

Μοριακοί μηχανισμοί δράσης νεότερων ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων

Γ. Βέργουλας

Χειρουργική Κλινική Μεταμοσχεύσεων ΑΠΘ Ιπποκράτειο Γ.Π.Ν.Θ.

Είναι πλέον γνωστό σε όλους, ότι η ανοσοκαταστολή δεν μπορεί και δεν πρέπει να είναι ίδια σε όλους τους ασθενείς, που παίρνουν νεφρικό μόσχευμα. Κατά την αξιολόγηση του ασθενούς, πάντοτε μπαίνει το ερώτημα πόσο έντονη θα είναι η ανοσιακή του απάντηση στο μόσχευμα που θα πάρει, και εάν επαρκεί μονοθεραπεία, διπλή ανοσοκαταστολή ή χρειάζεται τριπλή ή τετραπλή διαδοχική ανοσοκαταστολή. Ο στόχος της αγωγής είναι η αποφυγή της απόρριψης του νεφρικού μοσχεύματος, αλλά ταυτόχρονα η αποφυγή των επικίνδυνων για τη ζωή λοιμώξεων, των κακοήθων νοσημάτων, η διακοπή των κορτικοστεροειδών, όποτε είναι δυνατό, και η ελάττωση των ανεπιθυμητών δράσεων των φαρμάκων. Για να επιτευχθούν τα παραπάνω, θα πρέπει να είναι γνωστή η ανοσογενετική δομή του ζεύγους δότη-λήπτη και ο τρόπος δράσης των ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων.

Μέχρι πρόσφατα υπήρχε άφθονος χρόνος να εξοικειωθεί κάποιος με ένα ανοσοκατασταλτικό φάρμακο, μέχρι να εμφανισθεί κάποιο νεότερο. Αυτό δεν ισχύει πλέον. Τα τελευταία χρό-

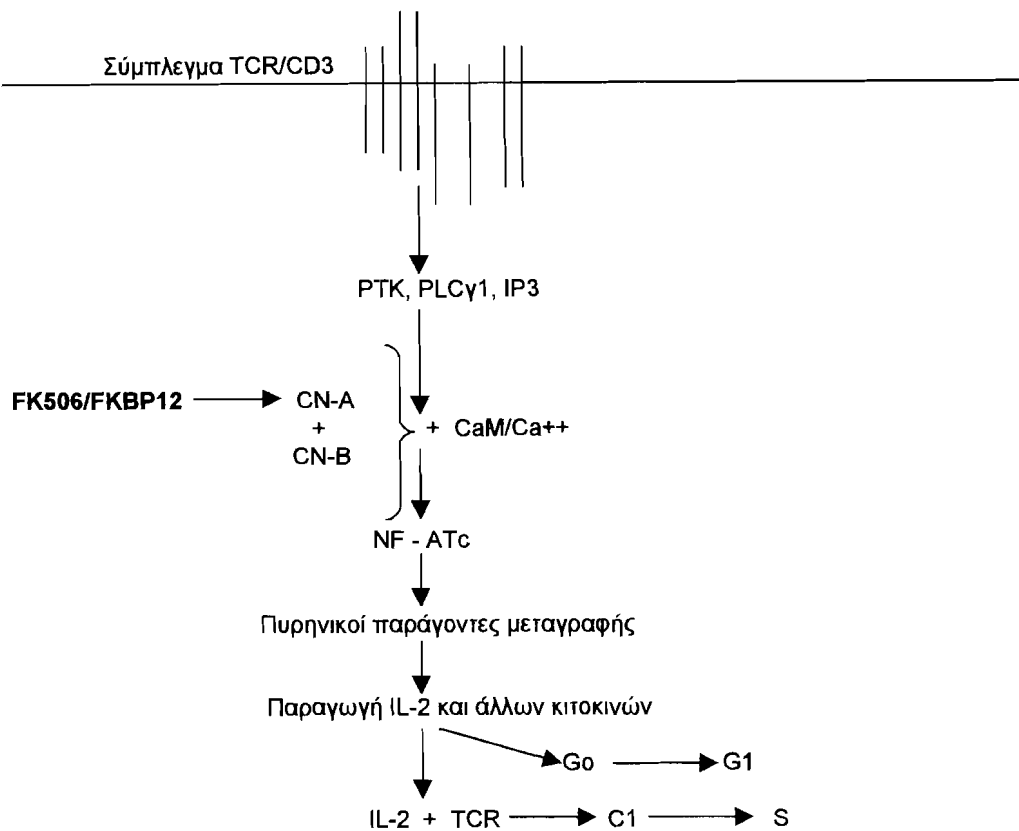
νια εμφανίσθηκαν πολλά νέα ανοσοκατασταλτικά φάρμακα, από τα οποία άλλα βρίσκονται στο τελικό στάδιο των κλινικών δοκιμών και άλλα είναι ήδη σε κλινική χρήση. Η ανάπτυξη των νέων αυτών φαρμάκων αντιπροσωπεύει μια τάση για πιο ειδική ανοσοκαταστολή. Κανένα από τα νέα φάρμακα δε στοχεύει στην ελάττωση του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων για την αποτελεσματικότητά του και η δράση τους στρέφεται κυρίως εναντίον των λειτουργιών των Τ λεμφοκυττάρων, που έχει αποδειχθεί ότι παίζουν κεντρικό ρόλο στην ειδική άνοση απάντηση της οξείας απόρριψης του μοσχεύματος αλλά και των λειτουργιών των Β λεμφοκυττάρων. Οι νέοι ανοσοκατασταλτικοί παράγοντες είναι φάρμακα που συνδέονται με κυτταροπλασματικές ανοσοφιλίνες (tacrolimus ή FK506 και sirolimus ή rapamycin) ή αναστέλλουν τη βιοσύνθεση των πουρινών (mycophenolate mofetil) ή είναι αντισώματα (χημικακά ή εξανθρωποποιημένα), που στρέφονται εναντίον του υποδοχέα της IL-2.

Ιπποκράτεια 1998, 2 (4): 147-156

ΜΕΤΑΒΙΒΑΣΗ ΤΟΥ ΕΡΕΘΙΣΜΑΤΟΣ ΣΤΟ Τ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΟ

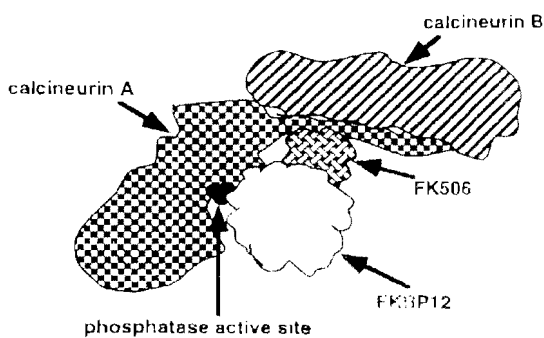
Η καλσινευρίνη είναι μια πρωτεϊνική φωσφατάση του ορού που αποτελεί βασικό παράγοντα στην εξέλιξη των γεγονότων, που αρχίζουν, όταν το ξένο αντιγόνο συνδεθεί με τον υποδοχέα του Τ λεμφοκυττάρου (TCR) και τελειώνουν με τη μεταγραφή των κυτταροκινών και την πλήρη ενεργοποίηση του Τ λεμφοκυττάρου (Σχήμα 1). Η σύνδεση του TCR με αλλοαντιγόνο ενεργοποιεί τους CD3 και Ζήτα μεταβιβαστές (transducers) με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση κινασών της τυροσίνης (συγκεκριμένα των p56^{lck}, p59^{lyn}, και ZAP-70), των συνδεδετικών πρωτεϊνών και της φωσφολιπάσης Cγ1, που προκαλούν τη λύση του λιπιδίου φωσφατιδιλική ινοσιτόλη της κυτταρικής μεμβράνης και απελευθέρωση τριφωσφορικής ινοσιτόλης (IP3) από αυτήν. Η IP3 προκαλεί άνοδο της συγκέντρωσης του ασβεστίου στο κυ-

ταρόπλασμα που ενεργοποιεί την από το Ca⁺⁺ και την καλμοδουλίνη εξαρτώμενη φωσφατάση καλσινευρίνη¹. Η καλσινευρίνη (calcineurin) είναι ένα διμερές που διαθέτει μια καταλυτική (CNA) και μία ρυθμιστική (CNB) υπομονάδα που πρέπει να συνδεθούν με το σύμπλεγμα καλμοδουλίνη/Ca⁺⁺, για να είναι λειτουργικές μετά την ενεργοποίηση του Τ λεμφοκυττάρου². Η σύνδεση αυτή προκαλεί απελευθέρωση ενός αυτοανασταλτικού επιτόπου της υπομονάδας CNA με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της καλσινευρίνης. Το σύμπλεγμα ανοσοφιλίνης/φαρμάκου συνδέεται σε μια αλληλοκαλυπτόμενη περιοχή της CNA, που επίσης αντιδρά με τη CNB και η σύνδεση αυτή αναστέλλει την καταλυτική θέση της καλσινευρίνης αλλά όχι και τη δυνατότητα σύνδεσής της με το υπόστρωμα (Εικόνα 1). Η αναστολή της δράσης της καλσινευρίνης είναι εξαιρετικού ενδιαφέροντος, διότι η ενεργοποιημένη καλσινευρίνη ενεργοποιεί βασικούς μεταγρα-



Σχήμα 1: Μεταβίβαση του ερεθίσματος μετά από διέγερση του υποδοχέα του T λεμφοκυττάρου και σημείο δράσης του FK506.

TCR: Υποδοχέας T λεμφοκυττάρου, CD3: μεταβιβαστής, PTK: πρωτεϊνική κινάση της τυροσίνης, PLCγ1: φωσφολιπάση Cγ1, IP3: τριφωσφορική ινοσιτόλη, CN(A+B): καλσινευρίνη, CaM: καλμοδουλίνη, NF-ATc: κυτταροπλασματική υπομονάδα του πυρηνικού παράγοντα των ενεργοποιημένων T λεμφοκυττάρων, IL-2: Ιντερλευκίνη 2, FKBP12: ανοσοφιλίνη που συνδέεται με το FK506.



Εικ.1: Σύνδεση του συμπλέγματος ανοσοφιλίνης (FKB12) και φαρμάκου (FK506) με την καλσινευρίνη (A,B).

φικούς παράγοντες για την ενεργοποίηση του T λεμφοκυττάρου. Ο σπουδαιότερος από αυτούς είναι ο πυρηνικός παράγοντας των ενεργοποιημένων T λεμφοκυττάρων (NFAT), ο οποίος έχει δυο υπομονάδες, μια κυτταροπλασματική, ειδική για τα T

λεμφοκύτταρα (NF-ATc) και μια πυρηνική υπομονάδα (NF-ATn). Η ενεργοποιημένη καλσινευρίνη α-ποφωσφορυλιώνει τον NF-ATc, ο οποίος στη συνέχεια μετακινείται μέσα στον πυρήνα όπου συνδέεται με τον AP-1 επάνω στο DNA¹. Η σύνδεση του NF-AT είναι σημαντική για τη μεταγραφή του αυξητικού παράγοντα των T λεμφοκυττάρων δηλ της IL-2 και συμβάλλει και στη μεταγραφή και των κυτταροκινών κ3, TNFα, TNFκB, NF(P) και TGF β⁴. Όλοι αυτοί οι παράγοντες προάγουν την είσοδο του αδρανούς T λεμφοκυττάρου από τη φάση G0 στη φάση G1. Η παραγωγή κυτταροκινών αποτελεί βασικό παράγοντα για την ενεργοποίηση του T λεμφοκυττάρου. Η IL-2 στη συνέχεια καθώς και άλλες κυτταροκίνες καταλαμβάνουν τους υποδοχείς τους και οδηγούν το T λεμφοκύτταρο από την G1 στην φάση S με τελικό αποτέλεσμα παραγωγή ενεργοποιημένων T λεμφοκυττάρων. Η δράση της καλσινευρίνης στα άλλα στάδια της άνοσης απάντησης, όπως η παρουσίαση του αντιγόνου και η παραγωγή αντισωμάτων δεν είναι σαφής.

ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΗΣ ΚΑΛΣΙΝΕΥΡΙΝΗΣ

Tacrolimus ή FK 506(Prograf)

Ο νέος αυτός παράγοντας, προέρχεται από τον *streptomyces tsukabaensis*, είναι μακρολιδικό αντιβιοτικό που έχει ισχυρή ανοσοκατασταλτική δράση, τόσο *in vitro*, όσο και *in vivo*. Παρ' όλο που διαφέρει δομικά από την κυκλοσπορίνη έχει παρόμοιο μηχανισμό δράσης. Το FK506 αναστέλλει τη λειτουργία των λεμφοκυττάρων εμποδίζοντας τη μεταγραφή και παραγωγή IL-2 και άλλων κυτταροκινών. Συνδέεται με μια ειδική ενδοκυττάρια ανοσοφιλίνη, την FK506-συνδέουσα πρωτεΐνη (FKBP12), των κυττάρων του ανοσιακού συστήματος, που έχει ενδογενή δραστηριότητα ισομεράσης και αναστέλλει τη λειτουργία της. Είναι γνωστό ότι οι ανοσοφιλίνες βοηθούν τη *de novo* πύκνωση των νεοπαραγομένων πρωτεϊνών κατά την μεταγραφή τους και μπορεί να λειτουργούν σαν τσαπερόνες⁷ στη μετακίνηση των πρωτεϊνών και την έκκρισή τους. Η ανασταλτική δράση του FK506 επάνω στη λειτουργία της FKBP12 δεν επαρκεί για να εξηγήσει την ανοσοκατασταλτική του δράση. Η βασική, αλλά όχι και η μόνη, δράση του συμπλέγματος FKBP12/FK 506 είναι η σύνδεση και η αναστολή της δράσης της καλσινευρίνη, μιας φωσφατάσης του ορού, που έχει διπλό ρόλο στη μεταγραφή των κυτταροκινών μετά την ενεργοποίηση του T λεμφοκυττάρου⁹. Η αδρανοποίηση της καλσινευρίνης στα T λεμφοκύτταρα από το σύμπλεγμα FKBP12/FK506 καταλήγει σε αναστολή της μετακίνησης του NF-ATc στον πυρήνα του κυττάρου και στην αναστολή της δράσης και άλλων παραγόντων, που συμμετέχουν στη μεταγραφή των κυτταροκινών.

Επίσης το FK506 αναστέλλει τη μετακίνηση του NFκB μέσα στον πυρήνα μετά την ενεργοποίηση του T λεμφοκυττάρου. Ο NFκB βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα αδρανών κυττάρων συνδεδεμένος με τον αναστολέα I-κB. Όταν το κύτταρο ενεργοποιηθεί ο I-κB φωσφορυλιούται και αποσυνδέεται από τον NFκB επιτρέποντας στον τελευταίο να μεταναστεύσει στον πυρήνα του κυττάρου, όπου συμμετέχει στη μεταγραφή διαφόρων κυτταροκινών. Ο FK506 αναστέλλει διάφορες I-κB κινάσες και εμποδίζει την αποσύνδεση του NFκB από τον αναστολέα του. Η αναστολή της δράσης του NFκB από τον FK506 εξηγεί την αναστολή παραγωγής της IL-2 και IL-4 από τα ενεργοποιημένα T και B λεμφοκύτταρα^{10,11}. Ο FK506 αναστέλλει την απόπτωση, που

ακολουθεί την ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων, ελαττώνοντας τη μεταγραφή του Fas-ligant, αναστέλλοντας τη δράση των παραγόντων της μεταγραφής, (NUR 77 MEF2), και αυξάνοντας τη σύνθεση Bcl-2¹¹. Επίσης αναστέλλει τα ερεθίσματα, που εξαρτώνται από το cAMP και ελαττώνει τις δραστηριότητες της πρωτεϊνικής κινάσης A και της πρωτεΐνης που αποτελεί τον απαντητικό παράγοντα στο cAMP (CREB). Η δράση αυτή θα μπορούσε να τροποποιήσει την ανοσοκατασταλτική δράση του φαρμάκου και να ενέχεται στη διαβητογόνο και νεφροτοξική δράση του¹².

Ο FK506 όχι μόνο δεν προκαλεί αυξημένη παραγωγή του TGF β, αλλά η FKBP12 συνδέεται με τους υποδοχείς τύπου I της οικογένειας των TGF β και ελαττώνει τη δράση τους¹³.

Μέρος της ανοσοκατασταλτικής δράσης του FK506 πιθανότατα οφείλεται στην ενεργοποίηση των γλυκοκορτικοειδικών υποδοχέων (GR). Μη μετασχηματισμένοι GR, οι οποίοι δε συνδέονται με το DNA, είναι ετερομερείς δομές, που περιέχουν τον υποδοχέα που συνδέει την ορμόνη και τις πρωτεΐνες θερμικής καταπληξίας (hsp) 70 και 56^{14,15}. Η ανθρώπινη hsp 56 είναι επίσης μια ανοσοφιλίνη που μπορεί να συνδεθεί με τον FK506. Ο FK 506 ενισχύει την από τον GR προκαλούμενη μεταγραφή αυξάνοντας τη δύναμη σύνδεσής του με την ορμόνη και την μετακίνηση του GR¹⁶. Η ιδιότητα αυτή θα μπορούσε να εξηγήσει τη δυνατότητα διακοπής των κορτικοστεροειδών, όταν χορηγείται FK506.

Ο FK506 επίσης έχει την ιδιότητα να ρυθμίζει τους ενδοκυττάριους διαύλους απελευθέρωσης ασβεστίου. Η FKBP12 συνδέεται φυσιολογικά με τον υποδοχέα της ριανοδίνης (ryanodine, RYR) και τον υποδοχέα της 1,4,5 τριφωσφορικής ινοσιτόλης (InsP3R, IP3). Ο RYR ενέχεται στη διέγερση και σύσπαση των γραμμωτών μυών και άλλων που μπορούν να διεγερθούν κυττάρων, ενώ ο υποδοχέας IP3 ενέχεται στην απελευθέρωση Ca²⁺, από ορμόνες και νευρομεταβιβαστές. Η καλσινευρίνη συνδέεται φυσιολογικά με τα συμπλέγματα IP3R-FKBP12 και RyR-FKBP¹² και η σύνδεση αυτή μπορεί να διακοπεί από το FK506 με αποτέλεσμα την απώλεια της ταλάντωσης των ιόντων Ca²⁺ που είναι απαραίτητη για όλες τις κυτταρικές διεργασίες που ελέγχονται από το Ca²⁺ και φυσικά και για την ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων¹⁷.

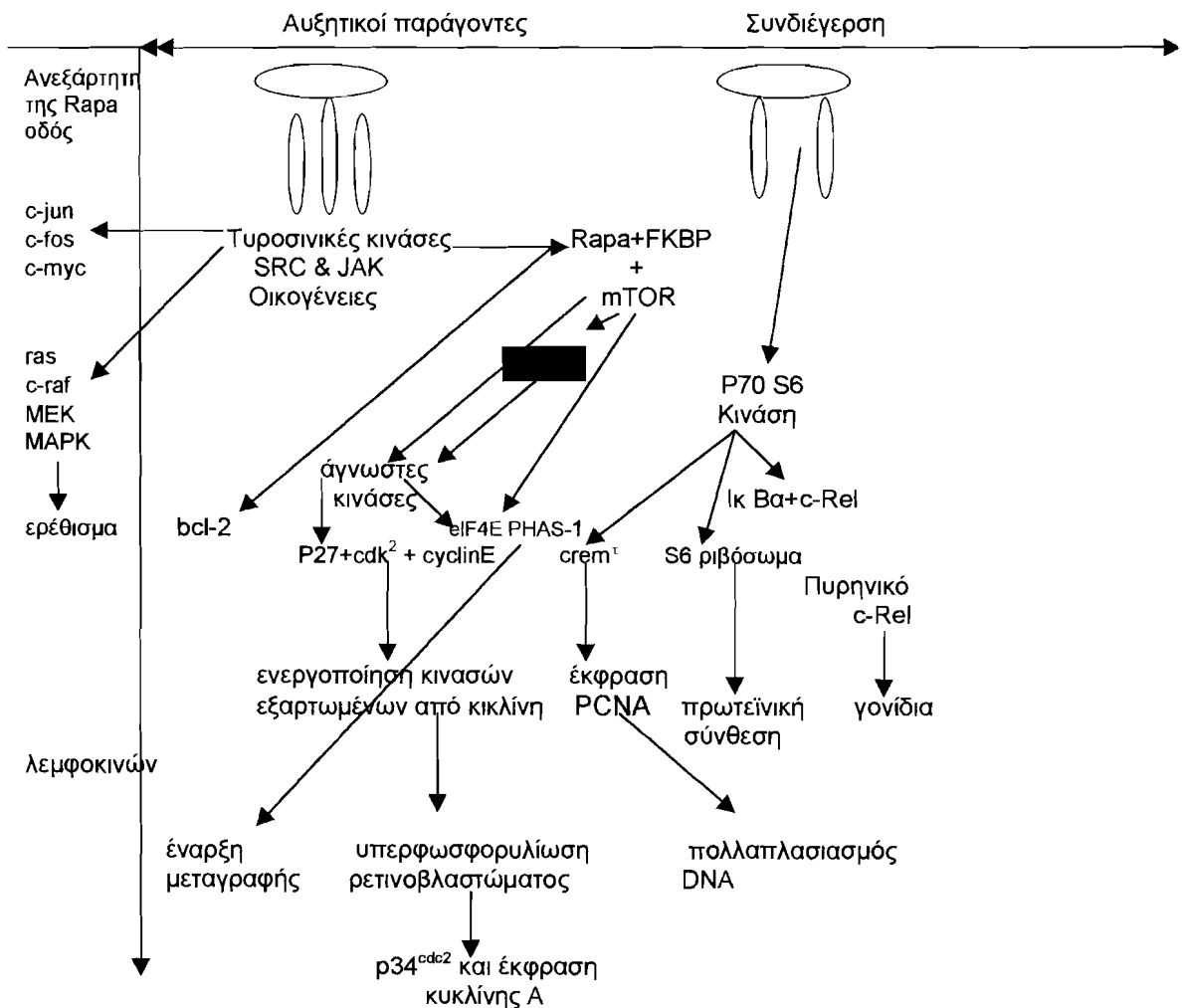
Υπάρχουν στοιχεία ότι ο FK506 όχι μόνο αναστέλλει την παραγωγή χημειοτακτικών παραγόντων, όπως η IL-8, αλλά επίσης εμποδίζει τη με-

τανάστευση των λεμφοκυττάρων σε υγιείς δότες και λήπτες ηπατικών μοσχευμάτων¹⁸. Ο FK506, πιθανόν αναστέλλει ένα γενικό μηχανισμό χημειοταξίας με την ικανότητά του να διακόπτει την οδό μεταφοράς του ερεθίσματος δια της πρωτεϊνικής κινάσης C, που συμμετέχει στον πολυμερισμό της ακτίνης και αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού, που είναι τα προαπαιτούμενα για τη μετανάστευση του κυττάρου. Η δράση του FK 506 στα μόρια ανοσοπροσκόλησης των ενδοθηλιακών κυττάρων και των λεμφοκυττάρων δεν είναι γνωστή^{19,20}. Προφανώς η με τον FK506 συνδεδεμένη FKBP12 δεσμεύει και ρυθμίζει ενδοπλασματικές οδούς μεταφοράς του Ca²⁺, που πιθανά είναι σημαντικές στην πρόκληση μηχανισμών κυτταρικής διέγερσης. Αυτό είναι το πρώτο στοιχείο ύπαρξης σημαντικών διαφορών στο μοριακό μηχανισμό δράσης FK506 και κυκλοσπορίνης²¹.

Η αναστολή της, μέσω καλσινευρίνης, ρύθμισης των Na⁺, K⁺-ATPase από το FK506 στο νεφρό, μπορεί να είναι υπεύθυνη για τη νεφροτοξικότητά του²².

Ραπαμικίνη(RAPA, Rapamycin, Sirolimus, Rapamune).

Η ραπαμικίνη αναστέλλει τη διέγερση των T λεμφοκυττάρων, που προκαλείται από Ca²⁺ εξαρτώμενα και μη ερεθίσματα²³. Έτσι αναστέλλει τη διέγερση και πολλαπλασιασμό των T λεμφοκυττάρων από την IL-2, IL-4, IL-7, IL-12, IL-15, τη διέγερση και πολλαπλασιασμό των B λεμφοκυττάρων καθώς και τη διαφοροποίησή τους σε αντισωματοπαραγωγά λεμφοκύτταρα με αποτέλεσμα την ελάττωση παραγωγής αντισωμάτων²⁴. Τα κύτταρα φονείς που ενεργοποιούνται από λεμφοκίνες (lymphokine activated killers), τα φυ-



Σχήμα 2. Τα βιοχημικά γεγονότα που αναστέλονται από την ραπαμικίνη

σικά κυτταροκτόνα (NK) κύτταρα και η αντισωματοεξαρτώμενη κυτταρο - κυτταροτοξικότητα αναστέλλονται από την ραπαμικίνη, αλλά σε πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις από αυτές που απαιτούνται, για να καταστείλουν τη δραστηριότητα των T λεμφοκυττάρων²⁹. Η ραπαμικίνη αναστέλλει την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου στο μέσο προς το τέλος της φάσης G1 και τον πολλαπλασιασμό του T λεμφοκυττάρου ακόμη και όταν δοθεί 12 ώρες μετά το ερέθισμα^{25,26}. Επιπλέον η RAPA αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών, των ενδοθηλιακών κυττάρων, των ηπατοκυττάρων και των λείων μυικών ινών, που προκαλείται από αυξητικούς παράγοντες²⁷.

Η ραπαμικίνη είναι υδρόφοβη μακροκυκλική λακτόνη, που εξάγεται από τον ακτινομύκητα *Streptomyces hygroscopicus* και που, εισερχόμενη στο κύτταρο, συνδέεται με τις κυτταροπλασματικές FKBP's²⁸. Συνδέεται με την ανοσοφιλίνη FKBP12 και σχηματίζει το σύμπλεγμα RAPA-FKBP12, που είναι το δραστικό φάρμακο (Σχήμα 2). Ο στόχος του συμπλέγματος αυτού είναι η πρωτεΐνη mTOR (mamalian target of rapamycin, FRAP, RAFT ή SEP), που διαθέτει επίτοπο κινάσης της φωσφατιδιλικής ινοσιτόλης (PI-3-K) και συμμετέχει στην εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου σε απάντηση παραγόντων της ανάπτυξης του κυττάρου, όπως η IL-2. Η επικρατούσα σήμερα άποψη είναι ότι η mTOR βρίσκεται σε κομβικό σημείο, από το οποίο το ερέθισμα της διέγερσης του υποδοχέα της IL-2 μπορεί να ακολουθήσει διάφορες κατευθύνσεις. Μια οδός οδηγεί στην ενεργοποίηση της κινάσης p70S6, η οποία α) φωσφορυλιώνει την S6 πρωτεΐνη των ριβοσωμάτων σε πολλαπλές θέσεις, γεγονός που ευνοεί την στρατολόγησή της από ενεργά πολυριβωσώματα²⁹ και αυξάνει τη μεταγραφή του mRNA β) επιτρέπει σε συνδιέγερση με τον CD28, την μετακίνηση του c-Rel (CD28 response element-binding factor) μέσα στον πυρήνα λόγω φωσφορυλιωτικής αποικοδόμησης του IκBa και την αύξηση της έκφρασης των γονιδίων της IL-2³⁰ και γ) ενεργοποιεί τον απαντητικό στοιχειακό μετασχηματιστή του cAMP (CREM), που προκαλεί την έναρξη της μεταγραφής του γονιδίου του πολλαπλασιαζομένου πυρηνικού αντιγόνου του κυττάρου (PCNA). Το PCNA είναι ένας υποχρεωτικός παράγοντας της DNA πολυμεράσης δ και απαιτείται για την εξέλιξη του κυττάρου στη φάση S²⁸. Μια άλλη οδός προκαλεί φωσφορυλίωση

του PHAS-1 (ή 4E-BP1), ενός αναστολέα της έναρξης μεταγραφής πρωτεϊνών, ο οποίος με αυτό τον τρόπο αποσυνδέεται από τον παράγοντα eIF-4E³¹. Ο τελευταίος φωσφορυλιούται και σχηματίζει το σύμπλεγμα eIF-4E/eIF-4G/eIF-4A το οποίο συνδέεται με τη θέση 5cap του mRNA και προκαλεί αύξηση της μεταγραφής του mRNA και παραγωγή πρωτεϊνών. Το σύμπλεγμα RAPA/FKBP12 δρώντας επάνω στην κινάση mTOR, και κατά ορισμένους και σε άλλες κινάσες αναστέλλει τις παραπάνω διεργασίες μεταφοράς του ερεθίσματος της IL-2 και δεν επιτρέπει την παραγωγή πρωτεϊνών και τον πολλαπλασιασμό του λεμφοκυττάρου³². Τέλος μια τρίτη οδός προκαλεί αλυσιδωτή ενεργοποίηση των με τον κυτταρικό κύκλο σχετιζομένων κινασών (cdk) και των συμπλεγμάτων κυκλίνης. Η RAPA δεν έχει επίδραση στα επίπεδα των cdk2, cdk4, και των κυκλινών D και E, αλλά ελαττώνει τη δραστηριότητα των συμπλεγμάτων cdk4-cyclin D και cdk2-cyclin E³². Η ενεργοποίησή τους κατά τη μέση και τελική φάση του G1 εξαρτάται από στοιχειομετρική μεταβολή των p21 και p27^{sup} που είναι αναστολείς των κινασών. Η RAPA εμποδίζει την εξάλειψη του p27 και p21 και εμποδίζει την ενεργοποίηση των συμπλεγμάτων cdk4/cyclinD και cdk2/cyclinE. Αποτέλεσμα όλων των ανωτέρω είναι η υπερφωσφορυλίωση της πρωτεΐνης του ρετινοβλαστώματος (RB) και η διάσπαση του συμπλέγματος RB-E2F. Η ελαττωμένη δραστηριότητα των παραγόντων μεταγραφής του E2F οδηγεί σε ελάττωση του ρυθμού παραγωγής πρωτεϊνών του κυτταρικού κύκλου, των cdc2, της κυκλίνης A και κινασών, που απαιτούνται στη μεταγραφική δραστηριότητα του κυττάρου. Αδρανοποίηση της RB ενδέχεται να αναστείλει και άλλες οδούς που ενέχονται στον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση του κυττάρου, όπως η αναστολή των πολυμερασών 1 και 3 του RNA.

Η Bcl-2 και η συνδεδεμένη με αυτή πρωτεΐνη (BAG-1) συνεργάζονται για την καταστολή της απόπτωσης που προκαλείται από σειρά ερεθισμάτων, περιλαμβανομένου και αυτού της IL-2, για τη διέγερση των T λεμφοκυττάρων. Η RAPA αναστέλλει την έκφραση του bcl-2 και BAG-1 χωρίς να επηρεάζει την έκφραση των c-fos / c-jun και c-myc³³. Η αναστολή της έκφρασης του bcl-2 και BAG-1 μπορεί να είναι σημαντική για την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου³⁴.

Mycophenolate Mofetil (RS- 61443, MMF, Cell-Cept).

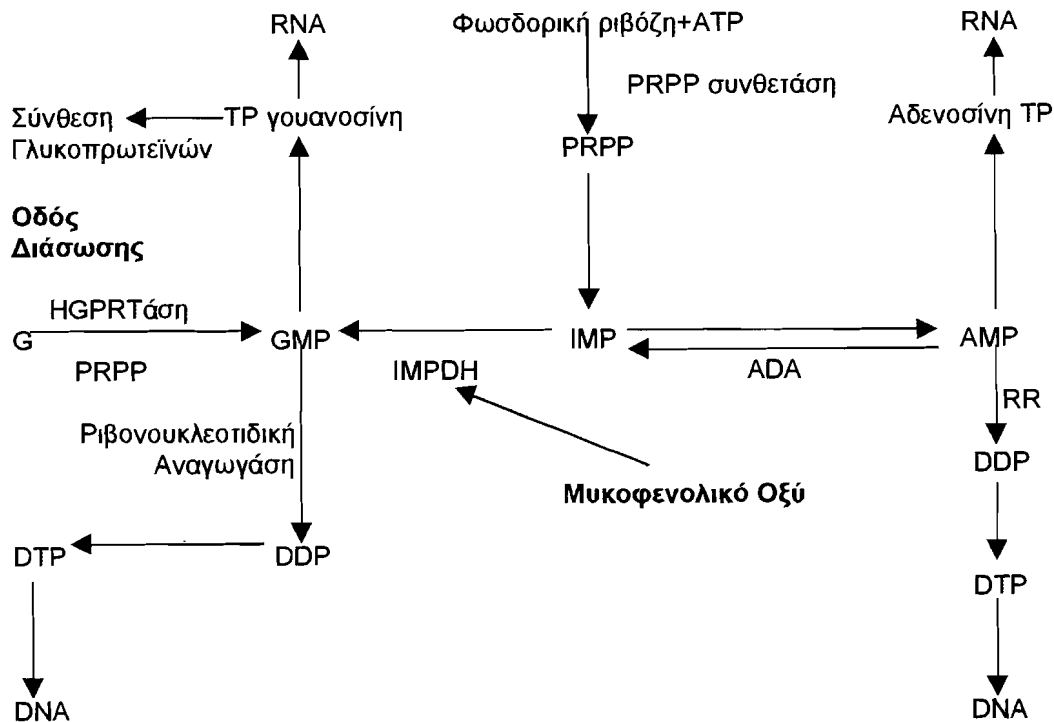
Το MMF είναι ημισυνθετικό προϊόν, αιθυλικός εστέρας του μυκοφαινολικού οξέος, ενός αντιμεταβολίτη που παράγεται από το μύκητα fungus penicillium και μεταβολίζεται στο δραστικό συστατικό μυκοφαινολικό οξύ μετά τη χορήγησή του από το στόμα^{35,36}.

Το MMF αναστέλλει τη σύνθεση πουρινών, δηλ δρα στα τελικά στάδια πολλαπλασιασμού των λεμφοκυττάρων, πολύ μεταγενέστερα από τον FK506 και την ραπαμικίνη. Στη de novo οδό σύνθεσης πουρινών, μόρια φωσφορικής ριβόζης παρουσία ATP συνθέτουν την πυροφωσφορική φωσφοριβοσίλη (PRPP) με την καταλυτική δράση της συνθετάσης της τελευταίας (Σχήμα 3).

κής ινοσίνης(IMPDH) προς παραγωγή μονοφωσφορικής ξανθίνης και στη συνέχεια μονοφωσφορικής γουανοσίνης (GMP).

Το MMF αναστέλλει ισχυρά, εκλεκτικά, αναστρέψιμα και μη ανταγωνιστικά τη de novo σύνθεση της πουρίνης γουανοσίνη, αναστέλλοντας τη δράση της μονοφωσφορικής δεϋδρογενάσης της ινοσίνης (IMPDH), με αποτέλεσμα την εξάντληση των αποθηκών των νουκλεοτιδίων της γουανοσίνης(GTP και dGTP). Η κένωση των αποθηκών των νουκλεοτιδίων της γουανοσίνης αναστέλλει τη λειτουργία της συνθετάσης του (PRPP) και της αναγωγάσης των νουκλεοτιδίων με αποτέλεσμα την αναστολή της σύνθεσης του DNA και RNA, ελαττωμένη μεταφορά μανόζης και φουκόζης στις γλυκοπρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης και ελαττωμένη παραγωγή τε-

De novo οδός



Σχήμα 3. Οδοί μεταβολισμού των πουρινών που δείχνουν την κεντρική θέση του IMPDH.

TP: τριφωσφορική, PRPP: πυροφωσφορική φωσφοριβοσίλη, IMP: μονοφωσφορική ινοσίνη, IMPDH : δεϋδρογενάση της IMP, ADA: αδενική απαμινάση, RR: ριβονουκλεοσιδική αναγωγάση, G: γουανίνη, GMP: μονοφωσφορική γουανοσίνη, HGPRTase: υποξανθινική- γουανοσινική γωσγοριβοσιλική τρανσφεράση, DDP: διφωσφορική δεοξυγουανοσίνη, DTP: τριφωσφορική δεοξυγουανοσίνη,

Μιτογόνα ερεθίσματα προκαλούν ταχεία και επίμονη αύξηση των συγκεντρώσεων PRPP στα T και B λεμφοκύτταρα³⁷. Ακολουθεί σύνθεση μονοφωσφορικής ινοσίνης (IMP), επί της οποίας δρά η δεϋδρογενάση της μονοφωσφορι-

τραϋδροβιοπτερίνης^{38,39}. Το MPA είναι περισσότερο δραστικό έναντι της IMPDH τύπου II, της οποίας η έκφραση αυξάνει κατά την ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων. Η μη ανταγωνιστική αναστολή γίνεται με τη σύνδεση του MPA στη νι-

κοτιναμιδική θέση της IMPDH που μιμείται το NAD.

Η αναστολή σύνθεσης DNA και RNA έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή πολλαπλασιασμού των T και B λεμφοκυττάρων, δεδομένου ότι τα λεμφοκύτταρα φαίνεται να εξαρτώνται αποκλειστικά από τη *de novo* σύνθεση των πουρινών, ενώ αυτό πολύ λίγο αφορά τα άλλα αιμοποιητικά και επιθηλιακά κύτταρα λόγω ύπαρξης εναλλακτικής οδού παραγωγής των απαραίτητων πουρινών (υποξανθινική-γουανοσινική φωσφορβοσιλική τρανσφεράση-HGPRT= οδός διάσωσης). Αναστέλλει τη γένεση κυτταροτοξικών T λεμφοκυττάρων εναντίον αλλογενών κυττάρων και την εξάλειψη αλλογενών κυττάρων όγκου. Η καθήλωση ραδιοσημασμένης θυμιδίνης στο DNA λεμφοκυττάρων των λεμφαδένων και του σπλήνα αναστέλλεται από το MMF. *In vitro* μελέτες έχουν αποδείξει ότι το MMF αναστέλλει το σχηματισμό αντισωμάτων από B λεμφοκύτταρα και από κύτταρα σπληνός⁴⁰. *In vivo* μελέτες σε ποντικούς έδειξαν ότι το MMF καταστέλλει την παραγωγή αντισωμάτων που προκαλείται από ένεση ερυθρών προβάτου. Αναστέλλει την παραγωγή φυσικών αντισωμάτων, που είναι σημαντικά στην έναρξη υπεροξείας απόρριψης μετά από ξενομεταμόσχευση. Το MPA καταστέλλει το σχηματισμό αντισωμάτων εναντίον αλλοαντιγόνων και αντιλεμφοκυτταρικών ορών, αλλά έχει μικρότερη δράση σε αναμνηστικές απαντήσεις έναντι παθογόνων μικροοργανισμών.

Η γλυκοζιλίωση των πρωτεϊνών και των λιπιδίων γίνεται δια των ενδιάμεσων μορφών των νουκλεοτιδίων. Η κένωση του GTP έχει ως αποτέλεσμα την ελάττωση των συγκεντρώσεων αυτών των ενδιάμεσων μορφών (μονοφωσφορική ουριδίνη) και τη μη αποτελεσματική φουκοζυλίωση και μανοζιλίωση των κυτταρικών γλυκοπρωτεϊνών⁴¹. Το πρώιμο στάδιο προσέλκυσης και καθήλωσης των λευκών στη θέση της φλεγμονής περιλαμβάνει τη δράση των σελεκτινών, που είναι μόρια προσκόλλησης. Στην προκειμένη περίπτωση οι σελεκτίνες (κύρια η E και L και το VLA), που συνδέονται με την επιφάνεια του κυττάρου μέσω ολιγοσακχαριτών, που περιέχουν φουκόζη, δε λειτουργούν. Επίσης παραβλάπεται η γλυκοζιλίωση της γλυκοπρωτεΐνης CD2, που υπάρχει στην επιφάνεια των T λεμφοκυττάρων και των φυσικών κυτταροκτόνων κυττάρων. Το μόριο CD2, ως γνωστό, μεσολαβεί στην προσκόλληση και μετάδοση του ερεθίσματος δια αντιδράσεων με τον αντίστοιχο υποδοχέα

CD58. Ο εξωκυττάριος επίτοπος του CD2 αποτελείται από δυο επιτόπους ανοσοσφαιρινών. Οι επίτοποι αυτοί φέρουν έναν υδατάνθρακα, που είναι πλούσιος σε μανόζη. Ο υδατάνθρακας αυτός παρόλο που δε συμμετέχει ευθέως στη σύνδεση CD2 και CD58, εν τούτοις σταθεροποιεί την ένωση αυτή και επιτρέπει τη μετάδοση του ερεθίσματος. Το MPA σε συγκεντρώσεις που επιτυγχάνονται σε κλινικό επίπεδο, αναστέλλει τη γλυκοζυλίωση των μεμβρανικών πρωτεϊνών στα λεμφοκύτταρα, τα μονοκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα, καθώς και τη σύνδεση των δυο πρώτων με τα τελευταία, που ήδη έχουν ενεργοποιηθεί από κυτταροκίνες. Αποτέλεσμα αυτής της δράσης είναι αδυναμία άθροισης λεμφοκυττάρων στη θέση της φλεγμονής. Η ικανότητα του MMF να αναστρέφει οξεία απόρριψη, που βρίσκεται σε εξέλιξη, πιθανό να σχετίζεται και με την ικανότητά του να αναστέλλει την άθροιση των μονοπυρήνων κυττάρων στις θέσεις απόρριψης και την επακόλουθη επίθεση των κυττάρων αυτών στα κύτταρα στόχος. Η ελάττωση της παραγωγής της τετραυδροβιοπτερίνης επηρεάζει τη σύνθεση του NO.

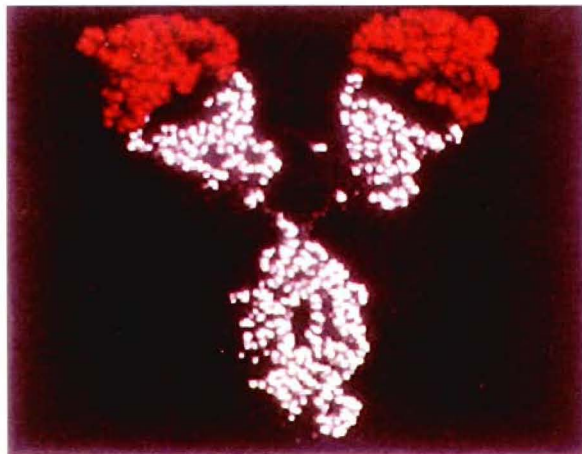
Παρά την εμφανή εκλεκτικότητά του επάνω στα λεμφοκύτταρα το MPA αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των λείων μυικών ινών των αγγείων σε κυτταρικές καλλιέργειες. Παρόμοια δράση του φαρμάκου παρατηρήθηκε και σε αορτικά μοσχεύματα ποντικών, όπου διαπιστώθηκε σημαντική ελάττωση του πολλαπλασιασμού των λείων μυικών ινών του τοιχώματος των αγγείων. Η ιδιότητα αυτή θα μπορούσε να αποδειχθεί ενδιαφέρουσα στην παρεμπόδιση της χρόνιας απόρριψης των νεφρικών μοσχευμάτων.

Το MPA δεν επηρεάζει τη λειτουργία των πολυμορφοπυρήνων. Επίσης δεν αναστέλλει την παραγωγή IL-1, IL-2 και την έκφραση του υποδοχέα της IL-2 αλλά αναστέλλει τη δράση τους στη σύνθεση του DNA και τον πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων. Δεν επηρεάζει την παραγωγή της ιντερφερόνης - γ.

Το MMF είναι ένας πιο εκλεκτικός αντιμεταβολίτης από την αζαθειοπρίνη δεδομένου ότι αναστέλλει τη σύνθεση των πουρινών δρώντας σε μια μόνο ενζυματική θέση, αυτήν της ινοσινικής μονοφωσφορικής δευδρογενάσης. Ο τρόπος δράσης του φαρμάκου διαφέρει ριζικά από αυτόν της κυκλοσπορίνης, του FK506 και του sirolimus δεδομένου ότι δεν επηρεάζει την παραγωγή των κυτταροκινών ή τα γεγονότα που ακολουθούν άμεσα την αναγνώριση του αντιγόνου.

Εξανθρωποποιημένα Μονοκλωνικά Αντισώματα (Simulect, Zenapax)

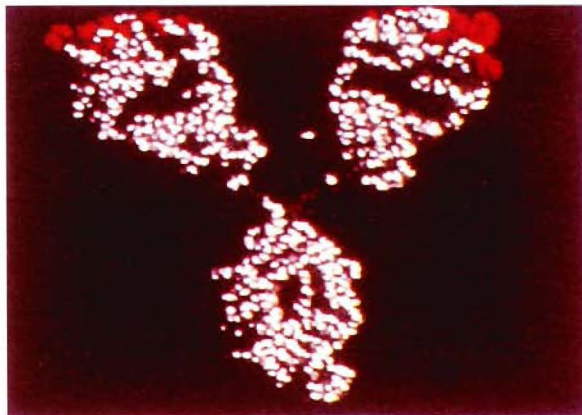
Τα μονοκλωνικά αντισώματα, που προέρχονται από τα τρωκτικά, έχουν ενδογενή μειονεκτήματα με βασικότερα α) την τάση να προκαλούν παραγωγή αντισωμάτων κατά του ποντικού, β) τη μεταβαλλόμενη αποτελεσματικότητα και γ) τη βραχεία ημιπερίοδο ζωής. Τα προβλήματα αυτά θα μπορούσαν να λυθούν με την παραγωγή ανθρώπινων αντισωμάτων, η οποία δεν προωθήθηκε, διότι παρουσίαζε μεγάλα τεχνικά και ηθικά προβλήματα. Το πρόβλημα λύθηκε με την ανάπτυξη της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA, η οποία κατέστησε δυνατή την παραγωγή πρωτεϊνών και συνεπώς και αντισωμάτων. Οι μελέτες απέδειξαν ότι οι σημαντικές για την αναγνώριση του αντιγόνου, αλληλουχίες αμινοξέων στις μεταβλητές περιοχές ενός αντισώματος, περιορίζονται στις 3 υπερμεταβλητές αγκύλες ή περιοχές καθοριστικές της συμπληρωματικότητας, οι οποίες περιβάλλονται από λιγότερο μεταβλητές περιοχές πλαισίου. Έτσι αναπτύχθηκαν τα χιμαιρικά και τα υπερχιμαιρικά ή εξανθρωποποιημένα μονοκλωνικά αντισώματα (Εικ. 2, 3). Στα χιμαιρικά μονοκλωνικά αντισώ-



Εικ.2 Σχηματική παράσταση χιμαιρικού μονοκλωνικού αντισώματος

ματα, σταθερές περιοχές ανθρώπινης ανοσοσφαιρίνης συνδέονται με μεταβλητές περιοχές ποντικού¹². Η ειδικότητα σύνδεσης του αρχικού αντισώματος του ποντικού διατηρείται, ενώ η παρουσία των ανθρώπινων Fc περιοχών εξασφαλίζει τις κατάλληλες αντιδράσεις με τις ανθρώπινες κυτταρικές δραστητικές λειτουργίες. Το χιμαιρικό αντίσωμα ως μόριο είναι λιγότερο ανοσογόνο από ένα αντίσωμα ποντικού, διότι έχει λιγότερα ξένα αμινοξέα. Η ανοσογόνος δράση παρ' όλα αυτά δεν εξαφανίζεται πλήρως, διότι ε-

ξακολουθεί να διατηρεί σημαντικά ποσά αμινοξέων ποντικού. Στα εξανθρωποποιημένα αντισώματα (HAT) μόνο οι περιοχές που καθορίζουν τη συμπληρωματικότητα αντισωμάτων ποντικών συνδέονται με ανθρώπινες σειρές αμινοξέων της περιοχής πλαίσιο, τόσο της μεταβλητής όσο και



Εικ.3 Σχηματική παράσταση εξανθρωποποιημένου μονοκλωνικού αντισώματος

της σταθερής περιοχής ανθρώπινου αντισώματος^{13,14}. Η ελάττωση του αριθμού των αμινοξέων συνδυάζεται με ελάττωση της ανοσογόνου δράσης. Το μόριο του εξανθρωποποιημένου αντισώματος είναι 90% ανθρώπινης προέλευσης¹⁵. Μια από τις πιο σημαντικές κυτταροκίνες είναι η IL-2, η οποία παράγεται από τα Τ βοηθητικά λεμφοκύτταρα, είναι αυξητικός παράγοντας των Τ λεμφοκυττάρων, ενώ παράλληλα δρα και στα Β λεμφοκύτταρα, τα φυσικά κυτταροκτόνα (NK), τα θυμοκύτταρα και τα ολιγοδενδριτικά κύτταρα. Συνδέεται ειδικά με τον υποδοχέα της IL-2 (IL-2) στα Τ και Β λεμφοκύτταρα και προκαλεί διέγερση του λεμφοκυττάρου. Η διέγερση του λεμφοκυττάρου από ένα ξένο αντιγόνο προκαλεί αυξημένη παραγωγή IL-2 και αυξημένη έκφραση του υποδοχέα της στην επιφάνεια του κυττάρου. Ο υποδοχέας αυτός έχει τρεις υπομονάδες, από τις οποίες η IL-Rβ και η IL-2Rγ εκφράζονται σταθερά στην επιφάνεια του κυττάρου. Η υπομονάδα IL-Rα (Tac) εκφράζεται στην επιφάνεια του Τ λεμφοκυττάρου μόνο όταν το τελευταίο ενεργοποιηθεί. Η σύνδεση της IL-2 με τον υποδοχέα επιτυγχάνεται μόνο όταν η υπομονάδα IL-Rα έχει συνδεθεί με τις άλλες και έχει δημιουργηθεί ο σύμπλοκος υποδοχέας, ο οποίος εκφράζει μεγάλη συγγένεια προς την IL-2¹⁶. Όταν η IL-2 συνδεθεί με τον υποδοχέα IL-2Rαβγ, ενεργοποιείται ο μηχανισμός πολλαπλασιασμού του Τ λεμφοκυττάρου, ενώ παράλληλα παράγεται μεγάλη ποσότητα IL-2.

Η παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων κα-

τά του IL-2Rα βασίστηκε στη σκέψη ότι τα αντισώματα αυτά θα μπορούσαν να αναστείλουν τη διέγερση των T λεμφοκυττάρων και συνεπώς να εμποδίσουν την απόρριψη του μοσχεύματος. Αρχικά αναπτύχθηκαν anti-Tac μονοκλωνικά αντισώματα τα οποία παρέτειναν την επιβίωση νεφρικών μοσχευμάτων σε πηθήκους⁴⁷. Σύντομα διαπιστώθηκε ότι τα αντισώματα αυτά προκαλούσαν σημαντικές ανεπιθύμητες δράσεις και ακολούθησε η παραγωγή των χιμαιρικών και εξανθρωποποιημένων αντισωμάτων τα οποία αποδείχτηκε ότι έχουν μεγάλη συγγένεια με το αντιγόνο και αναστέλλουν αποτελεσματικά την ενεργοποίηση του T λεμφοκυττάρου και τον πολλαπλασιασμό του⁴⁸.

ABSTRACT

Vergoulas G. Molecular action of new immunosuppressive agents. Hippokratia 1998, 2(4): 147 - 156

In kidney transplantation the ultimate target is " intelligent immunosuppression " where we look at each patient and ask whether he is going to be high or low responder to the transplant, whether he needs mono-, double, triple or quadruple induction therapy. Our aim is to avoid rejection but at the same time to avoid life threatening infection and malignancy by over immunosuppression, to establish the correct drug dosage, to reduce or stop steroids whenever possible and to minimize side - effects. To do that we need to know about the immunogenetic make-up of the recipient and the mode of action of the drugs concerned.

The last forty years there was plenty of time for somebody to get used with an immunosuppressive agent until the appearance of a new one. Now this is not valid. The last few years many new immunosuppressive agents have appeared and are in the final clinical testing or have been approved for clinical use. The development of these new drugs represents a trend for more specific immunosuppression. None of the new drugs has as target the fall of the number of white blood cells and their action targets the function mainly of T lymphocytes which have been proved to play a central role in the specific immune response of the acute allograft rejection. The new immunosuppressive agents are drugs that either bind with cytoplasmic immunophilines (eg tacrolimus and sirolimus), block purine biosynthesis (mycophenolate

mofetil) or finally are antibodies (chimeric and hummanized) that bind with the IL-2 receptor.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Colvin R. Cellular and molecular mechanisms of allograft rejection. *Annu Rev Med* 1990, 41:361-375
2. Klee CB, Ren H, Wang X. Regulation of the calodulin stimulated Protein Phosphatase, Calcineurin. *J Biolog Chem* 1988, 273(22):13367-13370
3. Loh C, Shaw KT, Carew J, et al. Calcineurin binds the transcription factor NFAT and reversibly regulates its activity. *J Biol Chem* 1996. 271: 10884-10891.
4. Schreiber SL and Crabtree GR. The mechanisms of action of cyclosporine A and FK506. *Immunol Today* 1992, 13:136-142.
5. Crabtree GR and Clipstone NA. Signal transmission between the plasma membrane and nucleus of T lymphocytes. *Annu Rev Biochem* 1994, 63:1045-1083
6. Rao A, Luo C, Hogan PG. Transcription factors of the NFAT family: regulation and function. *Annu Rev Immunol* 1997, 15:707-7477
7. Sepehrnia B, Paz IB, Dasgupta G, Momand J. Heat shock protein 84 forms a complex with a mutant p53 protein predominantly within a cytoplasmic compartment of the cell. *J Biol Chem* 1996, 271:15084-15090
8. Morris RE. New small molecule immunosuppressants for transplantation: review of essential concepts. *J Heart Lung Transplant* 1993,12:S275-286
9. Halloran PF. Aspects of allograft rejection. IV: evaluation of new pharmacologic agents for prevention of allograft rejection. *Transplant Rev* 1995, 9:138-145
10. Cardenas ME, Muir RS, Breuder T, Heitman J. Targets of immunophilin-immunosuppressant complexes are distinct highly conserved regions of calcineurin A. *EMBO J* 1995, 14:2772-2783
11. Hollaender GA, Bierer BE, Burakoff AJ. Molecular mechanisms of immunosuppressive drugs : Cyclosporine A, FK506 and rapamycin. In Tinley NL, Strom TB, Paul L, ed. *Transplantation Biology*, Lippincott-Raven, Philadelphia, 1996. 657-671
12. McCarthy SA, Cacchione RN, Mainwaring MS, Cairns JS. The effects of immunosuppressive drugs on the regulation of activation - induced apoptotic cell death in thymocytes. *Transplantation* 1992, 54:543-547
13. Schwaninger M, Blume R, Kruger M, Lux G, Oetjien E, Knepel W. Involvement of the Ca⁺⁺ -dependent phosphatase calcineurin in gene transcription that is stimulated by cAMP though cAMP response elements. *J Biol Chem* 1995, 270:8860-8866
14. Pratt WB. The hsp90-based chaperone system: Involvement in signal transduction from a variety of hormone and growth factor receptors. *PSEBM* 1996,217: 420-434
15. Pratt BW and Toft DO. Steroid receptor interactions with heat shock protein and immunophilin chaperones. *Endocrine Rev* 1997,18:306-360.
16. Wang T, Li B, Danielson PD, et al. The immunophilin FKPB-12 functions as a common inhibitor of the TGF-B family type I receptors. *Cell* 1996, 86:435-444
17. Sanchez ER and Ning YM. Immunophilins, heat shock pro-

- teins, and glucocorticoid receptor actions in vivo. *Methods* 1996, 9: 188-200
18. Cameron AM, Steiner JP, Roskams AJ, Ali SM, Ronnett GV, Snyder SH. Calcineurin associated with the inositol 1,4,5-triphosphate receptor FKBP12 complex modulates Ca⁺⁺ flux. *Cell* 1995, 83: 463-472
 19. Adams DH and Liu Q. FK506 inhibits human lymphocytes migration and the production of lymphocyte chemotactic factors in liver allograft recipients. *Hepatology* 1996, 23: 1476-1483
 20. Kelly PA, Burckart GJ, Venkataramanan R. Tacrolimus : a new immunosuppressive agent. *Am J Health-Syst Pharm* 1995,52: 1521-5
 21. Moris RE. Mechanisms of action of new immunosuppressive drugs. *Kidney Int* 1996,49 (Suppl 53): S26-S28
 22. Cameron AM, Steiner JP, Roskams AJ, Ali SM, Ronnett GV, Snyder SH. Calcineurin associated with the inositol 1,4,5-triphosphate receptor - KBP12 complex modulates Ca⁺⁺ flux. *Cell* 1995,83: 463-472
 23. Aperia A, Ibarra F, Svensson LB, Klee C, Greengard P. Calcineurin mediates alpha adrenergic stimulation of Na⁺, K⁽⁺⁾ - ATPase activity in renal tubule cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992, 89: 7394-7397
 24. Sehgal SN and Bansbach CC. An in vitro immunological profile of rapamycin. *Ann NY Acad Sci* 1993,685: 58-67
 25. Sehgal SN. Rapamune: mechanism of action, immunosuppressive effect results from blockade of signal transduction and inhibition of cell cycle progression. *Clin Biochem* 1998,31:335-340.
 26. Bertagnolli MM, Yang L, Herrmann SH, Kirkman RL. Evidence that rapamycin inhibits interleukin -12 induced proliferation of activated T lymphocytes. *Transplantation* 1994,58:1091-6
 27. Terada N, Lucas JJ, Szepesi A, Franklin RA, Domenico J, Gelfand EW. Rapamycin blocks cell cycle progression of activated T cells prior to events characteristic of the middle to late G1 phase of the cycle. *J Cell Physiol* 1993,154:7-15
 28. Dumont FJ, Staruch MJ, Koprak SL, Melino MR, Sigal NH. Distinct mechanisms of suppression of murine T-cell activation by the related macrolides FK506 and rapamycin. *J Immunology* 1990, 144:251-8
 29. Morris RE. Rapamycins: Antifungal, antitumor, antiproliferative and immunosuppressive macrolides. *Transplant Rev* 1992, 6:39-87
 30. Jefferies HBJ and Thomas G. Ribosomal protein S6 phosphorylation and signal transduction. In *Translational Control*, Chapter 14. Edited by Hershey JWB, Mathews MB, Sonenberg N, New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996:389-409
 31. Lawrence DJ and Abraham RT. PHAS/4E-BPs as regulators of mRNA translation and cell proliferation. *Trends Biochem Sci* 1997, 22:345-349
 32. Abraham RT. Mammalian target of rapamycin: immunosuppressive drugs uncover a novel pathway of cytokine receptor signaling. *Curr Opin Immunol* 1998,10:330-333
 33. Abraham RT. Immunopharmacology of rapamycin. *Annu Rev Immunol* 1996, 14:483-510
 34. Adachi M, Sekya M, Torigue T, et al. Interleukin - upregulates BAG-1 gene expression through serine - rich region within IL-2 receptor beta c chain. *Blood* 1996, 88: 4118-4123
 35. Miyazaki T, Liu Z, Kawahara M, et al. Three distinct IL-2 signaling pathways mediated by bcl-2, c-myc and lck cooperate in haematopoietic cell proliferation. *Cell* 1995, 81:223-231
 36. Allison AC and Eugui EM. Mycophenolate mofetil, a rationally designed immunosuppressive drug. *Clin Transpl* 1993, 7:96
 37. Shaw LM, Sollinger HW, Halloran P, et al. Mycophenolated Mofetil : a report of the consensus panel. *Therapeutic Drug Monitoring* 1995, 17:690-699
 38. Hovi T, Allison AC, Allsop J. Rapid increase of phosphoribosyl pyrophosphate concentration after mitogenic stimulation of lymphocytes. *FEBS Lett* 1975, 55:291-293
 39. Natsumeda Y, Ohno S, Kawasaki H, et al. Two distinct cDNAs for human IMP dehydrogenase. *J Biol Chem* 1990,265:5292
 40. Nagai M, Natsumeda Y, Webster G. Proliferation linked regulation of type II IMP dehydrogenase gene in human normal lymphocytes and HL-60 leukemic cells. *Cancer* 1992,52:258
 41. Eugui EM, Almquist SJ, Muller CD, Allison AC. Lymphocyte-selective Cytostatic and Immunosuppressive effects of Mycophenolic acid in vitro: Role of Deoxyguanosine Nucleotide Depletion. *Scand J Immunol* 1991, 33:161-173
 42. Waltzer WC, Miller F, Arnold A, et al. Value of percutaneous core needle biopsy in the differential diagnosis of renal transplant dysfunction. *J Urol* 1987, 137:1117-1121
 43. Morrison SL, Johnson MJ, Herzenberg LA, et al. Chimeric human antibody molecules : mouse antigen - binding domains with human constant. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984,81:6851-6855
 44. Riechmann L, Clark M, Waldmann H, et al. Reshaping human antibodies for therapy. *Nature* 1988,332:323-327
 45. Queen C, Schneider WP, Selick HE, et al. A humanized antibody that binds to the interleukin 2 receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989, 86:10029-1035
 46. Junghans RP, Waldmann TA, Landolfi NF, et al. Anti-Tac-H, a humanized antibody to interleukin 2 receptor with new features for immunotherapy in malignant and immune disorders. *Cancer Res* 1990,50:1495-1502
 47. Waldmann TA, White JD, Goldman CK, et al. The interleukin - 2 receptor : a target for monoclonal antibody treatment of human T - cell lymphotropic virus I-induced adult T-cell leukemia. *Blood* 1993,82:1701-1712
 48. Reed MH, Shapiro ME, Strom TB, et al. Prolongation of primate renal allograft survival by anti-Tac, an antihuman IL-2 receptor monoclonal antibody. *Transplantation* 1989,47:55.

Αλληλογραφία

Γ. Βέργουλας, Αλκμίνης 53
54249, Θεσσαλονίκη

Corresponding author

Vergoulas G, 53 Alkminis str
54249, Thessaloniki, Greece