

Literatura

- Abe S, Amagasaki Y, Konishi K, Kato E, Iyori S, Sakaguchi H. Idiopathic membranous glomerulonephritis: aspects of geographical differences. *J Clin Pathol* 1986;39:1193–1198.
- Cattran, DC, Appel, GB, Hebert, LA, et al. Cyclosporine in patients with steroid-resistant membranous nephropathy: A randomized trial. *Kidney Int* 2001;59:1484.
- Du Buf-Vereijken PW, Branten AJ, Wetzels JF. Cytotoxic therapy for membranous nephropathy and renal insufficiency: improved renal survival but high relapse rate. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19 (5):1142–1148. Epub 2004 Feb
- Falk, RJ, Hogan, SL, Muller, KE, et al. Treatment of progressive membranous glomerulopathy. A randomized trial comparing cyclophosphamide and corticosteroids with corticosteroids alone. *Ann Intern Med* 1992;116:438.
- Kida H, Asamoto T, Yokoyama H, Tomosugi N, Hattori N. Long-term prognosis of membranous nephropathy. *Clin Nephrol* 1986;25:64–69.
- Ponticelli, C, Zucchelli, P, Passerini, P, et al. Methylprednisolone plus chlorambucil as compared with methylprednisolone alone for the treatment of idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 1992;327:599.
- Ponticelli, C, Zucchelli, P, Passerini, P, et al. A 10-year follow-up of a randomized study with methylprednisolone and chlorambucil in membranous nephropathy. *Kidney Int* 1995;48:1600.

Protilátky proti anti-erythropoetinům a aplazie červené řady

Rosser J, Casadevall N, Eckardt KU. Anti-erythropoietin antibodies and pure red cell aplasia. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:398–406.

Vrubrice „Nemoc měsíce“ podali autoři přehled o současném stavu znalostí týkajících se vývoje anti-erythropoetinových protilátek a aplazie červené řady (pure red cell aplasia – PRCA) ve vztahu k léčbě rekombinantním erythropoetinem (rHuEPO).

Od konce 80. let 20. století byli pacienti s chronickým selháním ledvin (CHSL) léčeni rHuEPO. Zpočátku byla volena cesta nitrožilní (i.v.), později z důvodu snazší aplikace a s představou vyšší účinnosti byla rozšířena cesta podkožní (s.c.) aplikace. Případy vzniku a produkce protilátek, které nejen zablokovaly účinek rHuEPO, ale také neutralizovaly zbytkovou endogenní produkci EPO, byly zpočátku velmi vzácné. Od roku 1998 počet zaznamenaných případů stoupl – až na počet kolem 250 prokázaných či suspektních případů PRCA, které byly vázány na s.c. cestu podání, ve velké většině u nemocných léčených epoetinem α mimo území USA.

Izolovaná aplazie červené řady, vyznačující se útlumem erythropoézy a absencí erytroidních prekursorových buněk, je vzácné hematologické onemocnění, obvykle autoimunitní povahy, vyznačující se působením imunoglobulinových protilátek či cytotoxických lymfocytů T na progenitorové buňky červené řady. Jeho vznik se dává v některých případech do vztahu k přítomnosti lymfoproliferativního či systémového onemocnění či podání některých léků.

Z diagnostických a klinických příznaků PRCA vzniklé v souvislosti s léčbou rHuEPO jsou nejdůležitější: léčba rHuEPO trvající nejméně několik týdnů (obvykle 6–18 měsíců), náhlý pokles hodnot hemoglobinu při přetrvávající léčbě stejnými (či zvýšenými) dávkami rHuEPO, pokles retikulocytů (pod 10 000/mm³), počty leukocyty a destiček neklesají. Potvrzení PRCA lze dosáhnout vyšetřením kostní dřeně, která vykazuje normální buněčnost, snížené počty erytroblastů (< 5%) a blok ve vyzrávání červené krevní řady a průkazem sérových protilátek proti EPO.

Jsou k dispozici čtyři typy testů k zachycení protilátek proti EPO: radioimunoprecipitační esej (RIPA), biosenzor imunoesej (BIAcore esej), ELISA kity, *in vitro* bioesej. Nejvhodnější je test RIPA, jehož podstatou je stanovení radioaktivity vzniklé po navázání izotopově (¹²⁵I) značeného EPO na protilátky proti EPO (typu IgG). RIPA je velmi citlivý test, schopný detekovat protilátky v koncentraci 10 ng/ml a současně velmi specifický – z počtu 1 340 pacientů léčených rHuEPO bez příznaků PRCA byl test RIPA negativní prakticky u všech. Určitou nevýhodou testu RIPA je skutečnost, že není schopen odhalit přítomnost anti-EPO IgM protilátek (takže v časných fázích nemoci mohou být získány falešně negativní výsledek) a také přítomnost protilátek o nízké afinitě. Většina výše uvedených testů není schopna postihnout neutralizační schopnost protilátek proti EPO – schopnost těchto protilátek působit neutralizačně vůči endogennímu EPO lze prokázat pouze *in vitro* bioesejem. Z hlediska protilátek proti EPO je možno shrnout následující poznatky: protilátky jsou zaměřeny proti bílkovinné složce (navazují se jak na nativní, tak na deglykosylovaný EPO), rozpoznávaný epitop má konformační charakter (denaturací lze zrušit vazbu antigen-protilátka), protilátky mají obvykle povahu IgG4 (vzácně IgG1) a konečně – existuje zatím ne zcela objasněný přesmyk v tvorbě protilátek typu IgM na tvorbu protilátek typu IgG.

Výskyt PRCA se ze zcela ojedinělých popsanych případů do roku 1998 dostal do fáze zenitu v rozmezí let 1998–2002 a od roku 2002 do současnosti vykazuje zřetelný pokles. Od roku 1998 do července 2003 bylo v Evropě zaznamenáno 184 případů PRCA (a dalších 62 je ve stadiu vyšetřování) vzniklých u nemocných léčených epoetinem α (Eprex® - Ortho-Biotech) a osm případů u pacientů léčených epoetinem beta (NeoRecormon – Roche). V USA bylo zaznamenáno jen pět případů PRCA v souvislosti s léčbou epoetinem α . Od doby nejvyššího výskytu v druhé polovině roku 2001 (4,5 případů/10 000 léčených pacientů) došlo postupně k poklesu na 2,1/10 000 pacientů koncem roku 2002 a na 0,5/10 000 v první polovině roku 2003.

Ačkoli rekombinantní přípravky jsou „kopiemi“ přirozeně se vyskytujících molekul, byla tvorba protilátek (s různou klinickou závažností) podmíněna jejich imunogenitou popsána snad u všech rekombinantních látek. Skutečnost, že s.c. forma podání rHuEPO je významným rizikovým faktorem pro vznik PRCA je

v souladu se známou zkušeností, že i.v. cesta podání bývá obvykle spojena s nižší imunogenicitou (Schellekens, 2002). Je nepravděpodobné, že by se na vzniku imunitní reakce v rámci PRCA uplatňovaly odlišnosti ve skladbě (sekvenci) aminokyselin či karbohydrátové složce. Pozoruhodné je, že výšený výskyt PRCA se časově překrýval se změnou technologie výroby epoetinu α v Evropě, kdy výrobce odstranil z rHuEPO lidský sérový albumin coby stabilizátor a nahradil jej látkou Tween 80 (polysorbat 80). Byly vzneseny úvahy o tom, že tato změna a možné následné změny ve stabilitě látky (zvláště za situace, kdy nebyly plně respektovány instrukce týkající se chladového uskladnění) mohly vést ke vzniku makroagregátů. Jako další přídatný rizikový faktor byla např. uvažována kontaminace silikonem, užívaného jako lubrikační látky v předplněných injekčních stříkačkách.

Z hlediska přirozeného průběhu PRCA a její léčby je nepochybné, že základním opatřením je ukončení nebo přerušení léčby rHuEPO. Jelikož vzniklé protilátky reagují nejen s podávaným rHuEPO, ale i s endogenním EPO a se všemi dalšími variantami rHuEPO (včetně darpoetinu), nelze podávaný rHuEPO nahradit jiným přípravkem EPO a prodloužení léčby by zvýšilo riziko vzniku závažné systémové imunitní reakce. Samotné přerušení léčby však nestačí k řešení PRCA, a určitá forma imunosupresivní léčby je nezbytná (zvl. kortikosteroidy, či kortikosteroidy v kombinaci s cyklofosfamidem).

V závěru autoři naznačují, že fenomén PRCA je v současné době na ústupu. Upozorňují, že je na místě standardizovat vyšetřovací postupy (zvl. stanovení protilátek proti EPO), upřesnit definici a iniciovat vznik nezávislých registrů případů PRCA a zaujmout stanovisko k léčebnému režimu při vzniku PRCA.

KOMENTÁŘ

Doc. MUDr. Miroslav Merta, CSc.

V době, kdy byl fenomén aplazie červené řady (PRCA) vázaný na léčbu rHuEPO popisován u stále stoupajícího počtu pacientů léčených pro anémii renálního původu – tedy především v roce 2001 – strhla na sebe tato komplikace mimořádnou pozornost. Objevily se i názory, že se může jednat pouze o špičku ledovce (z hlediska možného četnějšího výskytu protilátek proti EPO s vývojem PRCA) a léčba rHuEPO může být vážně obžehována v širším měřítku. V dalším období se našťástí obavy z rozšířenějšího výskytu této komplikace nepotvrdily a dále se podařilo, alespoň částečně, odhalit některé faktory, které se mohou na výskytu PRCA podílet.

Ukázalo se, že ačkoli byly případy PRCA popsány u různých typů rHuEPO (epoetin α i β) je přece jen zřetelně častější výskyt u pacientů léčených epoetinem α . Navíc, prakticky výhradně, se tento jev objevil u pacientů léčených s.c. cestou. Možných faktorů, uplatňujících se při vzniku PRCA při léčbě rHuEPO,

byla zvažována celá řada (kromě těch, které již byly uvedeny v souhrnu článku). U nově zavedeného stabilizátoru Tween 80 (nabrazujícího lidský albumin u epoetinu α) se např. spekulovalo s možností jeho působení na vznik micel, které by na svém povrchu integrovaly molekuly rHuEPO; prostorové uspořádání rHuEPO by se tak vůči organismu příjemce stávalo zvýšeně antigenní. U epoetinu α byly zvažovány (avšak neprokázány) i další mechanismy – např. působení pryžových součástí předplněných stříkaček na uvolnění organických látek, uplatňujících se v konečné fázi na zvýšené imunogenicitě (v mezidobí byly tyto pryžové součásti stříkačky nabazeny tetrafluorovými). Je vysoce pravděpodobné, že právě mimořádná snaha o identifikaci možných faktorů uplatňujících se při vývoji PRCA a důraz na jejich odstranění (byť nebyl plně prověřen či prokázán jejich skutečný podíl) vedl v dalších letech ke snížení výskytu PRCA.

Z hlediska tvorby protilátek proti EPO je zajímavé, že vzácně byly popsány případy pacientů, u nichž se vyvinula PRCA, aniž by tito pacienti byli v minulosti léčeni rHuEPO. Je pozoruhodné, že až na dva případy (myelodysplastického syndromu) nebyl popsán výskyt PRCA v souvislosti s léčbou EPO u pacientů s maligními chorobami. Mezi hlavní důvody sníženého výskytu PRCA patří nejspíše kratší doba léčby (proti nemocným s anémií renálního původu) a odlišný (nespecifický) stav imunosuprese u těchto nemocných. V České republice se PRCA nevyskytla po žádném erythropoetinovém přípravku.

Pokud jde o potřebu uplatnit při léčbě PRCA imunosupresivní léčbu, lze uvést, že u 8 ze 45 pacientů s PRCA, u nichž nebyla kromě ukončení léčby rHuEPO nasazena žádná další léčba, přetrvávala tvorba protilátek proti EPO (s obrazem PRCA) ještě po dalších 12 měsících. Naopak u 36 ze 45 pacientů, jimž byla podána imunosupresivní léčba, protilátky vymizely a u většiny nemocných došlo k znovunastolení erytropoézy (Verbelst, 2003).

V návaznosti na výskyt PRCA byla provedena některá opatření, v jejichž důsledku patrně došlo ke snížení výskytu této komplikace: u epoetinu α změněna indikace cesty podání (z s.c. na i.v.), dále byly pozorně evidovány a monitorovány případy výskytu PRCA a celkově byla tomuto jevu věnována zvýšená pozornost a osvěta, byly uskutečněny některé technologické změny v rámci produkce a finální úpravy epoetinu α , a konečně byla věnována mimořádná péče skladovacím podmínkám a způsobu podání epoetinu α . V současné době se doporučuje, aby se aktivita nefrologů ve vztahu k jevu PRCA zaměřila především na následující činnosti (Locatelli, 2004):

- seznámit se s klinickými projevy a příznaky PRCA (mj. počty retikulocytů jsou citlivým ukazatelem PRCA);*
- u pacientů, kteří nereagují na léčbu rHuEPO očekávaným způsobem, vyloučit běžné příčiny neodpovídavosti na EPO (deficit železa, krvácení, přítomnost*

zánětlivého procesu apod.) a zacházet s nimi z hlediska další zdravotnické péče jako s pacienty s podezřením na PRCA (uskutečnit vyšetření dle doporučeného vyšetřovacího algoritmu, zahrnujícího např. stanovení počtu retikulocytů, vyšetření kostní dřeně a vyšetření protilátek proti EPO);

- *realizovat doporučení odpovědných zdravotnických orgánů a hlásit suspektní případy PRCA a uvědomovat si, že protilátky proti EPO reagují zkříženě se všemi typy EPO, a že proto je třeba v případě podezření na PRCA ukončit léčbu jakýmkoli typem rHuEPO.*

Je povzbudivé, že se výskyt PRCA v loňském roce výrazně snížil a velmi pravděpodobné, že tato problematika již do budoucna nepřesáhne rámec velmi vzácného výskytu (tj. výskyt do 1 případu na 10 000 léčených pacientů).

Literatura

Locatelli F, Aljama P, Barany P, Canaud B, Carrera F, Eckardt KU, Macdougall IC, Macleod A, Horl WH, Wiecek A, Cameron S. Erythropoiesis-stimulating agents and antibody-mediated pure red-cell aplasia: here are we now and where do we go from here? *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:288-93.

Schellekens H. The immunogenicity of biopharmaceuticals. *Neurology* 2003;61(9 Suppl 5):S11-12.

Verhelst D, Rossert J, Casadevall N, MacDougall IC, Kruger A, Eckardt KU. Treatment of antibody-mediated pure red cell aplasia. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:27A.