ml, $p = 0,011$]. Také rozdíl koncentrací S100A11 mezi nemocnými s dermatomyozitidou a paraneoplastickou myozitidou ve srovnání se zdravými kontrolami byl statisticky významný [4,0 (2,2-14,9) pro DM a 4,5 (1,5-9,1) versus 2,8 (1,7-11,2) ng/ml, $p < 0,001$ a $p = 0,022$] (Obrázek 3.8.1.).

Obrázek 3.8.1. Srovnání plazmatických koncentrací S100A11 nemocných s IZM celkově (A) a v jednotlivých podskupinách (B) se zdravými kontrolami.



Použité zkratky: CAM: paraneoplastická myozitida, CDM: klinicky dermatomyozitida, CPM: klinicky polymyozitida, DM: dermatomyozitida, HC: zdravé kontroly, IIM: idiopatické zánětlivé myopatie, PM: polymyozitida.

V celé kohortě nemocných s IZM korelovaly plazmatické koncentrace S100A11 s hodnotami laktát dehydrogenázy ($r=0,256$, $p=0,011$), aspartát aminotransferázy (AST) ($r=0,312$, $p=0,002$), C-reaktivního proteinu ($r=0,254$, $p=0,022$) a s celkovým skóre MYOACT ($r=0,245$, $p=0,022$). U nemocných s DM byla zjištěna korelace se skóre MYOACT ($r=0,377$, $p=0,030$) a s plicní ($r=0,408$, $p=0,017$) a kožní aktivitou ($r=0,417$, $p=0,01$). U nemocných s PM korelovaly hodnoty S100A11 s AST ($r=0,412$, $p=0,027$) a u nemocných s CAM s kreatinkinázou ($r=0,432$, $p=0,028$) (Tabulka 3.8.1.).

Tabulka 3.8.1. Asociace koncentrací S100A11 s klinickou a laboratorní aktivitou.

Čísla v tabulce jsou hodnoty Spearmanova koeficientu pořadové korelace ρ (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$)

		IZM celkově	DM	PM	CAM
Kreatinkináza		0,167	0,333*	0,174	0,432*
Celkové skóre MYOACT		0,245*	0,377*	0,258	0,104
Aktivita	Svalová	0.153	0.141	0.089	0.172
	Konstituční	0,120	-0,024	0,241	0,231
	Kožní	0,309**	0,417*	0,273	0,295
	Gastrointestinální	0,132	0,334*	0,065	-0,102
	Plicní	0,091	0,408*	0,018	0,064
	Kardiovaskulární	-0,210*	0,089	-0,257	-0,188
	Skeletální	-0,150	-0,154	0,067	-0,353

Použité zkratky: CAM: paraneoplastická myozitida, DM: dermatomyozitida, IZM: idiopatické zánětlivé myopatie, MYOACT: myositis disease activity assessment tool, PM: polymyozitida.

Závěr: Korelace zvýšených plazmatických hladin S100A11s některými parametry aktivity onemocnění potvrzuje roli tohoto proteinu v patogenezi IZM. Skutečnost, že k akumulaci proteinu S100A11 u nemocných s IZM dochází především v regenerujících a nekrotických svalových vláknech svědčí pro možnou roli v remodelaci svalové tkáně.

Tato práce byla publikována v časopise Cytokine (IF: 3,078) a její originální znění je přiloženo jako příloha č. 8.

3.9. Změny regulačního systému aktivin A-myostatin-folistatin u nemocných s IZM

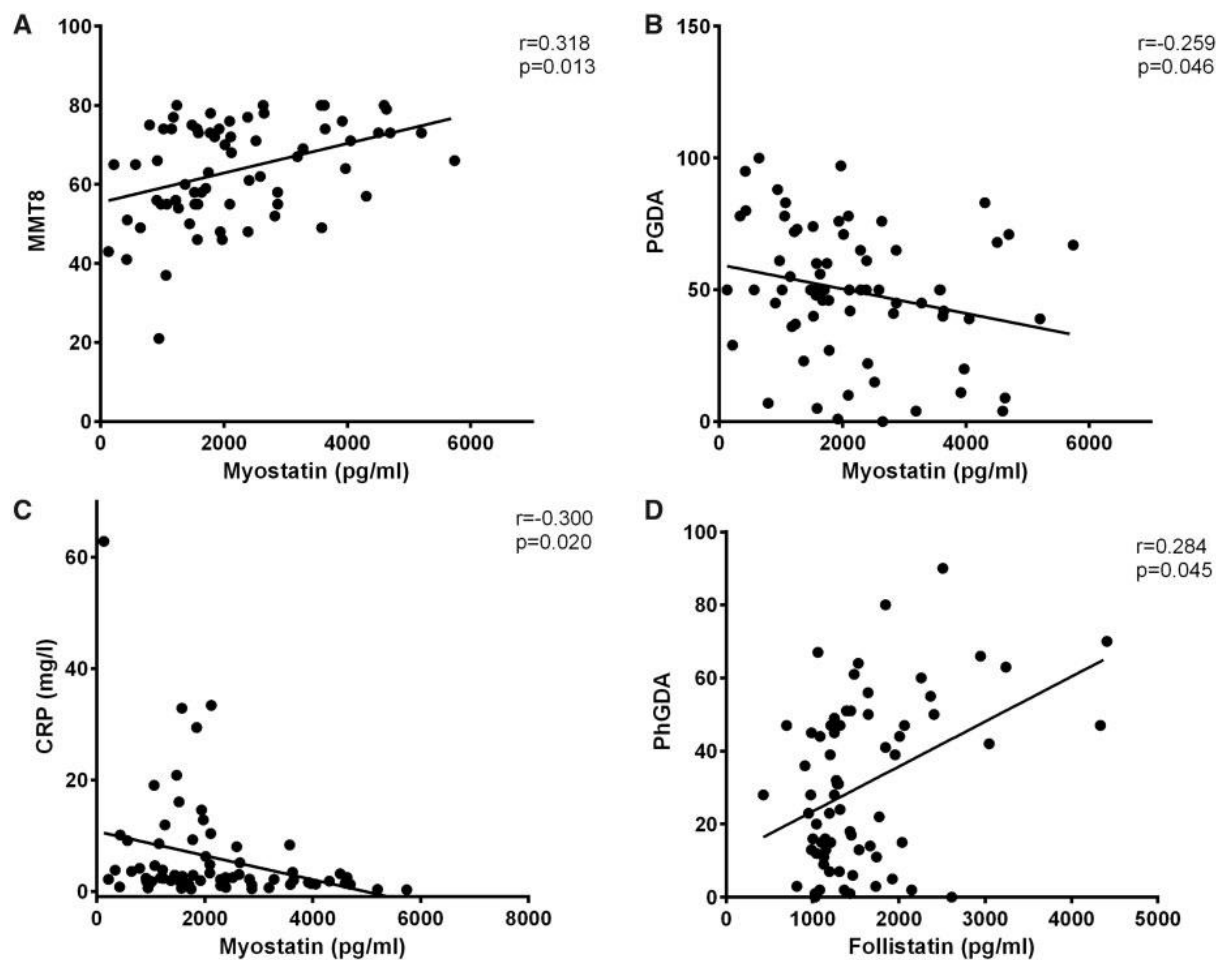
Úvod: Myostatin je protein, který má silné negativní regulační účinky na růst příčně pruhovaných svalů. Za fyziologických podmínek myostatin aktivuje vazbou na komplex aktivinových receptorů signalizační kaskádu TGF- β vedoucí prostřednictvím fosforylace proteinů SMAD2/3 k downregulaci genů asociovaných s diferenciací svalů a tím brání rozvoji aktivinem indukované hypertrofie svalů. Ve zvířecích modelech vede blokování signalizační dráhy myostatinu k hypertrofii svalstva, zatímco jeho zvýšená exprese nebo podávání způsobují atrofii svalů. Folistatin brání vazbě aktivinu i myostatinu na receptory a tím antagonizuje jejich účinek. Podle posledních výzkumů se při regulaci růstu, vývoje a stárnutí svalů uplatňuje nejen samotný myostatin, ale celý regulační systém aktivin A-myostatin-folistatin. Ovlivnění signalizační dráhy myostatinu je zvažováno jako možný terapeutický cíl pro léčbu svalové atrofie a v současné době je již k dispozici monoklonální protilátka proti aktivinovým receptorům typu II- bimagrumab. Význam signalizační dráhy aktivin A-myostatin-folistatin u nemocných s IZM je stále nejasný.

Cíle: Cílem této práce bylo prozkoumat celkové a lokální změny v hladinách myokinů asociovaných s atrofií u nemocných s IZM a zjistit jejich vztah k aktivitě onemocnění.

Metodika: Celkem bylo do této studie zařazeno 94 nemocných s IZM a 162 zdravých osob, 20 nemocných s IZM a 28 zdravých dobrovolníků podstoupilo svalovou biopsii. Sérové koncentrace myostatinu, folistatinu, aktivinu A a TGF- β 1 byly změřeny pomocí metody ELISA. Lokální exprese myokinů zapojených v signalizační dráze myostatinu a s nimi asociovaných genů byla vyšetřena pomocí metody real-time PCR.

Výsledky: U nemocných s IZM jsme ve srovnání se zdravými kontrolami zjistili nižší koncentrace myostatinu (1817 versus 2659 pg/ml; $p = 0,003$) a zvýšené koncentrace folistatinu (1319 versus 1055 pg/ml; $p = 0,028$) i aktivinu A (414 versus 309 pg/ml; $P = 0,0005$). Sérové hladiny myostatinu korelovaly negativně s aktivitou svalového postižení hodnocenou lékařem ($r = -0,289$, $p = 0,015$) a pozitivně s výsledky manuálního svalového testu (MMT8) ($r = 0,366$, $P = 0,002$). Koncentrace folistatinu korelovaly s aktivitou svalového postižení pozitivně ($r = 0,235$, $p = 0,047$)(Obrázek 3.9.1.).

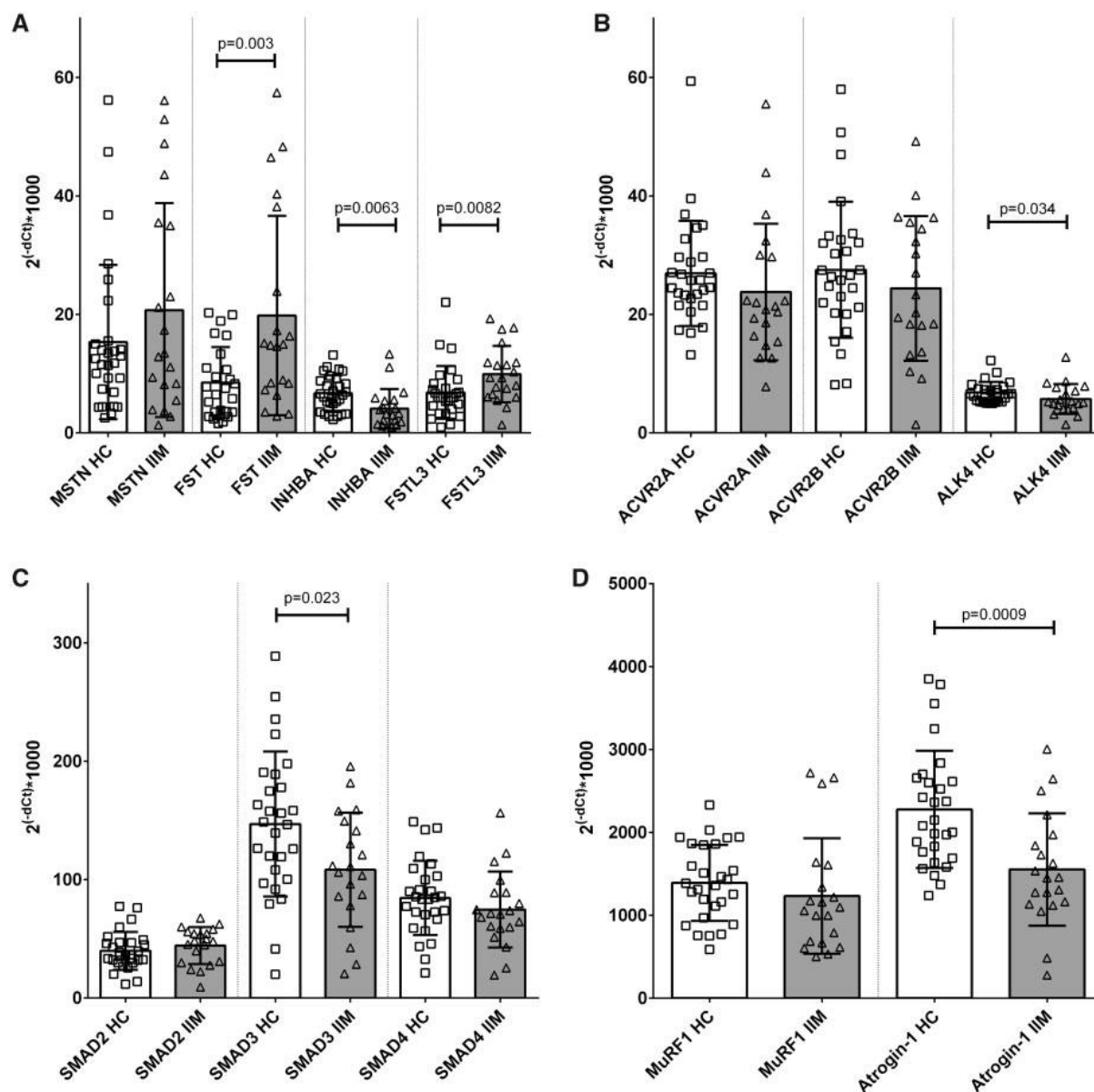
Obrázek 3.9.1. Vztah sérových koncentrací myostatinu (A, B, C) a folistatinu (D) s klinickými parametry IZM.



Použité zkratky: MMT8: manuální svalový test, PGDA: pacientem hodnocená aktivita, PhGDA: lékařem hodnocená aktivita onemocnění.

Analýza genové exprese prokázala ve svalech nemocných s IZM ve srovnání se zdravými kontrolami zvýšenou expresi folistatinu ($p=0,003$) a proteinu FSTL3 (follistatin-like 3 protein) ($p=0,008$), který inhibuje myostatin. Snížena byla exprese receptoru ALK4 (activin receptor type 1B) ($P=0,034$), přenašeče signálu SMAD3 ($p=0,023$) a markeru svalové atrofie atroginu-1 ($p=0,0009$) (Obrázek 3.9.2.).

Obrázek 3.9.2. Genová exprese myokinů (A) a s nimi asociovaných proteinů (B, C, D) ve svalové tkáni nemocných s IZM a zdravých kontrol.



Použité zkratky: HC: zdravé kontroly, IIM: idiopatické zánětlivé myopatie, MSTN: myostatin, FST: follistatin, INHBA: inhibin bA, FSTL3: follistatin-like-3 protein, ACVR2A: aktivinový receptor typu 2A, ACVR2B: aktivinový receptor typu 2B, ALK4: aktivinový receptor typu 1B, SMAD2, 3, 4: hlavní přenašeče signálu pro receptory ze superrodiny TGF- β , MuRF1: E3 ubikvitin ligáza

Závěr: U nemocných s IZM dochází v závislosti na klinické aktivitě onemocnění ke snížení sérových hladin myostatinu a k vzestupu follistatinu. Průkaz upregulace růstových a downregulace

s atrofií spojených molekul svědčí, že se zřejmě jedná o kompenzační změny regulačního systému aktivin A-myostatin-folistatin vyvolané poškozením svalů.

Tato práce byla publikována v časopise Rheumatology (IF: 5,149) a její originální znění je přiloženo jako příloha č. 9.

Terapie

3.10. Abatacept v léčbě dermatomyozitidy a polymyozitidy: výsledky randomizovaného klinického hodnocení fáze IIb

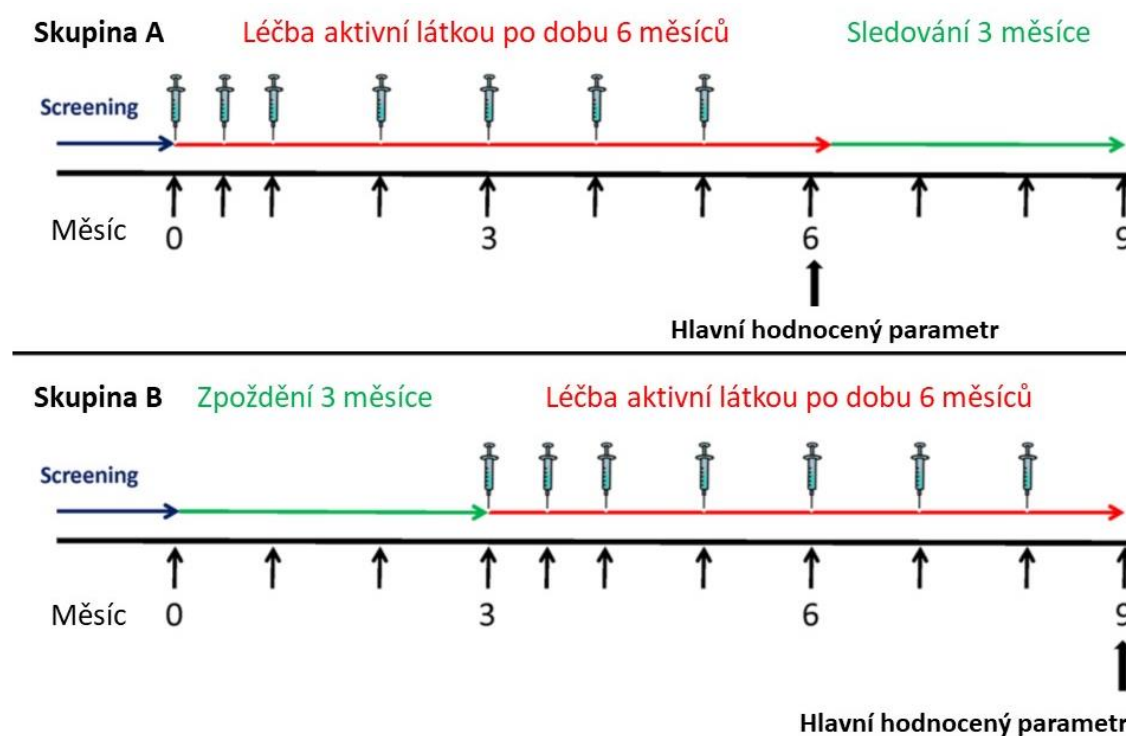
Úvod: Cílená biologická léčba přinesla skutečný převrat v léčbě řady revmatických onemocnění. Ovšem o účinnosti biologik v léčbě idiopatických zánětlivých myopatií (IZM) je zatím k dispozici jen málo informací a většinou se jedná jen o kazuistická sdělení. Vzhledem k tomu, že u řady nemocných současně možnosti farmakoterapie neumožňují dosáhnout uspokojivé léčebné odpovědi, je žádoucí objektivně posoudit účinnost biologických přípravků již registrovaných pro jiná revmatická onemocnění v léčbě IZM. T lymfocyty hrají důležitou roli v patogenezi IZM, proto se ovlivnění jejich funkce jeví jako možný léčebný cíl. Abatacept je plně humánní fúzní protein, který blokuje kostimulační receptory T lymfocytů a tím brání jejich plné aktivaci. V minulosti byla publikována kazuistická sdělení o možné účinnosti abataceptu v léčbě IZM, ale dosud nebylo provedeno žádné randomizované kontrolované klinické hodnocení s tímto přípravkem.

Cíle: Cílem studie ARTEMIS bylo formou pilotního, z iniciativy akademických výzkumníků připraveného, klinického hodnocení fáze IIb posoudit vliv léčby abataceptem na klinickou aktivitu u nemocných s refrakterní polymyozitidou (PM) a dermatomyozitidou (DM). Součástí projektu bylo také sledování změn ve svalových biopsiích.

Metodika: Do klinického hodnocení bylo zařazeno celkem 20 dospělých pacientů s refrakterní IZM (9 s dermato- a 11 s polymyozitidou) ze tří evropských pracovišť. Nedostatečná odpověď na předchozí léčbu byla definována jako přetrvávání klinické aktivity po alespoň tříměsíční léčbě glukokortikoidy a nejméně jedním dalším imunosupresivním přípravkem. Nemocní byli randomizováni v poměru 1:1 do dvou skupin podle plánovaného zahájení léčby intravenózními infuzemi abataceptu. Skupina A byla léčena ihned, u skupiny B byla léčba zahájena s tříměsíčním zpožděním (Obrázek 3.10.1). Z logistických důvodů nebylo nemocným ve skupině B v první fázi sledování podáváno placebo, hodnocení odpovědi na léčbu proto prováděli „zaslepení“ lékaři a fyzioterapeuti, kteří nebyli informováni o léčbě nemocných. Hlavním hodnoceným parametrem byl

počet nemocných, kteří dosáhli léčebné odpovědi definované kritérii skupiny IMACS (International Myositis Assessment and Clinical Studies Group) po šesti měsících léčby. Tato kritéria požadují alespoň 20% zlepšení ve třech ze šesti hodnocených parametrů a zároveň dovolují maximálně 25% zhoršení ve dvou parametrech s výjimkou svalového testu. U šesti pacientů byly provedeny párové svalové biopsie před zahájením a po šesti měsících léčby, které byly vyšetřeny imunohistochemickými metodami na přítomnost buněčných markerů a cytokinů.

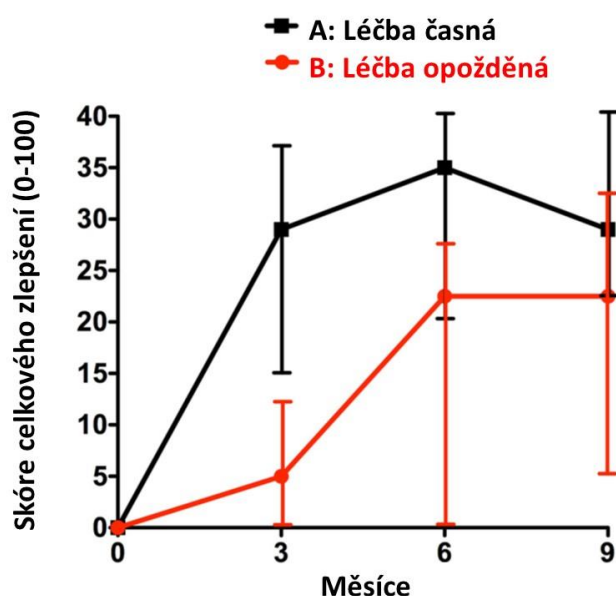
Obrázek 3.10.1. Design klinického hodnocení ARTEMIS



Výsledky: Do obou skupin bylo randomizováno po deseti pacientech. U jednoho nemocného ve skupině B došlo ke zhoršení klinického stavu, a proto byl, v souladu s protokolem klinického hodnocení, přeražen do skupiny A. Celkem 3 nemocní léčbu nedokončili, jeden ve skupině A a dva ve skupině B. Po šesti měsících léčby dosáhlo definovaných kritérií zlepšení 8 z celkem 19 nemocných zařazených do analýzy podle původního léčebného záměru. Po třech měsících sledování došlo ke zlepšení u pěti (50 %) nemocných v léčené skupině A a pouze u jednoho (11 %) v kontrolní skupině B (Obrázek 3.10.2.). Celkem bylo zaznamenáno osm nežádoucích událostí v možném vztahu k podávané studijní léčbě a tři závažné nežádoucí události, všechny bez vztahu ke studijní

léčbě. Jedinou změnou při hodnocení párových svalových biopsií před a po léčbě byl významné zvýšení exprese Foxp3 (Forkhead box protein P3), markeru svědčícího pro nárůst počtu regulačních T lymfocytů.

Obrázek 3.10.2. Mediány skóre celkového zlepšení v obou skupinách.



Závěr: V této pilotní studii bylo prokázáno snížení klinické aktivity u osmi z devatenácti pacientů s refrakterní PM a DM po léčbě abataceptem. Klinické hodnocení ARTEMIS bylo navrženo jako tzv. proof of concept study a zařazené počty nemocných neumožňují výsledky považovat za jednoznačný důkaz účinnosti této léčby. Výsledky nicméně opravňují provedení dalšího klinického hodnocení s tímto přípravkem u většího počtu nemocných s IZM.

*Tato práce byla publikována v časopise *Annals of Rheumatic Diseases* (IF: 14,299) a její originální znění je přiloženo jako příloha č. 10.*

3.11. Vliv léčby abataceptem na populace periferních T a B lymfocytů u nemocných s polymyozitidou a dermatomyozitidou.

Úvod: Klinické hodnocení ARTEMIS popsané výše prokázalo příznivý vliv léčby abataceptem, blokátorem kostimulačních receptorů T lymfocytů, na klinickou aktivitu nemocných s idiopatickými zánětlivými myopatiemi (IZM), kteří byli refrakterní na předchozí léčbu. V rámci studie byly u

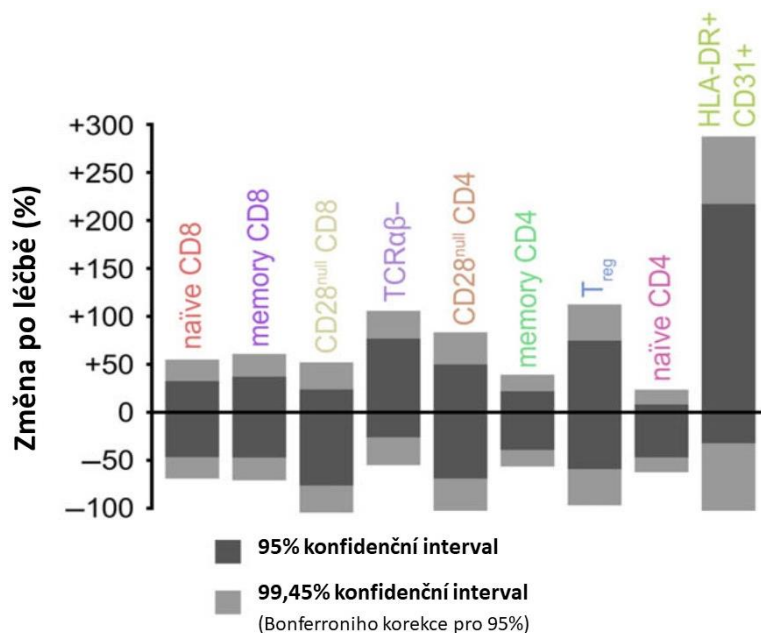
části nemocných odebrány periferní krevní mononukleární buňky (PBMC) před zahájením a po ukončení šestiměsíční léčby přípravkem abataceptem.

Cíle: Cílem této analýzy bylo zjistit vliv léčby abataceptem na populace periferních T a B lymfocytů u nemocných s IZM.

Metodika: Zamražené párové vzorky PBMC odebrané před a po léčbě abataceptem byly k dispozici od celkem 12 nemocných (8 žen a 4 mužů). Pro analýzu byla zvolena metoda hmotnostní cytometrie (CyTOF) kombinující průtokovou cytometrii s hmotnostní spektrometrií, protože umožňuje analýzu imunitních buněk za podmínek blízkých běžnému prostředí v organismu. K vyšetření bylo použito 44 protilátek značených těžkými kovy, z nichž 14 bylo společných pro panel T i B lymfocytů. Analýza T lymfocytárních proteinů byla provedena na párových vzorcích od všech nemocných, analýza B lymfocytárních proteinů byla provedena na párových vzorcích od šesti nemocných a na dalších dvou vzorcích získaných před léčbou a šesti získaných po léčbě.

Výsledky: Analýza T lymfocytů pomocí metody CyTOF prokázala značnou variabilitu jak v čase tak mezi jednotlivými pacienty, takže nebylo možné odhalit změny způsobené léčbou (Obrázek 3.11.1.).

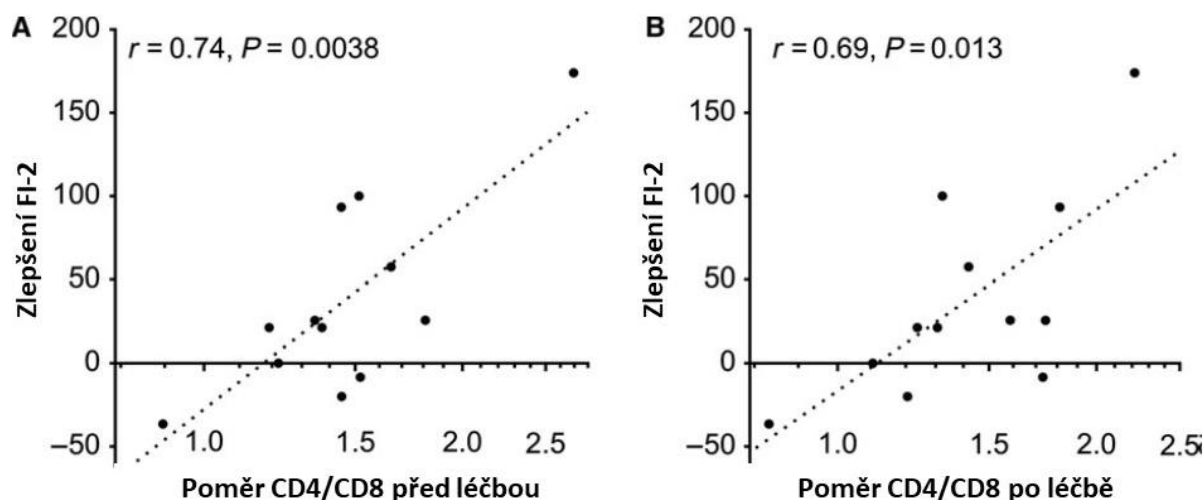
Obrázek 3.11.1 Změny populací periferních T lymfocytů po léčbě abataceptem



Pro vyšetření změn populací B lymfocytů bylo k dispozici relativně málo buněk a ani tato analýza neodhalila jednoznačné změny spojené s léčbou abataceptem. Ukázalo se tedy, že vzhledem

k vysoké variabilitě fenotypů lymfocytů je k průkazu změn spojených s léčbou pomocí metody CyTOF třeba získat vzorky od většího počtu nemocných. Při hodnocení vztahu zastoupení podtypů periferních T lymfocytů k různým parametrům aktivity onemocnění byla prokázána významná korelace mezi poměrem CD4+ ku CD8+ T lymfocytům (CD4/CD8) a zlepšením svalové vytrvalosti hodnocené pomocí funkčního indexu FI-2 před i po léčbě abataceptem (Obrázek 3.11.2.).

Obrázek 3.11.2. Vztah poměru CD4/CD8 a svalové vytrvalosti hodnocené funkčním indexem FI-2 před (A) a po léčbě abataceptem (B).



Závěr: Výsledky této práce ilustrují problémy spojené s výzkumem vzácných a heterogenních onemocnění, u kterých je obtížné získat data z dostatečně velké a homogenní kohorty nemocných. Nicméně vztah poměru CD4/CD8 ke zlepšení svalové vytrvalosti ukazuje, že CD4/CD8 by mohl sloužit jako prediktivní ukazatel účinnosti léčby abataceptem u nemocných s IZM.

Tato práce byla publikována v časopise Scandinavian Journal of Immunology (IF: 2,563) a její originální znění je přiloženo jako příloha č. 11.

4. DISKUSE

Ve své disertační práci se věnuji různým aspektům patogeneze idiopatických zánětlivých myopatií (IZM) a představuji také výsledky klinického hodnocení s přípravkem abatacept. Výzkum IZM je výrazně komplikován skutečností, že se jedná o vzácná a heterogenní onemocnění. Řada projektů proto závisí na mezinárodní spolupráci, bez níž by nebylo možné získat dostatečně velké kohorty pacientů, které jsou nezbytné k dosažení validních výsledků. Heterogenita IZM na základě základních klinických fenotypů onemocnění, mezi které patří především polymyozitida (PM) a dermatomyozitida (DM), je známá již desítky let. V poslední době se ale ukazuje, že i jednotlivé základní fenotypy IZM se liší z hlediska etiopatogeneze, klinických projevů, prognózy a odpovědi na léčbu. Proto je pro účely výzkumu často využíváno možnosti definovat relativně homogenní podskupiny IZM na základě přítomnosti specifických autoprotilátek. Na druhou stranu je v současné době výzkum usnadněn díky rozmachu moderních technologií na poli genetiky a imunologie a v neposlední řadě také zásluhou dostupnosti sofistikovaných statistických metod. Všechny tyto aspekty jsou patrné i na výsledcích zařazených do této disertační práce, které lze podle zkoumané problematiky rozdělit do tří základních okruhů. V prvním jsou tři publikace zabývající se vlivy vnějšího prostředí a genetických rizikových faktorů, do druhého okruhu spadá šest prací zaměřených na poznání patogenetických mechanismů a do posledního jsou zařazeny dvě publikace popisující výsledky léčby inhibitory kostimulačních receptorů T lymfocytů.

Imunitně zprostředkovaná myopatie (IZNM) byla jako samostatná nosologická jednotka rozeznána v roce 2003 (31). Před deseti lety byly u části nemocných s IZNM zjištěny protilátky proti 3-hydroxy-3-metylglutaryl koenzym A reduktáze (anti-HMGCR) a následně se ukázalo, že tento typ myopatie může být indukován léčbou statiny (52). My jsme na základě retrospektivní analýzy výsledků svalových biopsií prokázali stoupající incidenci IZNM, na které se podílí především rostoucí počet nemocných s pozitivitou anti-HMGCR protilátek. IZNM je velmi vzácná komplikace léčby statiny, nicméně si zaslouží pozornost, protože může mít klinicky závažný průběh a zároveň je léčitelná. V rámci pátrání po genetických rizikových faktorech jsme zjistili asociaci dvou genů (HSPA1A a HSPA1B) lokalizovaných v hlavním histokompatibilním komplexu kódujících proteiny teplotního šoku HSP70 s rizikem přítomnosti autoimunitních revmatických chorob. Expres obou genů byla u nemocných s IZM významně zvýšena ve srovnání se zdravými kontrolami, přičemž rozdíl byl výraznější u nemocných s aktivním onemocněním. U nemocných s IZM jsme prokázali zvýšené extracelulární hladiny HSP70. V minulosti byl prokázán imunogenní vliv signalizace

extracelulárně přítomných HSP70 (114). Naše výsledky tedy svědčí pro možný podíl HSP70 na dysregulaci imunitního systému u nemocných s IZM. Genomové asociační studie (GWAS) v minulosti prokázaly u pacientů s IZM evropského původu jednoznačně nejsilnější asociaci s geny hlavního histokompatibilního komplexu (21). Proto bylo překvapením, že výsledky GWAS v kohortě 236 japonských nemocných tuto asociaci nepotvrdily. Na druhou stranu zjištěná asociace klinicky amyopatické dermatomyozitidy (CADM) s jednonukleotidovým polymorfismem (SNP) kódujícím protein tr-WDFY4, který zesiluje signalizaci různých receptorů včetně MDA5 (protein 5 asociovaný s diferenciací melanomu), je z hlediska porozumění mechanismu vzniku CADM s pozitivitou anti-MDA5 protilátek velmi zajímavá. Skutečnost, že u evropských pacientů byly s CADM asociovány jiné SNP by mohla vysvětlit, proč závažná forma onemocnění, která je spojena s často smrtelným rychle progredujícím intersticiálním plicním onemocněním (115), postihuje preferenčně nemocné asijského původu.

Aktivační faktor B lymfocytů (BAFF) je ligand ze superrodiny tumor nekrotizujících faktorů, který stimuluje proliferaci a přežívání B lymfocytů. BAFF hraje roli v patogenezi řady autoimunitních onemocnění a stimuluje tvorbu autoprotilátek (71). V minulosti jsme prokázali zvýšené hladiny BAFF u nemocných s IZM (72). V navazující publikaci zařazené do této disertační práce jsme se zabývali vzájemnými vztahy mezi koncentracemi BAFF, titry anti-Jo-1 protilátek a parametry aktivity onemocnění v kohortě nemocných s IZM a s pozitivitou anti-Jo-1 protilátek. Na základě výsledků statistického modelu založeného na metodě dráhových koeficientů jsme zjistili přímý vliv titrů anti-Jo-1 protilátek na hladiny kreatinkinázy a zároveň přímý i nepřímý, zprostředkovaný anti-Jo-1 protilátkami, vliv hladin BAFF na koncentraci kreatinkinázy. Výsledky použitého modelu navíc naznačují nejen možnou roli C-reaktivního proteinu jako biomarkeru aktivity onemocnění, ale i jeho možné zapojení v patogenezi IZM. U nemocných s pozitivitou anti-Jo-1 protilátek jsme také zjišťovali expresi adipocytokiny visfatinu ve svalové tkáni a ověřovali korelaci sérových hladin visfatinu a BAFF s parametry aktivity onemocnění. Zjistili jsme, že ve svalových biopsiích nemocných s IZM je, ve srovnání s kontrolními biopsiickými vzorky, exprese visfatinu zvýšena, a to především v místech endomyziálních a perimyziálních zánětlivých infiltrátů. Sérová koncentrace visfatinu byla u nemocných s IZM vyšší než u zdravých kontrol. Prokázali jsme korelaci sérových hladin BAFF a visfatinu s aktivitou svalového postižení, což odpovídá známým prozánětlivým imunomodulačním vlastnostem visfatinu u jiných zánětlivých revmatických onemocnění. Interleukin-35 (IL-35) je obecně považován za protizánětlivý, ale u autoimunitních

revmatických onemocnění je jeho role komplexnější (116). Prokázali jsme, že IL-35 je zvýšeně exprimován v zánětlivých infiltrátech a jeho sérové hladiny jsou vyšší než u zdravých kontrol. Sérové hladiny IL-35 korelují pozitivně s některými parametry aktivity IZM, v podskupině nemocných s intersticiálním plicním postižením s aktivitou plicního procesu, a negativně s délkou léčby. Tyto výsledky svědčí pro možnou prozánětlivou roli lokálně tvořeného IL-35 u nemocných s IZM. S100 proteiny se podílejí na řadě intra a extracelulárních regulačních procesů (84). Dosud nejlépe prozkoumaný protein S100A4 hraje při šíření maligních nádorů a zároveň se podílí v patogenezi řady nenádorových autoimunitních onemocnění a představuje proto zajímavé propojení mezi mechanismy regulace protinádorové imunitní odpovědi a autoimunity. IZM jsou obecně spojené se zvýšeným rizikem nádorových onemocnění a u části nemocných je onemocnění samotné považováno za paraneoplastický projev, nabízí se proto otázka, zda je u nemocných s IZM zvýšená tvorba proteinu S100A4 spojena s aktivitou onemocnění nebo s přítomností nádoru. V práci zaměřené na tuto otázku jsme neprokázali zvýšené sérové koncentrace S100A4 u nemocných s paraneoplastickou myozitidou ani u nemocných s přítomností protilátek anti-TIF1, které jsou spojené u IZM s významně zvýšeným rizikem maligních onemocnění. Potvrdili jsme, že zvýšené hladiny S100A4 u nemocných s IZM korelují s extramuskulární aktivitou onemocnění a mají tedy spíše vliv k zánětlivé aktivitě IZM, a ne k přítomnosti maligních onemocnění. Druhá citovaná práce zabývající se významem S100 proteinů v patogenezi IZM byla zaměřena na roli prozánětlivého proteinu S100A11. Prokázali jsme korelaci zvýšených plazmatických hladin S100A11s některými parametry aktivity onemocnění a na základě imunohistochemických vyšetření zjistili, že k akumulaci proteinu S100A11 u nemocných s IZM dochází především v regenerujících a nekrotických svalových vláknech, což nasvědčuje možnému významu tohoto proteinu v remodelaci svalové tkáně. Poslední práce zaměřená na problematiku patogeneze IZM se věnovala důležitému neimunitnímu mechanismu, který se podílí na regulaci růstu, vývoje a stárnutí svalů, regulačnímu systému aktivin A-myostatin-folistatin (117). Vzhledem k tomu, že myostatin má silné negativní regulační účinky na růst příčně pruhovaných svalů, jsme předpokládali u nemocných s IZM zvýšenou expresi ve svalech a vyšší sérové koncentrace. Ukázalo se ale, že u nemocných s IZM jsou ve srovnání se zdravými kontrolami sérové koncentrace myostatinu významně nižší a korelují negativně s aktivitou svalového postižení a pozitivně s výsledky svalového testu. Sérové koncentrace folistatinu i aktivinu A byly u nemocných s IZM zvýšené. Analýza genové exprese prokázala, že ve svalech nemocných s IZM dochází k upregulaci růstových a downregulaci s atrofií

spojených molekul. Změny v regulačním systému aktivin A-myostatin-folistatin u nemocných s IZM tedy svědčí spíše pro kompenzační mechanismy než pro přímou roli v rozvoji poškození svalů.

T lymfocyty hrají zásadní roli při zahájení a regulaci imunitní odpovědi. Při autoimunitních onemocněních dochází ke ztrátě autotolerance a ke stimulaci CD4⁺ T lymfocytů vlastními antigeny. U nemocných s IZM se T lymfocyty podílejí přímým cytotoxickým účinkem i nepřímo aktivací imunitních mechanismů na poškození svalů a dalších tkání (118). Abatacept je plně humánní fúzní protein, který blokádu kostimulačních receptorů T lymfocytů brání jejich plné aktivaci. Kazuistická sdělení popisují možnou účinnost abataceptu v léčbě IZM. Proto byla z iniciativy akademických výzkumníků provedena studie ARTEMIS ověřující formou klinického hodnocení fáze IIb vliv léčby abataceptem na klinickou aktivitu u nemocných s refrakterní PM a DM. V této pilotní studii bylo prokázáno snížení klinické aktivity u osmi z devatenácti pacientů s refrakterní PM a DM po léčbě abataceptem. Při hodnocení párových svalových biopsií před a po léčbě abataceptem bylo prokázáno významné zvýšení exprese Foxp3, markeru regulačních T lymfocytů. Analýza populací periferních T lymfocytů před a po léčbě ukázala, že poměr CD4/CD8 buněk má významný vztah ke zlepšení svalové vytrvalosti hodnocené pomocí funkčního indexu FI-2. Poměr CD4/CD8 by mohl být využit jako prediktivní biomarker účinnosti léčby abataceptem u nemocných s IZM.

5. ZÁVĚR

Hlavním cílem lékařského výzkumu by měla být snaha pomocí lepšího pochopení etiopatogenetických mechanismů rozšířit terapeutické možnosti pro nemocné. K tomu by měly přispět i výsledky prezentované v této dizertační práci.

Prokázali jsme, že incidence imunitně zprostředkované nekrotizující myopatie stoupá v časové souvislosti s rozšířením terapeutického podávání statinů. Jedná se o velmi vzácný nežádoucí účinek léčby dyslipidemií, ale lékaři se s tímto onemocněním setkávají častěji než dříve a proto je potřeba o něm odbornou veřejnost informovat. Již máme k dispozici komerčně dostupné metody průkazu anti-HMGCR protilátek, které umožňují včasnou diagnostiku a zahájení léčby. Genetické rizikové faktory jsou pro vznik idiopatických zánětlivých myopatií zásadní, přičemž se predispozice pro jednotlivé podtypy onemocnění u různých populací liší. Lepší dostupnost genetických vyšetření by v budoucnu mohla usnadnit včasnou diagnostiku a umožnit odhalení jedinců se zvýšeným rizikem rozvoje myozitidy. Hlubší poznání role jednotlivých cytokinů a molekul zapojených do patogenetických mechanismů onemocnění je důležitou cestou k nalezení nových biomarkerů pro diagnostiku a monitorování aktivity onemocnění a zároveň může pomoci identifikovat nové možnosti cíleného terapeutického ovlivnění jednotlivých složek imunitního systému a neimunitních mechanismů. Abatacept se v současné době běžně používá při léčbě revmatoidní artritidy a pokud se i v dalších klinických hodnoceních potvrdí účinnost tohoto přípravku v léčbě myozitid, pak dojde k vítanému rozšíření terapeutických možností.

6. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

BAFF: aktivační faktor B lymfocytů
CADM: klinicky amyopatická dermatomyozitida
CAM: paraneoplastická myozitida
CD: diferenciační skupina
CK: kreatinkináza
CRP: C-reaktivní protein
DAMP: molekulární vzory asociované s nebezpečím
DM: dermatomyozitida
ELISA: heterogenní enzymová imunoanalýza
ER: endoplazmatické retikulum
FI-2: funkční index 2
FoxP3: transkripční faktor forkhead box protein P3
GWAS: genomová asociační studie
HC: zdravé kontroly
HLA: lidský leukocytární antigen
HLM: hierarchický lineární model
HMGCR: 3hydroxy-3metylglutaryl koenzym A reduktáza
HSP: protein teplotního šoku
IBM: myozitida s inkluzními tělísky
IFN: interferon
IL: interleukin
IZM: idiopatické zánětlivé myopatie
IZNM: imunitně zprostředkovaná nekrotizující myopatie
IVIg: intravenózně podávané imunoglobuliny
JDM: juvenilní dermatomyozitida
LDH: laktát dehydrogenáza
MCTD: smíšené onemocnění pojiva
MDA5: protein 5 asociovaný s diferenciací melanomu
MDAAT: myositis disease activity assessment tool

MHC: hlavní histokompatibilní komplex
MMT8: manuální svalový test
MR: mnohočetná regresní analýza
MRI: magnetická rezonance
MSA: pro myozitidu specifické protilátky
MYOACT: myositis disease activity assessment visual analogue scale
MxA: protein myxovirové rezistence A
NF- κ B: nukleární receptor NF kappa B
NXP2: faktor 2 nukleární matrix
PA: metoda dráhových koeficientů
PBMC: periferní mononukleární buňky
PM: polymyozitida
PRR: receptory rozeznávající molekulové vzory
RA: revmatoidní artritida
ROS: volné kyslíkové radikály
SAE: enzym aktivující malý ubikvitinu podobný modifikátor
SLE: systémový lupus erythematoses
SNP: jednonukleotidový polymorfismus
SRP: signál rozeznávající částice
SSc: systémová sklerodermie
TCR: receptor T lymfocytů
TGF- β : transformující růstový faktor β
TIF1: transkripční intermediární faktor 1
TNF: tumor nekrotizující faktor
TRAIL: TNF příbuzný ligand navozující autofáгии
tRNA: transferová ribonukleová kyselina
UV: ultrafialové záření
VAS: vizuální analogová škála

7. POUŽITÁ LITERATURA

- 1) Vencovský J. Idiopatické zánětlivé myopatie. In: Pavelka K, Vencovský J, Horák P, et al. (eds). *Revmatologie*. 1. Vydání. Praha: Maxdorf, 2012: s. 382–392. ISBN 9788073452957.
- 2) Dalakas MC. Inflammatory muscle diseases. *N Engl J Med*. 2015; 372: 1734–1747.
- 3) Wagner E. Fall einer seltenen Muskelerkrankung. *Dtsch Arch Heilk*. 1863; 4:282.
- 4) Potain R. Morve chronique de forme anormale. *Bull Soc Med Hop*. 1895; 12:314–20.
- 5) Wagner E. Ein Fall von acuter Polymyositis. *Dtsch Arch klin Med*. 1887; 40:261–266.
- 6) Unverricht H. Dermatomyositis acuta. *Dtsch Med Wochenschr*. 1891; 17:41–44.
- 7) Stertz G. Polymyositis. *Berl Klin Wochenshr*. 1916; 53: 489.
- 8) Bezecky R. Dermatomyositis. *Archives of Dermatology and Syphilis*. 1935; 171:242.
- 9) Gottron H. Hautveränderungen bei Dermatomyositis. VIII Congres Intern. Dermatol. et Syphilogr., Copenhagen, 5–8 Agout, 1930, Compt rend Seancy, Ed. S. Lomholt, Copenhagen 1931; 826–830.
- 10) Hecht MS. Dermatomyositis in childhood. *The Journal of Pediatrics*. 1940; 17:791–800.
- 11) Chou SM. Myxovirus-like structures in a case of human chronic polymyositis. *Science* 1967; 158:1453–5.
- 12) Yunis EJ, Samaha FJ. Inclusion body myositis. *Lab Invest*. 1971; 25:240-8.
- 13) Reichlin M, Mattioli M. Description of a serological reaction characteristic of polymyositis. *Clin Immunol Immunopathol*. 1976; 5:12-20.
- 14) Nishikai M, Reichlin M. Heterogeneity of precipitating antibodies in polymyositis and dermatomyositis. Characterization of the Jo-1 antibody system. *Arthritis Rheum*. 1980; 23:881-8.
- 15) Wedgewood RJP, Cook CD, Cohen J. Dermatomyositis. Report of 26 cases in children with a discussion of endocrine therapy in 13. *Pediatrics*. 1953; 12:447-465.
- 16) Opel TW, Cohen C, Milhorat AT. Effect of pituitary adrenocorticotropin (ACTH) in dermatomyositis. *Ann Int Med*. 1950; 32:318–22.

- 17) Sokoloff MC, Goldberg LS, Pearson CM. Treatment of corticosteroid-resistant polymyositis with methotrexate. *Lancet*. 1971; 1:14-16.
- 18) Hicks JE, Miller F, Plotz P, et al. Isometric exercise increases strength and does not produce sustained creatinine phosphokinase increases in a patient with polymyositis. *J Rheumatol*. 1993; 20:1399-1401.
- 19) International Myositis Assessment & Clinical Studies Group [online]. Bethesda, MD: National Institute of Environmental Health Sciences, ©2019, Poslední změna 28. 6. 2019 [cit. 2020-06-10]. Dostupné z: <https://www.niehs.nih.gov/research/resources/imacs/index.cfm>
- 20) Oddis CV, Reed AM, Aggarwal R, et al. Rituximab in the treatment of refractory adult and juvenile dermatomyositis and adult polymyositis: a randomized, placebo-phase trial. *Arthritis Rheum*. 2013; 65:314-24.
- 21) Miller FW, Chen W, O'Hanlon TP, et al. Genome-wide association study identifies HLA 8.1 ancestral haplotype alleles as major genetic risk factors for myositis phenotypes. *Genes Immun*. 2015; 16:470-80.
- 22) Aggarwal R, Rider LG, Ruperto N, et al. American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism criteria for minimal, moderate, and major clinical response in adult dermatomyositis and polymyositis: An International Myositis Assessment and Clinical Studies Group/Paediatric Rheumatology International Trials Organisation Collaborative Initiative. *Ann Rheum Dis* 2016; 2017:792–801.
- 23) Dalakas MC, Hohlfeld R. Polymyositis and dermatomyositis. *Lancet*. 2003; 362:971-982.
- 24) Pinal-Fernandez I, Casal-Dominguez M, Mammen AL. Immune-Mediated Necrotizing Myopathy. *Curr Rheumatol Rep*. 2018; 20:21.
- 25) Marco JL, Collins BF. Clinical manifestations and treatment of antisynthetase syndrome [published online ahead of print, 2020 Apr 10]. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2020; 101503.
- 26) Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis. Parts 1 and 2. *N Engl J Med*. 1975;292:344–7. 3403–407.
- 27) Lundberg IE, de Visser M, Werth VP. Classification of myositis. *Nat Rev Rheumatol*. 2018; 14:269-278.

- 28) Love LA, Leff RL, Fraser DD, et al. A new approach to the classification of idiopathic inflammatory myopathy: myositis-specific autoantibodies define useful homogeneous patient groups. *Medicine (Baltimore)*. 1991; 70:360-74.
- 29) Troyanov, Y., Targoff, I., Tremblay, et al. Novel classification of idiopathic inflammatory myopathies based on overlap syndrome features and autoantibodies: analysis of 100 French Canadian patients. *Medicine (Baltimore)*. 2005; 84:231-249.
- 30) Solomon J, Swigris JJ, Brown KK. Myositis-related interstitial lung disease and antisynthetase syndrome. *J Bras Pneumol*. 2011; 37:100-9.
- 31) Hoogendijk JE, Amato AA, Lecky BR, et al. 119th ENMC international workshop: trial design in adult idiopathic inflammatory myopathies, with the exception of inclusion body myositis, 10–12 October 2003, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord England*. 2004: 337–345.
- 32) Waldman R, DeWane ME, Lu J. Dermatomyositis: Diagnosis and treatment. *J Am Acad Dermatol*. 2020; 82:283-296.
- 33) Bailey EE, Fiorentino DF. Amyopathic dermatomyositis: definitions, diagnosis, and management. *Curr Rheumatol Rep*. 2014; 16:465.
- 34) Lahoria R, Selcen D, Engel AG. Microvascular alterations and the role of complement in dermatomyositis. *Brain*. 2016; 139:1891–903.
- 35) Uruha A, Nishikawa A, Tsuburaya RS, et al. Sarcoplasmic MxA expression: A valuable marker of dermatomyositis. *Neurology*. 2017; 88:493–500.
- 36) Wolstencroft PW, Rieger KE, Leatham HW, Fiorentino DF. Clinical factors associated with cutaneous histopathologic findings in dermatomyositis. *J Cutan Pathol*. 2019; 46:401–410.
- 37) Wu JQ, Lu MP, Reed AM. Juvenile dermatomyositis: advances in clinical presentation, myositis-specific antibodies and treatment. *World J Pediatr*. 2020; 16:31-43.
- 38) Tiniakou E, Mammen AL. Idiopathic inflammatory myopathies and malignancy: a comprehensive review. *Clinic Rev Allerg Immunol*. 2017; 52:20–33.
- 39) Iaccarino L, Gatto M, Bettio S, et al. Overlap connective tissue disease syndromes. *Autoimmun Rev*. 2013; 12:363-73.

- 40) Alarcón-Segovia D, Cardiel MH. Comparison between 3 diagnostic criteria for mixed connective tissue disease. Study of 593 patients. *J Rheumatol*. 1989; 16:328-34.
- 41) Fredi M, Cavazzana I, Franceschini F. The clinico-serological spectrum of overlap myositis. *Curr Opin Rheumatol*. 2018; 30:637-643.
- 42) Griggs RC, Askanas V, DiMauro S, et al. Inclusion body myositis and myopathies. *Ann Neurol* 1995; 38:705–13.
- 43) Lloyd TE, Mammen AL, Amato AA et al. Evaluation and construction of diagnostic criteria for inclusion body myositis. *Neurology* 2014; 83: 426-33.
- 44) Meyer A, Meyer N, Schaeffer M, et al. Incidence and prevalence of inflammatory myopathies: a systematic review. *Rheumatology* 2015; 54:50-63.
- 45) Miller FW, Lamb JA, Schmidt J, et al. Risk factors and disease mechanisms in myositis. *Nat Rev Rheumatol*. 2018; 14:255-268.
- 46) Gan L, Miller FW. State of the art: what we know about infectious agents and myositis. *Curr Opin Rheumatol*. 2011; 23:585-94.
- 47) Gallay L, Mouchiroud G, Chazaud B. Interferon-signature in idiopathic inflammatory myopathies. *Curr Opin Rheumatol*. 2019; 31:634-642.
- 48) Chinoy H, Adimulam S, Marriage F, et al. Interaction of HLA-DRB1*03 and smoking for the development of anti-Jo-1 antibodies in adult idiopathic inflammatory myopathies: a European-wide case study. *Ann Rheum Dis*. 2012; 71:961-965.
- 49) Love LA, Weinberg CR, McConnaughey DR, et al. Ultraviolet radiation intensity predicts the relative distribution of dermatomyositis and anti-Mi-2 autoantibodies in women. *Arthritis and rheumatism* 2009; 60:2499-2504.
- 50) Doughty CT, Amato AA. Toxic Myopathies. *Continuum (Minneapolis, Minn)*. 2019; 25:1712-1731.
- 51) Supakornnumporn S, Katirji B. Autoimmune Neuromuscular Diseases Induced by Immunomodulating Drugs. *J Clin Neuromuscul Dis*. 2018; 20:28-34.
- 52) Mohassel P, Mammen AL. Anti-HMGCR Myopathy. *J Neuromuscul Dis*. 2018; 5:11-20.

- 53) Levine SM. Cancer and myositis: new insights into an old association. *Curr Opin Rheumatol*. 2006; 18:620-4.
- 54) Ginn LR, Lin JP, Plotz PH, et al. Familial autoimmunity in pedigrees of idiopathic inflammatory myopathy patients suggests common genetic risk factors for many autoimmune diseases. *Arthritis Rheum*. 1998; 41:400-405.
- 55) Kuo CF, Luo SF, Yu KH, See LC, Zhang W, Doherty M. Familial risk of systemic sclerosis and co-aggregation of autoimmune diseases in affected families. *Arthritis Res Ther*. 2016; 18:231.
- 56) Kuo CF, Grainge MJ, Valdes AM, et al. Familial Aggregation of Systemic Lupus Erythematosus and Coaggregation of Autoimmune Diseases in Affected Families. *JAMA Intern Med*. 2015; 175:1518-1526.
- 57) Rothwell S, Chinoy H, Lamb JA, et al. Focused HLA analysis in Caucasians with myositis identifies significant associations with autoantibody subgroups. *Ann Rheum Dis*. 2019; 78:996-1002.
- 58) Rothwell S, Lamb JA, Chinoy H. New developments in genetics of myositis. *Curr Opin Rheumatol*. 2016; 28:651-656.
- 59) Hořejší V, Bartůňková J. *Základy imunologie*. 3. Vydání. Praha: Triton, 2005. 279 s. ISBN 8072546864.
- 60) Galindo-Feria AS, Albrecht I, Fernandes-Cerqueira C, et al. Proinflammatory Histidyl-Transfer RNA Synthetase-Specific CD4+ T Cells in the Blood and Lungs of Patients With Idiopathic Inflammatory Myopathies. *Arthritis Rheumatol*. 2020; 72:179-191.
- 61) Bender A, Ernst N, Iglesias A, et al. T cell receptor repertoire in polymyositis: clonal expansion of autoaggressive CD8+ T cells. *J Exp Med*. 1995; 181:1863-8.
- 62) Schmidt J, Rakocevic G, Raju R, Dalakas MC. Upregulated inducible co-stimulator (ICOS) and ICOS-ligand in inclusion body myositis muscle: significance for CD8+ T cell cytotoxicity. *Brain* 2004; 127:1182-90.
- 63) De Paepe B, Creus KK, De Bleecker JL. Role of cytokines and chemokines in idiopathic inflammatory myopathies. *Curr Opin Rheumatol* 2009; 21: 610-6.

- 64) Fasth AE, Dastmalchi M, Rahbar A, et al. T cell infiltrates in the muscles of patients with dermatomyositis and polymyositis are dominated by CD28null T cells. *J. Immunol.* 2009; 183:4792-4799.
- 65) Pandya JM, Loell I, Hossain MS, et al. Effects of conventional immunosuppressive treatment on CD244+ (CD28null) and FOXP3+ T cells in the inflamed muscle of patients with polymyositis and dermatomyositis. *Arthritis Res Ther.* 2016; 18:80.
- 66) Waschbisch A, Schwab N, Ruck T, et al. FOXP3+ T regulatory cells in idiopathic inflammatory myopathies. *J Neuroimmunol.* 2010; 225:137-42.
- 67) Banica L, Besliu A, Pistol G, et al. Quantification and molecular characterization of regulatory T cells in connective tissue diseases. *Autoimmunity.* 2009; 42:41-9.
- 68) Tansley SL, Betteridge ZE, McHugh NJ. The diagnostic utility of autoantibodies in adult and juvenile myositis. *Curr Opin Rheumatol.* 2013; 25:772-777.
- 69) Greenberg SA, Bradshaw EM, Pinkus JL, et al. Plasma cells in muscle in inclusion body myositis and polymyositis. *Neurology.* 2005; 65:1782-7.
- 70) Bradshaw EM, Orihuela A, McArdel SL, et al. A local antigen-driven humoral response is present in the inflammatory myopathies. *J Immunol.* 2007; 178:547-556.
- 71) Morais SA, Vilas-Boas A, Isenberg DA. B-cell survival factors in autoimmune rheumatic disorders. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2015; 7:122-151.
- 72) Krystufkova O, Vallerskog T, Helmers SB, et al. Increased serum levels of B cell activating factor (BAFF) in subsets of patients with idiopathic inflammatory myopathies. *Ann Rheum Dis* 2009; 68:836-43.
- 73) Page G, Chevrel G, Miossec P. Anatomic localization of immature and mature dendritic cell subsets in dermatomyositis and polymyositis: Interaction with chemokines and Th1 cytokine-producing cells. *Arthritis Rheum.* 2004; 50:199-208.
- 74) Greenberg SA, Pinkus GS, Amato AA, Pinkus JL. Myeloid dendritic cells in inclusion-body myositis and polymyositis. *Muscle Nerve.* 2007; 35:17-23.
- 75) Eloranta ML, Barbasso Helmers S, Ulfgren AK, Rönnblom L, Alm GV, Lundberg IE. A possible mechanism for endogenous activation of the type I interferon system in myositis

patients with anti-Jo-1 or anti-Ro 52/anti-Ro 60 autoantibodies. *Arthritis Rheum.* 2007; 56:3112-3124.

- 76) Meyer A, Laverny G, Allenbach Y, et al. IFN- β -induced reactive oxygen species and mitochondrial damage contribute to muscle impairment and inflammation maintenance in dermatomyositis. *Acta Neuropathol.* 2017; 134:655-666.
- 77) Rigamonti E, Zordan P, Sciorati C, Rovere-Querini P, Brunelli S. Macrophage plasticity in skeletal muscle repair. *Biomed Res Int.* 2014; 2014:560-629.
- 78) Seto N, Torres-Ruiz JJ, Carmona-Rivera C, et al. Neutrophil dysregulation is pathogenic in idiopathic inflammatory myopathies. *JCI Insight.* 2020;5: e134189.
- 79) De Yang ZH, Oppenheim JJ. Alarmins and immunity. *Immunol Rev.* 2017; 280: 41–56.
- 80) Wan Z, Zhang X, Peng A, et al. TLR4-HMGB1 signaling pathway affects the inflammatory reaction of autoimmune myositis by regulating MHC-I. *Int Immunopharmacol.* 2016; 41:74-81.
- 81) Grundtman C, Bruton J, Yamada T, et al. Effects of HMGB1 on in vitro responses of isolated muscle fibers and functional aspects in skeletal muscles of idiopathic inflammatory myopathies. *FASEB J.* 2010; 24:570-578.
- 82) Zininga T, Ramatsui L, Shonhai A. Heat Shock Proteins as Immunomodulators. *Molecules.* 2018; 23:28-46.
- 83) De Paepe B, Creus KK, Martin JJ, et al. A dual role for HSP90 and HSP70 in the inflammatory myopathies: from muscle fiber protection to active invasion by macrophages. *Ann N Y Acad Sci.* 2009; 1173:463-469.
- 84) Gonzalez LL, Garrie K, Turner MD. Role of S100 proteins in health and disease. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res.* 2020; 1867:118677
- 85) Cerezo LA, Kuncová K, Mann H, et al. The metastasis promoting protein S100A4 is increased in idiopathic inflammatory myopathies. *Rheumatology (Oxford).* 2011; 50:1766-1772.
- 86) Manole E, Bastian AE, Butoianu N, Goebel HH. Myositis non-inflammatory mechanisms: An up-dated review. *J Immunoassay Immunochem.* 2017; 38:115-126.

- 87) Lightfoot AP, Nagaraju K, McArdle A, Cooper RG. Understanding the origin of non-immune cell-mediated weakness in the idiopathic inflammatory myopathies -potential role of ER stress pathways. *Curr Opin Rheumatol*. 2015; 27:580-585.
- 88) Estruch R, Grau JM, Fernández-Solá J, et al. Microvascular changes in skeletal muscle in idiopathic inflammatory myopathy. *Hum Pathol*. 1992; 23:888-895.
- 89) Alger HM, Raben N, Pistilli E, et al. The role of TRAIL in mediating autophagy in myositis skeletal muscle: a potential nonimmune mechanism of muscle damage. *Arthritis Rheum*. 2011; 63:3448-3457.
- 90) Klein M, Mann H, Pleštilová L, et al. Arthritis in idiopathic inflammatory myopathy: clinical features and autoantibody associations. *J Rheumatol*. 2014; 41:1133-1139.
- 91) Paganoni S, Amato A. Electrodiagnostic evaluation of myopathies. *Phys Med Rehabil Clin N Am*. 2013; 24:193-207.
- 92) Tomasová Studynková J, Charvát F, Jarosová K, Vencovsky J. The role of MRI in the assessment of polymyositis and dermatomyositis. *Rheumatology (Oxford)*. 2007; 46:1174-1179.
- 93) Selva-O'Callaghan A, Gil-Vila A, Simó-Perdigó M, et al. PET Scan: Nuclear Medicine Imaging in Myositis. *Curr Rheumatol Rep*. 2019; 21:64.
- 94) Mann H, Vencovský J, Lundberg IE. Myozitida rezistentní na léčbu. *Česká revmatologie*. 2010; 18:97-108.
- 95) Mann H. Idiopatické zánětlivé myopatie. In: Závada J a kol. *Revmatologie v klinických scénářích*. 1. Vydání. Praha: Mladá Fronta, 2018: s. 214-224. ISBN 978-80-204-4405-9.
- 96) Rider LG, Koziol D, Giannini EH, et al. Validation of manual muscle testing and a subset of eight muscles for adult and juvenile idiopathic inflammatory myopathies. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2010; 62:465-72.
- 97) Alexanderson H, Broman L, Tollbäck A, et al. Functional index-2: Validity and reliability of a disease-specific measure of impairment in patients with polymyositis and dermatomyositis. *Arthritis Rheum*. 2006; 55:114-122.

- 98) Isenberg DA, Allen E, Farewell V, et al. International consensus outcome measures for patients with idiopathic inflammatory myopathies. Development and initial validation of myositis activity and damage indices in patients with adult onset disease. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2004; 43:49-54.
- 99) Klein RQ, Bangert CA, Costner M, et al. Comparison of the reliability and validity of outcome instruments for cutaneous dermatomyositis. *Br J Dermatol*. 2008; 159:887-94.
- 100) Mann H, Vencovský J. Idiopatické zánětlivé myopatie. In: Pavelka K, Vencovský J, Šenolt L, et al. (eds). *Farmakoterapie revmatických onemocnění*. 1. Vydání. Praha: Maxdorf, 2017: s. 165-172. ISBN 9788073455378.
- 101) Mann H. Glukokortikoidy v léčbě idiopatických zánětlivých myopatií. *Acta medicae*. 2015; 4:18-20.
- 102) Bunch TW. Prednisone and azathioprine for polymyositis: long-term followup. *Arthritis Rheum* 1981; 24:45-8.
- 103) Nawata Y, Kurasawa K, Takabayashi K, et al. Corticosteroid resistant interstitial pneumonitis in dermatomyositis/polymyositis: prediction and treatment with cyclosporine. *J Rheumatol*. 1999; 26:1527-33.
- 104) Kurita T, Yasuda S, Oba K, et al. The efficacy of tacrolimus in patients with interstitial lung diseases complicated with polymyositis or dermatomyositis. *Rheumatology (Oxford)* 2015; 54:39-44.
- 105) Koyama RVL, Braga TKK, da Silva Dias GA, et al. Hypomyopathic dermatomyositis associated with interstitial lung disease and good response to mycophenolate mofetil: case-based review. *Clin Rheumatol*. 2017; 36:1919-1926.
- 106) Ge Y, Peng Q, Zhang S, et al. Cyclophosphamide treatment for idiopathic inflammatory myopathies and related interstitial lung disease: a systematic review. *Clin Rheumatol* 2015; 34:99-105.
- 107) Sangle VS, Sangle SR, D'Cruz DP. Leflunomide as a remission-maintaining therapy in difficult-to-treat dermatomyositis. *Ann Rheum Dis*. 2008; 67:723.

- 108) Dalakas MC, Illa I, Dambrosia JM et, al. A controlled trial of high-dose intravenous immune globulin infusions as treatment for dermatomyositis. *N Engl J Med* 1993; 329:1993-2000.
- 109) Mammen AL, Tiniakou E. Intravenous Immune Globulin for Statin-Triggered Autoimmune Myopathy. *N Engl J Med*. 2015; 373:1680-2.
- 110) Aggarwal R, Marder G, Koontz DC, Nandkumar P, Qi Z, Oddis CV. Efficacy and safety of adrenocorticotrophic hormone gel in refractory dermatomyositis and polymyositis. *Ann Rheum Dis*. 2018; 77:720-727.
- 111) Moghadam-Kia S, Charlton D, Aggarwal R, Oddis CV. Management of refractory cutaneous dermatomyositis: potential role of Janus kinase inhibition with tofacitinib. *Rheumatology (Oxford)*. 2019; 58:1011-1015.
- 112) Kurasawa K, Arai S, Namiki Y et al. Tofacitinib for refractory interstitial lung diseases in anti-melanoma differentiation associated 5 gene antibody positive dermatomyositis. *Rheumatology (Oxford)*. 2018; 57:2114-2119.
- 113) Alexanderson H. Physical exercise as a treatment for adult and juvenile myositis. *J Intern Med*. 2016; 280:75-96.
- 114) Schmitt E, Gehrman M, Brunet M, et al. Intracellular and extracellular functions of heat shock proteins: repercussions in cancer therapy. *J Leukoc Biol*. 2007; 81:15-27.
- 115) Chen Z, Cao M, Plana MN, et al. Utility of anti-melanoma differentiation-associated gene 5 antibody measurement in identifying patients with dermatomyositis and a high risk for developing rapidly progressive interstitial lung disease: a review of the literature and a meta-analysis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2013; 65:1316-1324.
- 116) Su LC, Liu XY, Huang AF, Xu WD. Emerging role of IL-35 in inflammatory autoimmune diseases. *Autoimmun Rev*. 2018; 17:665-673.
- 117) Lee SJ, Lee YS, Zimmers TA, et al. Regulation of muscle mass by follistatin and activins. *Mol Endocrinol*. 2010; 24:1998-2008.
- 118) Malmström V, Venalis P, Albrecht I. T cells in myositis. *Arthritis Res Ther*. 2012; 14:230.

8. VLASTNÍ PUBLIKACE AUTORA ZA DOBU DOKTORSKÉHO STUDIA

Původní vědecké práce s IF

- 1) **Mann H**, Kryštůfková O, Zámečník J, Háček J, Hulejová H, Filková M, Vencovský J, Šenolt L. Interleukin-35 in idiopathic inflammatory myopathies. V recenzním řízení. Cytokine. IF: 3,078.
- 2) Vernerová L, Horváthová V, Kropáčková T, Vokurková M, Klein M, Tomčík M, Oreská S, Špiritović M, Štorkánová H, Heřmánková B, Kubínová K, Kryštůfková O, **Mann H**, Ukropec J, Ukropcová B, Vencovský J. Alterations in activin A-myostatin-follistatin system associate with disease activity in inflammatory myopathies. Rheumatology (Oxford). 2020 Jan 28. pii: kez651. doi: 10.1093/rheumatology/kez651. [Epub ahead of print] IF: 5,149
- 3) Andrés Cerezo L, Hulejová H, Šumová B, Kropáčková T, Kryštůfková O, Klein M, **Mann HF**, Zámečník J, Pecha O, Pavelka K, Vencovský J, Šenolt L. Pro-inflammatory S100A11 is elevated in inflammatory myopathies and reflects disease activity and extramuscular manifestations in myositis. Cytokine 2019;116:13-20. IF: 3,078
- 4) Tang Q, Ramsköld D, Krystufkova O, **Mann HF**, Wick C, Dastmalchi M, Lakshmikanth T, Chen Y, Mikes J, Alexanderson H, Achour A, Brodin P, Vencovsky J, Lundberg IE, Malmström V. Effect of CTLA4-Ig (abatacept) treatment on T cells and B cells in peripheral blood of patients with polymyositis and dermatomyositis. Scand J Immunol. 2019;89:e12732. IF: 2,563
- 5) Kryštůfková O, Hulejová H, **Mann HF**, Pecha O, Půtová I, Ekholm L, Lundberg IE, Vencovský J. Serum levels of B-cell activating factor of the TNF family (BAFF) correlate with anti-Jo-1 autoantibodies levels and disease activity in patients with anti-Jo-1positive polymyositis and dermatomyositis. Arthritis Res Ther. 2018;20:158. IF: 4,121
- 6) Kochi Y, Kamatani Y, Kondo Y, Suzuki A, Kawakami E, Hiwa R, Momozawa Y, Fujimoto M, Jinnin M, Tanaka Y, Kanda T, Cooper RG, Chinoy H, Rothwell S, Lamb JA, Vencovský J, **Mann H**, Ohmura K, Myouzen K, Ishigaki K, Nakashima R, Hosono Y, Tsuboi H, Kawasumi H, Iwasaki Y, Kajiyama H, Horita T, Ogawa-Momohara M, Takamura A, Tsunoda S, Shimizu J, Fujio K, Amano H, Mimori A, Kawakami A, Umehara H, Takeuchi T, Sano H, Muro Y, Atsumi T, Mimura T, Kawaguchi Y, Mimori T, Takahashi A, Kubo M, Kohsaka H, Sumida T, Yamamoto K. Splicing variant of WDFY4 augments MDA5 signalling and the risk of clinically

amyopathic dermatomyositis. *Ann Rheum Dis.* 2018;77:602-611. IF:14,299

- 7) Tjärnlund A, Tang Q, Wick C, Dastmalchi M, **Mann H**, Tomasová Studýnková J, Chura R, Gullick NJ, Salerno R, Rönnelid J, Alexanderson H, Lindroos E, Aggarwal R, Gordon P, Vencovsky J, Lundberg IE. Abatacept in the treatment of adult dermatomyositis and polymyositis: a randomised, phase IIb treatment delayed-start trial. *Ann Rheum Dis.* 2018;77:55-62. IF:14,299
- 8) Mišunová M, Svitálková T, Pleštilová L, Kryštůfková O, Tegzová D, Svobodová R, Hušáková M, Tomčík M, Bečvář R, Závada J, **Mann H**, Kolesár L, Slavčev A, Vencovský J, Novota P. Molecular markers of systemic autoimmune disorders: the expression of MHC-located HSP70 genes is significantly associated with autoimmunity development. *Clin Exp Rheumatol.* 2017;35:33-42. IF: 3,542
- 9) Hulejová H, Kryštůfková O, **Mann H**, Klein M, Pavlíčková K, Zámečník J, Vencovský J, Šenolt L. Increased visfatin levels are associated with higher disease activity in anti-Jo-1-positive myositis patients. *Clin Exp Rheumatol.* 2016;34:222-9. IF: 3,410
- 10) Klein M*, **Mann H***, Pleštilová L, Zámečník J, Betteridge Z, McHugh N, Vencovský J. Increasing incidence of immune-mediated necrotizing myopathy: single-centre experience. *Rheumatology (Oxford).* 2015;54:2010-4. IF: 4,475 ***Sdílené první autorství**
- 11) Pleštilová L, **Mann H**, Andrés Cerezo L, Pecha O, Vencovský J, Šenolt L. The metastasis promoting protein S100A4 levels associate with disease activity rather than cancer development in patients with idiopathic inflammatory myopathies. *Arthritis Res Ther.* 2014;16:468. IF: 3,753

Přehledové články s IF

- 1) Klein M, **Mann H**, Vencovský J. Arthritis in Idiopathic Inflammatory Myopathies. *Curr Rheumatol Rep.* 2019;21:70. IF: 3,645
- 2) Kubínová K, Dejthevaporn R, **Mann H**, Machado PM, Vencovský J. The role of imaging in evaluating patients with idiopathic inflammatory myopathies. *Clin Exp Rheumatol.* 2018;36 Suppl 114(5):74-81. IF:3,711
- 3) Kubínová K, **Mann H**, Vencovský J. MRI scoring methods used in evaluation of muscle involvement in patients with idiopathic inflammatory myopathies. *Curr Opin Rheumatol.*

2017;29:623-631. IF: 4,277

Přehledové články bez IF

- 1) **Mann H**, Vencovský J. Novel treatment options in inflammatory myopathies. Rheuma Schweiz Fortbildung und Informationen für Fachleute 2017;4:43-46
- 2) **Mann H**. Myalgie: diferenciální diagnostika z pohledu revmatologa. Postgraduální medicína. 2017;19:75-79.
- 3) Vencovský J, **Mann H**. Imunitně zprostředkovaná nekrotizující myopatie. Revue České lékařské akademie. 2016;12:12-17.
- 4) **Mann H**. Glukokortikoidy v léčbě idiopatických zánětlivých myopatií. Acta medicinae. 2015;4:18-20

Publikace bez vztahu k tématu práce

Původní vědecké práce s IF

- 1) Michelsen B, Ørnbjerg LM, Kvien TK, Pavelka K, Nissen MJ, Nordström D, Santos MJ, Koca SS, Askling J, Rotar Z, Gudbjornsson B, Codreanu C, Loft AG, Kristianslund EK, **Mann HF**, Ciurea A, Eklund KK, Vieira-Sousa E, Yazici A, Jacobsson L, Tomšič M, Löve TJ, Ionescu R, van der Horst-Bruinsma IE, Iannone F, Pombo-Suarez M, Jones GT, Hyldstrup LH, Krogh NS, Hetland ML, Østergaard M. Impact of discordance between patient's and evaluator's global assessment on treatment outcomes in 14 868 patients with spondyloarthritis. Rheumatology (Oxford). 2020 Jan 20. pii: kez656. doi: 10.1093/rheumatology/kez656. [Epub ahead of print] IF: 5,149
- 2) Brahe CH, Ørnbjerg LM, Jacobsson L, Nissen MJ, Kristianslund EK, **Mann H**, Santos MJ, Reino JG, Nordström D, Rotar Z, Gudbjornsson B, Onen F, Codreanu C, Lindström U, Möller B, Kvien TK, Pavelka K, Barcelos A, Sánchez-Piedra C, Eklund KK, Tomšič M, Love TJ, Can G, Ionescu R, Loft AG, van der Horst-Bruinsma IE, Macfarlane GJ, Iannone F, Hyldstrup LH, Krogh NS, Østergaard M, Hetland ML. Retention and response rates in 14 261 PsA patients starting TNF inhibitor treatment-results from 12 countries in EuroSpA. Rheumatology (Oxford). 2019 Oct 30. pii: kez427. doi: 10.1093/rheumatology/kez427. [Epub ahead of print] IF: 5,149
- 3) **Mann HF**, Závada J, Šenolt L, Bubová K, Nekvindová L, Křístková Z, Horák P, Vencovský J,

Pavelka K; and the ATTRA Registry. Real world use of secukinumab for treatment of axial spondyloarthritis and psoriatic arthritis: nationwide results from the ATTRA registry. *Clin Exp Rheumatol*. 2019;37:342-343. IF: 3,238

- 4) Ørnbjerg LM, Brahe CH, Askling J, Ciurea A, **Mann H**, Onen F, Kristianslund EK, Nordström D, Santos MJ, Codreanu C, Gómez-Reino J, Rotar Z, Gudbjornsson B, Di Giuseppe D, Nissen MJ, Pavelka K, Birlik M, Kvien T, Eklund KK, Barcelos A, Ionescu R, Sanchez-Piedra C, Tomsic M, Geirsson AJ, Loft AG, van der Horst-Bruinsma I, Jones G, Iannone F, Hyldstrup L, Krogh NS, Hetland ML, Østergaard M. Treatment response and drug retention rates in 24 195 biologic-naïve patients with axial spondyloarthritis initiating TNFi treatment: routine care data from 12 registries in the EuroSpA collaboration. *Ann Rheum Dis*. 2019; 78:1536-1544. IF: 14,299
- 5) Hulejová H, Kropáčková T, Bubová K, Kryštůfková O, Filková M, **Mann H**, Forejtová Š, Tomčík M, Vencovský J, Pavelka K, Šenolt L. Serum visfatin levels in patients with axial spondyloarthritis and their relationship to disease activity and spinal radiographic damage: a cross-sectional study. *Rheumatol Int*. 2019;39:1037-1043. IF: 2,200
- 6) Hurnakova J, Hulejova H, Zavada J, Komarc M, Cerezo LA, **Mann H**, Vencovsky J, Pavelka K, Senolt L. Serum calprotectin may reflect inflammatory activity in patients with active rheumatoid arthritis despite normal to low C-reactive protein. *Clin Rheumatol*. 2018;37:2055-2062. IF: 2,293
- 7) Mease PJ, Jeka S, Jaller JJ, Kitumnuaypong T, Louthrenoo W, **Mann H**, Matsievskaiia G, Soriano ER, Jia B, Wang C, Nie J, Hsia E. CNTO6785, a Fully Human Antiinterleukin 17 Monoclonal Antibody, in Patients with Rheumatoid Arthritis with Inadequate Response to Methotrexate: A Randomized, Placebo-controlled, Phase II, Dose-ranging Study. *J Rheumatol*. 2018;45:22-31. IF: 1,67
- 8) Hurnakova J, Hulejova H, Zavada J, Hanova P, Komarc M, **Mann H**, Klein M, Sleglova O, Olejarova M, Forejtova S, Ruzickova O, Vencovsky J, Pavelka K, Senolt L. Relationship between serum calprotectin (S100A8/9) and clinical, laboratory and ultrasound parameters of disease activity in rheumatoid arthritis: A large cohort study. *PLoS One*. 2017 Aug 23;12(8):e0183420. IF: 2,766
- 9) Závada J, Hánová P, Hurňáková J, Szczuková L, Uher M, Forejtová Š, Klein M, **Mann H**,

Olejárová M, Růžičková O, Šléglová O, Hejduk K, Pavelka K. The relationship between synovitis quantified by an ultrasound 7-joint inflammation score and physical disability in rheumatoid arthritis - a cohort study. *Arthritis Res Ther.* 2017 Jan 13;19(1):5. IF: 4,269

- 10) Hurnakova J, Hulejova H, Zavada J, Komarc M, Hanova P, Klein M, **Mann H**, Sleglova O, Olejarova M, Forejtova S, Ruzickova O, Vencovsky J, Pavelka K, Senolt L. Serum Calprotectin Discriminates Subclinical Disease Activity from Ultrasound-Defined Remission in Patients with Rheumatoid Arthritis in Clinical Remission. *PLoS One.* 2016 Nov 10;11(11):e0165498. IF: 2,806
- 11) Hruskova V, Jandova R, Vernerova L, **Mann H**, Pecha O, Prajzlerova K, Pavelka K, Vencovsky J, Filkova M, Senolt L. MicroRNA-125b: association with disease activity and the treatment response of patients with early rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2016 Jun 2;18(1):124. IF: 4,121
- 12) Závada J, Uher M, Sisol K, Forejtová Š, Jarošová K, **Mann H**, Vencovský J, Pavelka K. A tailored approach to reduce dose of anti-TNF drugs may be equally effective, but substantially less costly than standard dosing in patients with ankylosing spondylitis over 1 year: a propensity score-matched cohort study. *Ann Rheum Dis.* 2016;75:96-102. IF: 12,811
- 13) Hurnakova J, Zavada J, Hanova P, Hulejova H, Klein M, **Mann H**, Sleglova O, Olejarova M, Forejtova S, Ruzickova O, Komarc M, Vencovsky J, Pavelka K, Senolt L. Serum calprotectin (S100A8/9): an independent predictor of ultrasound synovitis in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2015 Sep 15;17:252. doi: 10.1186/s13075-015-0764-5. IF: 3,979
- 14) Šenolt L, Šumová B, Jandová R, Hulejová H, **Mann H**, Pavelka K, Vencovský J, Filková M. Interleukin 35 Synovial Fluid Levels Are Associated with Disease Activity of Rheumatoid Arthritis. *PLoS One.* 2015 Jul 23;10(7):e0132674. IF: 3,057
- 15) Šenolt L, Cerezo LA, Šumová B, Pecha O, Pleštilová L, Forejtová Š, Růžičková O, Hušáková M, Závada J, Pavelka K, Vencovský J, **Mann H**. High levels of metastasis-inducing S100A4 protein and treatment outcome in early rheumatoid arthritis: data from the PERAC cohort. *Biomarkers.* 2015;20:47-51. IF: 2,016

Původní vědecké práce bez IF

- 1) Kivitz AJ, Nash P, Tahir H, Everding A, **Mann H**, Kaszuba A, Pellet P, Widmer A, Pricop L,

Abrams K. Efficacy and Safety of Subcutaneous Secukinumab 150 mg with or Without Loading Regimen in Psoriatic Arthritis: Results from the FUTURE 4 Study. *Rheumatol Ther.* 2019;6:393-407.

Přehledové články bez IF

- 1) **Mann H.** Inhibitory interleukinu 6 v léčbě revmatoidní artritidy. *Acta Medicinae* 2018;7:24-27.
- 2) **Mann H.** Kardiovaskulární bezpečnost léčby přípravkem tocilizumab: výsledky klinické studie ENTRACTE. *AtheroReview.* 2018;3:101-105.
- 3) **Mann H.** Diagnostika revmatoidní artritidy z pohledu praktického lékaře. *Medicína po promoci.* 2017;18:76-80.
- 4) Šenolt L, **Mann H.**, Závada J et al. Doporučení České revmatologické společnosti pro farmakoterapii revmatoidní artritidy 2017. *Česká revmatologie.* 2017;25:8-24.
- 5) Grobelná K, **Mann H.** Časná diagnostika spondyloartritid. *Časopis lékařů českých.* 2016; 155:294-298.
- 6) Šenolt L, **Mann H.** Doporučení pro časný záchyt axiálních spondyloartritid. *Postgraduální medicína.* 2017;19:52-55.
- 7) Šenolt L, **Mann H.** Axiální spondyloartritida. *Practicus* 2015, č. 4, s. 19-25.
- 8) **Mann H.** Co je cílem léčby revmatoidní artritidy? *Acta medicinae.* 2015, roč. 4, č. 6, s. 46-49.
- 9) **Mann H.** Vliv tocilizumabu na příznaky deprese u nemocných s revmatoidní artritidou. *Acta medicinae.* 2015, roč. 4, č. 6, s. 58-61.
- 10) **Mann H.** Dlouhodobé zkušenosti s léčbou revmatoidní artritidy tocilizumabem. *Farmakoterapie.* 2015, roč. 11, č. 6, s. 789-792.
- 11) **Mann H.** Monoterapie revmatoidní artritidy biologickými léčivy ve světle poznatků o adhezenci k léčbě. *Acta medicinae.* 2015, roč. 4, č. 1, s. 77-80.
- 12) **Mann H.**, Pavelková A., Soukup T., Doseděl M., Brtková J., Baštecká D., Někviňová J., Pávek P., Bradna P. Tocilizumab v léčbě revmatoidní artritidy. *Acta medicinae.* 2015, roč. 4, č. 11, s. 34-39.
- 13) Pavelka K, **Mann H.** Zánětlivá bolest v zádech – význam při screeningu spondyloartritid. *Čes.*

Revmatol., 22, 2014, No. 3, p. 143-152.

- 14) **Mann H.** Referenční strategie pro časnou diagnostiku axiální spondyloartritidy. Ortopedie. 2014, roč. 8, č. 3, s. 142-145.
- 15) Šenolt L, **Mann H.** Revmatologie: doporučení pro včasný záchyt nejčastějších zánětlivých revmatických onemocnění. Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP, 2014.
- 16) **Mann H.** Subkutánní tocilizumab v léčbě revmatoidní artritidy. Acta medicae. 2014, roč. 3, č. 7, s. 25-28.

Kapitoly v monografiích

- 1) **Mann H.** Přístup k nemocnému s revmatickým onemocněním s. 659-663. **Mann H.** Mimokloubní revmatismus s. 708-710. **Mann H.** Paraneoplastické syndromy s. 711 In: Češka Richard. Interna. 3. aktualizované vydání. Praha: Triton [2020]. ISBN: 978-80-7553-780-5.
- 2) **Mann H.** Klinický obraz s. 23-48. In: Šenolt L, Veigl D. Diferenciální diagnostika bolestivého kloubu v klinické praxi. 1. vydání. Praha: Mladá fronta [2020]. ISBN 978-80-204-5324-2
- 3) **Mann H.** Vencovský J. Treatment of idiopathic inflammatory myopathies. S. 171-180. In: Chinoy H, Cooper RG. Myositis. 1. vydání. Oxford: Oxford University Press, [2018]. ISBN 978-0-19-875412-1.
- 4) **Mann H.** Vyšetření pacienta s revmatickým onemocněním. Anamnéza. s. 36-42. **Mann H.** Vyšetření pacienta s revmatickým onemocněním. Fyzikální vyšetření. s. 42-53. **Mann H.** Závada J. Vyšetření pacienta s revmatickým onemocněním. Laboratorní vyšetření. s. 53-60. **Mann H.** Diferenciální diagnostika základních syndromů. Přístup k nemocnému s revmatickým onemocněním. s. 115-119. In: Pavelka K, Vencovský J, Horák P, Šenolt L, **Mann H.** Štěpán J. Revmatologie. 2. aktualizované a rozšířené vydání. Praha: Maxdorf, [2018]. ISBN 978-80-7345-583-5.
- 5) **Mann H.** Přístup k pacientovi s podezřením na revmatické onemocnění. s. 12-18. **Mann H.** Anamnéza. s.19-26. **Mann H.** Laboratorní vyšetření. s. 44-59. **Mann H.** Idiopatické zánětlivé myopatie. s. 214-224. In: Závada J a kol. Revmatologie v klinických scénářích. 1. Vydání. Praha: Mladá Fronta, [2018]. ISBN 978-80-204-4405-9.
- 6) Vencovský J, **Mann H.** Závada J, Pavelka K, Šenolt L. Revmatoidní artritida. S. 125-137.

Mann H. Vencovský J. Idiopatické zánětlivé myopatie. S. 165-172. In: Pavelka K, Vencovský J, Šenolt L, Horák P, Olejárová M, Tomčík M, Závada J, Štěpán J. Farmakoterapie revmatických onemocnění. 1. vydání. Praha: Maxdorf, [2017]. ISBN 978-80-7345-537-8.

8. SEZNAM PŘÍLOH:

- 1) Klein M, Mann H, Pleštilová L et al. *Rheumatology (Oxford)*. 2015;54:2010-4. PMID: 26109604
- 2) Mišunová M, Svitálková T, Pleštilová L et al. *Clin Exp Rheumatol*. 2017;35:33-42. PMID: 28032847
- 3) Kochi Y, Kamatani Y, Kondo Y et al. *Ann Rheum Dis*. 2018;77:602-611. PMID: 29331962
- 4) Kryštůfková O, Hulejová H, Mann HF et al. *Arthritis Res Ther*. 2018;20:158. PMID: 30053824
- 5) Hulejová H, Kryštůfková O, Mann H et al. *Clin Exp Rheumatol*. 2016;34:222-9. PMID: 26886056
- 6) Mann H, Kryštůfková O, Zámečník J et al. Cytokine. V recenzním řízení CYTO-20-390
- 7) Pleštilová L, Mann H, Andrés Cerezo L et al. *Arthritis Res Ther*. 2014;16:468. PMID: 25359220
- 8) Andrés Cerezo L, Hulejová H, Šumová B et al. *Cytokine* 2019;116:13-20. PMID: 30684913
- 9) Vernerová L, Horváthová V, Kropáčková T et al. *Rheumatology (Oxford)*. 2020 Jan 28. [Epub ahead of print] PMID: 31990347
- 10) Tjärnlund A, Tang Q, Wick C et al. *Ann Rheum Dis*. 2018;77:55-62. PMID: 28993346
- 11) Tang Q, Ramsköld D, Krystufkova O et al. *Scand J Immunol*. 2019;89:e12732. PMID: 30451307
- 12) Klein M, Mann H, Vencovský J. *Curr Rheumatol Rep*. 2019;21:70. PMID: 31813070
- 13) Kubínová K, Dejthevaporn R, Mann H et al. *Clin Exp Rheumatol*. 2018;36 Suppl 114(5):74-81. PMID: 30296982
- 14) Kubínová K, Mann H, Vencovský J. *Curr Opin Rheumatol*. 2017;29:623-631. PMID: 28796007
- 15) Mann H, Vencovský J. *Rheuma Schweiz*. 2017;4:43-46
- 16) Mann H. Postgraduální medicína. 2017;19:75-79. bmc17011602
- 17) Vencovský J, Mann H. *Revue České lékařské akademie*. 2016;12:12-17. bmc16021475
- 18) Mann H. *Acta medicae*. 2015;4:18-20. bmc15033397