

# IgG-degradující enzym *Streptococcus pyogenes* (IdeS) vede k rychlému odstranění protilátek proti glomerulární bazální membráně (anti-GBM) u pacientů s refrakterní anti-GBM glomerulonefritidou

Soveri I, Molne J, Uhlin F, et al. The IgG-degrading enzyme of *Streptococcus pyogenes* causes rapid clearance of anti-glomerular basement membrane antibodies in patients with refractory anti-glomerular basement membrane disease.

*Kidney Int* 2019;96:1234–1238.

Glomerulonefritida s protilátkami proti glomerulární bazální membráně (aGBM GN) je vzácné, nicméně závažné autoimunitní onemocnění charakterizované přítomností protilátek proti nekolagenní doméně molekuly  $\alpha 3$ -řetězce kolagenu typu IV (anti-GBM PL). Deponované protilátky aktivují komplementovou kaskádu a navozují infiltraci ledvin neutrofily, což vede k rychle progredující renální dysfunkci. V mnoha případech je vzhledem k přítomnosti stejného řetězce kolagenu v bazální membráně alveolů přítomno současně krvácení do plic (Goodpastureův syndrom). Protilátkami proti GBM jsou převážně imunoglobuliny G<sub>1</sub>. Snahou terapeutických opatření je redukce koncentrací cirkulujících protilátek pomocí výměn plazmy (PE), zastavení produkce protilátek cyklofosfamidem (CPA) a snížení zánětlivé odpovědi kortikosteroidy. Terapie bývá efektivní při jejím včasném zahájení, bohužel u mnohých pacientů je onemocnění diagnostikováno v pozdním stadiu pokročilého poškození ledvin, kdy se i přes intenzivní léčbu obnovení renální funkce nepodaří dosáhnout.

IdeS (imlifikáza) je vysoce specifická endopeptidáza, která štěpí všechny podtřídy imunoglobulinů G (IgG). Během několika minut po podání dochází k rozštěpení téměř všech IgG přítomných v cirkulaci zdravých jedinců. V experimentálních studiích došlo k porušení vazby mezi (Fc) fragmentem IgG a glomerulární bazální membránou, kauzálního mechanismu renálního poškození aktivací komplementu a neutrofily.

Práce popisuje efekt léčby IdeS u tří pacientů se závažným průběhem aGBM GN refrakterním ke standardní

léčbě. Jednalo se o muže, bývalé kuřáky starší šedesáti let s předchorem dlouhým šest týdnů až tři měsíce a se zvýrazněním klinických symptomů v období týdne před přijetím do nemocnice. Žádný z pacientů neměl nápadnou plicní symptomatologii, u jednoho se objevovaly epizody intermitentní makroskopické hematurie, u jednoho docházelo k poklesu diurézy. Všichni pacienti měli vysoké koncentrace kreatininu v době stanovení diagnózy (534, 837, 2 046  $\mu\text{mol/l}$ ), u dvou byla patrna rychlá progresse. V době stanovení diagnózy měl jeden pacient zachovanou diurézu, jeden byl oligurický, u jednoho byla přítomna anurie. U dvou z pacientů dosahovala koncentrace aGBM protilátek 2 000 U/ml a více. Všichni byli léčeni pulsy methylprednisolonu, cyklofosfamidem a výměnami plazmy, jeden následně imunoabsorpce. Prvnímu pacientovi s iniciálně zachovanou diurézou byl ještě podán 1 g rituximabu. Vzhledem k přetrvávajícím vysokým koncentracím aGBM bylo rozhodnuto o podání IdeS. Další dva pacienti vzhledem k vysoké perzistující koncentraci aGBM a oligoanurii byli vyhodnoceni jako refrakterní ke standardní léčbě v časnějším stadiu. V den podání IdeS všichni pacienti absolvovali výměnu plazmy nebo imunoabsorpce. Před zahájením procedury (564, 363 U/ml) a na jejím konci (41 kE/l, 288 U/ml, 231 U/ml) byly stanoveny hodnoty aGBM. Poté po premedikaci antihistaminikem a po intravenózní aplikaci kortikosteroidů byla podána dávka IdeS 0,25 mg/kg ve 30minutové intravenózní infuzi. Pacienti byli zajištěni profylakticky antibiotiky. U žádného nedošlo k časným postinfuzním nežádoucím účinkům. Koncentrace aGBM

klesly pod referenční rozmezí ve vzorku po dvou hodinách od podání IdeS a udržely se tak několik dní. Po šestém až třináctém dni došlo u všech pacientů k reboundu hodnot aGBM. Diuréza u prvního pacienta byla stále zachovaná, u druhého stoupla na 300 ml/den, třetí zůstal anurický. Všichni zůstali závislí na léčbě dialýzou. U všech pacientů se dále pokračovalo v zahájené imunosupresivní terapii kortikosteroidy a cyklofosfamidem, první pacient dostal další dávku rituximabu. Po podání IdeS byla provedena u všech pacientů renální biopsie (2., 11., 22. den) s nálezem pokročilého onemocnění (vazivové srpky, glomeruloskleróza, tubulární atrofie a intersticiální fibróza 20–60 %). Imunohistochemické vyšetření prokázalo lineární depo-

zita IgG, detekce fragmentů Fc byla negativní u všech pacientů, F(ab)<sub>2</sub> fragmenty byly detekovány u dvou pacientů. V průběhu sledování došlo k rozvoji pneumonie u dvou pacientů (30 a 78 dní po podání IdeS), u jednoho z nich byl stav dále komplikován vývojem herpes zoster ve čtyřech měsících po aplikaci. Za 12 měsíců po aplikaci IdeS byli všichni pacienti nadále závislí na dialyzační léčbě, diuréza byla zachována u dvou ze tří pacientů.

Léčba IdeS vedla k okamžitému rozpadu cirkulujících a v ledvinách navázaných aGBM protilátek u tří pacientů s těžkým průběhem aGBM glomerulonefritidy. Snížení koncentrace nebylo následováno obnovením renální funkce ani u jednoho z nich.

## KOMENTÁŘ

Doc. MUDr. Alena Paříková, Ph.D.

*Imunoglobulin G degradující enzym S. pyogenes (IdeS, imlifidáza) je cysteinová proteáza streptokoků skupiny A, u kterých tento enzym inaktivuje opsonizované IgG protilátky navázané na bakteriální povrch. V několikastupňovém procesu IdeS specificky štěpí IgG na Fab a Fc fragmenty.<sup>1</sup> U zdravých jedinců dochází po intravenózním podání IdeS v dávce 0,24 mg/kg během několika minut k částečnému rozštěpení těžkých řetězců plazmatických IgG a do několika hodin nejsou v plazmě přítomny prakticky žádné intaktní IgG, je pozorováno pouze malé množství částečně rozštěpených IgG a přítomny jsou pouze Fab a Fc fragmenty. Syntéza nových IgG je patrná za jeden týden po aplikaci IdeS.<sup>2</sup>*

*Význam B lymfocytů, protilátek a imunitních komplexů je dobře dokumentován v řadě autoimunitních onemocnění. Léčba cílená na imunoglobuliny nebo B lymfocyty je tudíž logicky vyplývající terapeutickou možností. Úspěch depleční léčby anti-CD20 protilátkou (rituximab) u pacientů s revmatoidní artritidou nebo se systémovým lupusem je povzbuzující. Nicméně při léčbě cílené na B lymfocyty trvá na klinické poměry dlouhou dobu, než dojde k poklesu sérové koncentrace protilátek a než je patrné klinické zlepšení stavu. Je to pravděpodobně způsobeno přežíváním plazmatických buněk s dlouhou délkou života v kostní dřeni dále produkujících protilátky. Plazmaferézy a imunoabsorpce používané k odstranění cirkulujících protilátek a imunokomplexů mají rovněž své limity. Kromě neselektivního odstranění všech plazmatických komponent během plazmaferézy aktivují v případě obou metod biomateriály používané u aferéz komplement, čímž zvyšují riziko hemolýzy, trombózy a infekcí. Navozený imunodeficit při vysoké frekvenci procedur může vést k těžkým oportunním infekcím. Nedostatkem aferetických metod dále je, že protilátky jsou rovnoměrně distribuovány intravazálně i extravazálně, zánětlivé procesy probíhají hlavně ve tkáních, a ne v cirkulaci. Eliminace protilátek pouze z cirkulace tak nevede k dostatečnému potlačení zánětlivé odpovědi. Mezi autoimunitní onemocnění, u kterých je známo, že IgG hrají hlavní roli v patogenezi choroby, patří např. myasthenia gravis, autoimunitní hemolytická anémie,*

*idiopatická trombocytopenie, smíšená kryoglobulinemie, systémový lupus erythematodes, revmatoidní artritida, antifosfolipidový syndrom, pemphigus, ANCA asociovaná vaskulitida a rovněž Goodpastureův syndrom. V experimentálních modelech byla u některých z nich IdeS s úspěchem použita.<sup>3</sup> Mezi nimi i u myšího modelu anti-GBM nefritidy. Na tomto modelu byla prokázána degradace IgG navázaných na glomerulární bazální membránu pomocí IdeS provázená významnou redukcí depozice C3 a C1q složek komplementu a snížením infiltrace glomerulů leukocyty.<sup>4</sup> V kohortě 25 vysoce senzitivizovaných čekatelů na transplantaci ledviny po aplikaci imlifidázy v den transplantace 4–6 hodin před operačním výkonem, z nichž u 22 byly detekovatelné donor-specifické protilátky (DSA) v době transplantace, nebyly DSA bezprostředně po transplantaci přítomny u žádného z pacientů. Imunoglobuliny G byly inaktivovány po dobu 1–2 týdnů, po prvním týdnu byla detekovatelná syntéza nových IgG. Imunosupresivní režimy nebyly u všech pacientů stejné, v rámci indukce byly použity thymoglobulin, rituximab, alemtuzumab, intravenózní imunoglobuliny, všichni pacienti byli následně léčeni standardní kombinací takrolimus, mykofenolát, kortikosteroidy. Míra reboundu DSA byla ovlivněna typem indukční léčby. Deset pacientů vyvinulo terapeuticky ovlivnitelnou humorální rejekci v období dvou týdnů až pěti měsíců po transplantaci.<sup>5</sup>*

*V komentované práci byla podána imlifidáza u pacientů refrakterních ke standardní léčbě. I zde byl dokumentován dramatický pokles sérové koncentrace IgG téměř k nule. Při porovnání s aferetickými metodami, kde dochází během jedné procedury k odstranění přibližně 60 % makromolekul a k 90 % eliminaci imunoglobulinů je potřeba minimálně pěti procedur, je efektivita IdeS mnohem vyšší. U žádného z pacientů nedošlo k obnovení renální funkce. Proč se tak nestalo, můžeme spekulovat. V experimentálních modelech anti-GBM nefritidy hraje centrální roli ve vývoji renálních lézí T lymfocytární aktivita, navíc se ukazuje, že i samotné renální buňky exprimující interleukinové receptory mají podíl na vzniku lézí během aGBM nefritidy.<sup>6</sup> Je tudíž možné, že imunoglobulinová depozita*

nejdou jediným spouštěčem glomerulárního poškození. U dvou pacientů byly po podání IdeS detekovatelné  $F(ab)_2$  fragmenty. V experimentálním modelu navodila injekce  $F(ab)_2$  a Fab fragmentů proti tubulárním antigenům změnu permeability glomerulární membrány vedoucí k tranzitorní proteinurii při absenci histologických změn.<sup>7</sup> V neposlední řadě se nabízí vysvětlení, že odpověď na IdeS byla slabá vzhledem k pokročilosti onemocnění. Je všeobecně známo, že nejvýznamnějším faktorem ovlivňujícím prognózu pacientů je včasnost zahájení léčby před

vznikem ireverzibilních změn. Pokud se podíváme na biopsie všech tří pacientů, dominují v nich chronické změny včetně významné glomerulosklerózy a intersticiální fibrózy.

Lze shrnout, že IdeS představují možnost zvýšení efektu dosavadní standardní léčby anti-GBM nefritidy imunosupresí a aferetickými metodami. Zda včasné urychlení poklesu koncentrace anti-GBM protilátek povede ke zlepšení klinických výsledků pacientů s Goodpastureovým syndromem, je potřeba validovat v klinických studiích.

#### LITERATURA

1. von Pawel-Rammingen U, Johansson BP, Björck L. IdeS, a novel streptococcal cysteine proteinase with unique specificity for immunoglobulin G. *EMBO J* 2002;21:1607–1615.
2. Winstedt L, Järnum S, Nordahl EA, et al. Complete Removal of Extracellular IgG Antibodies in a Randomized Dose-Escalation Phase I Study with the Bacterial Enzyme IdeS – A Novel Therapeutic Opportunity. *PLoS One* 2015;10:e0132011.
3. Nandakumar KS, Holmdahl R. Therapeutic cleavage of IgG: new avenues for treating inflammation. *Trends Immunol* 2008;29:173–178.
4. Yang R, Otten MA, Hellmark T, et al. Successful treatment of experimental glomerulonephritis with IdeS and EndoS, IgG-degrading streptococcal enzymes. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25:2479–2486.
5. Jordan SC, Lorant T, Choi J, et al. IgG Endopeptidase in Highly Sensitized Patients Undergoing Transplantation. *N Engl J Med* 2017;377:442–453.
6. Luque Y, Cathelin D, Vandermeersch S, et al. Glomerular common gamma chain confers B- and T-cell-independent protection against glomerulonephritis. *Kidney Int* 2017;91:1146–1158.
7. Salant DJ, Madaio MP, Adler S, et al. Altered glomerular permeability induced by  $F(ab')_2$  and Fab' antibodies to rat renal tubular epithelial antigen. *Kidney Int* 1982;21:36–43.