

Naše skúsenosti s intravenóznymi imunoglobulínmi pri autoimunitných stavoch a malígnych nádorových ochoreniach

I. Krause, Y. Shoenfeld

Súhrn

Intravenózne imunoglobulíny (IVIg) sú v súčasnej dobe indikované pri niektorých autoimunitných ochoreniach - imunitnej trombocytopenickej purpore (ITP), Guillain-Barrého syndróme, Kawasakiho chorobe a polymyozitíde/dermatomyozitíde. Ďalej sa referovalo o priaznivej odpovedi na terapiu IVIg pri ďalších autoimunitných ochoreniach, ako je systémový lupus erythematosus, vaskulitída, inhibitory faktora VIII (1). <http://rheumatology.oupjournals.org/cgi/content/full/39/4/> - R1, <http://rheumatology.oupjournals.org/cgi/content/full/39/4/> - R2.

Kľúčové slová:

intravenózne imunoglobulíny - autoimunitné ochorenia

Summary:

Presently the intravenous immunoglobulines (IVIg) are indicated for some autoimmune diseases - immune thrombocytopenic purpura (ITP), Guillain - Barré syndrome, Kawasaki disease and polymyositis /dermatomyositis. The positive response to the IVIg therapy had also been referred in other autoimmune diseases e.g. systematic lupus erythematosus, vasculitis, factor VIII inhibitors (1). <http://rheumatology.oupjournals.org/cgi/content/full/39/4/> - R1, <http://rheumatology.oupjournals.org/cgi/content/full/39/4/> - R2.

Key words:

intravenous immunoglobulines - autoimmune diseases

IVIG AKO ANTIIDIOTYPOVÉ MODULUJÚCE AGENSY

V posledných desiatich rokoch sme pomocou experimentálnych myších modelov systémového lupus erythematosus a antifosfolipidového syndrómu (APS) skúmali, aký je mechanizmus priaznivého efektu na autoimunitné stavy. Zistili sme, že IVIg majú antiidiotypovú aktivitu pôsobiacu proti protilátkam anti-DNA a antifosfolipidovým protilátkam; regulácia idiotypovej siete a neutralizácia patogénnych autoprotílátok môže vyvolať klinickú aj sérologickú remisiu experimentálneho SLE alebo

APS [2, 3]. Vzhľadom na to, že tieto antiidiotypové protilátky majú vnútorný charakter vyvolávajúceho autoantigénu, môžu byť IVIg vhodné aj na navodenie orálnej tolerancie pri rôznych autoimunitných stavoch. Podarilo sa nám navodiť toleranciu pri experimentálnych modeloch SLE a APS perorálnou aplikáciou IVIg [4]. Naivné myši boli v experimente krmené imunoglobulínmi, čo videlo k zníženiu humorálnej reakcie, sprevádzanej významným oslabením klinickej manifestácie. Maximálny efekt sprostredkovaný CD8+ bunkami produkujúcimi TGFβ a IL-10 sa

dosiahol u myší, u ktorých sa tolerancia navodila pred indukciou ochorenia. Vzhľadom na to, že tolerančný efekt je nešpecifický, naše výsledky naznačujú možné použitie IVIg pri indukcii perorálnej tolerancie pri rôznych autoimunitných ochoreniach [4]. Zistili sme, že IVIg obsahujú široký panel antiidiotypových protílátok proti autoprotilátkam, namierených proti DNA [2,5], kardiolipínu a ďalším fosfolipidom [2] a oxidovaným lipoproteínom s nízkou denzitou [6], ale neobsahujú protilátky proti vzácnym autoprotilátkam, ako sú protilátky proti pyruvát dehydrogenáze,

asociované s primárnou biliárnou cirhózou, alebo protilátky proti NC1, asociované s Goodpastureovým syndrómom [7]. Prítomnosť týchto antiidiotypových protilátok môže vysvetľovať imunomodulačný efekt IVIg pri stavoch, ako je SLE, APS a ateroskleróza a pravdepodobne aj ITP [8]. Zistili sme, že IVIg obsahujú nielen antiidiotypové protilátky, ale aj patogénne protilátky proti DNA [8], fosfolipidom [9], gangliozidom a glykolipidom [10]. Napriek tomu aktívna imunizácia rôznymi preparátmi IVIg pri indukcii autoimunitných stavov spojených s týmito protilátkami zlyhala, pravdepodobne v dôsledku prítomnosti neutralizujúcich antiidiotypových protilátok [9,11]. Naše výsledky ďalej svedčia o dobrom bezpečnostnom profile terapie IVIg. V minulých rokoch sme mali možnosť liečiť veľké množstvo pacientov (> 200) s rôznymi autoimunitnými stavmi. V tomto prehľade uvádzame naše klinické skúsenosti s terapiou IVIg pri širokej palete autoimunitných ochorení vrátane SLE, APS, systémových vaskulitíd, fibróz a heparín-indukovanej trombocytopenie. Takisto opisujeme naše odhalenia a skúsenosti s efektom terapie IVIg pri prevencii metastáz malignít.

SYSTÉMOVÝ LUPUS ERYTHEMATOSUS (SLE)

Systémový lupus erythematosus je multisystémové autoimunitné ochorenie so značnou variabilitou klinických manifestácií, od miernych klinických nálezov s typickými laboratórnymi abnormalitami, až po život ohrozujúce stavy. Klinický priebeh SLE je veľmi variabilný a nepredvídateľný, často sa striedajú obdobia remisie a relapsov. Najčastejšími klinickými symptómami sú horúčka, slabosť, artritída, fotosenzitívnosť, vyrážka a serozitída. V priebehu ochorenia môžu byť SLE postihnuté rôzne orgánové systémy - kardiopulmonálny systém, centrálny nervový systém, obličky, a rôzne hematologické abnormality. Súčasné možnosti terapie SLE sú široké a zahŕňajú podávanie kortikosteroidov a imunosupresívnych cytotoxických látok, ktorých podanie je limitované ich toxicitou a vedľajšími účinkami. Aj napriek povzbudzivým správam o účinnosti IVIg pri autoimunitných poruchách klinická účinnosť a indikácie nie sú pri SLE zatiaľ definované. Získali sme povzbudzivé skúsenosti s terapiou IVIg pri rôznych manifestáciách

SLE, ktoré sa tu uvádzajú podľa postihnutého orgánového systému.

Neuropsychiatrické manifestácie: Pred niekoľkými rokmi sme opísali prípad 23-ročnej ženy so SLE, prijatej pre ťažkú psychózu, ktorá sa manifestovala depresiou, halucináciami a neschopnosťou vykonávať hoci len minimálne každodenné aktivity. Pacientka odmietala terapiu kortikosteroidmi, neskôr bola indikovaná na liečbu IVIg. Po terapii IVIg sa pozorovalo výrazné zlepšenie jej mentálneho stavu a pacientka bola prepustená. Počas ďalších 18 mesiacoch sledovania sa vrátila do normálneho života, neužívala žiadne lieky a nepozorovali sa u nej žiadne psychiatrické abnormality (12). V ostatnej dobe sme opísali prípad 28-ročnej pacientky so SLE, ktorá mala kontinuálnu horúčku po dobu 3 mesiacov a u ktorej sa počas niekoľkých hodín rozvinula motorická a senzorická afázia, rotačný nystagmus s deviáciou očí a ťažká nuchálna rigidita. Extenzívne vyšetrenie (zobrazovacie metódy, laboratórne testy) boli interpretované ako normálne, okrem zvýšeného tlaku likvoru pri lumbálnej punkcii, zápalového nálezu v mozgovomiechovom moku a asymetrickej kortikálnej perfúzie na jednoduchej fotónovej emisnej výpočtovej tomografii. Pacientka s cerebritídou dostala jednu kúru vysokých dávok IVIg a počas 5 dní sa jej stav zlepšil na úroveň porovnateľnú so stavom 3 mesiace pred prijatím [13].

Kardiopulmonálne postihnutie: Opísali sme pacientku s klinicky závažnou manifestáciou SLE v podobe perikarditídy, pleurálneho výpotku, proteinúrie nefrotického typu, leukopéniou a lymfopéniou. Pacientka dostala jednu kúru vysokých dávok IVIg (2,8 g/kg telesnej hmotnosti) a týždeň po terapii IVIg sa jej stav významne zlepšil. Mesiac po podaní IVIg sa znížila proteinúria, zvýšil sa počet leukocytov a lymfocytov, znížil titer antinukleárných protilátok a protilátok anti-dsDNA a vymizla perikarditída i pleuritída. Tento prípad demonštruje účinnosť IVIg pri ťažkom SLE s rôznymi klinickými manifestáciami [14]. Ďalej sme opísali prípad 58-ročnej pacientky so SLE, u ktorej sa počas terapie kortikosteroidmi vyvinula ťažká kardiálna dysfunkcia s ejekčnou frakciou ľavej komory 20 %. Koronárna angiografia ukázala normálny nález na koronárnych tepnách, čo nasvedčovalo diagnóze myokarditídy. Bola nasadená terapia vysokými dávkami IVIg, ktorá o niekoľko dní

viedla k zlepšeniu srdcovej funkcie a o mesiac k dosiahnutiu normalizácie ejekčnej frakcie (50 %) [15]. Ide o druhú správu o priaznivom efekte IVIg na sekundárnu myokarditídu pri SLE. Sherer et al. [16] opísali prípad 48-ročnej ženy, ktorú prijali pre obojstranné pleurálne výpotky. Aj napriek opakovanej pleurálnej punkcii a evakuácii tekutiny výpotky recidivovali a vyžadovali v posledných 2,5 rokoch opakované drenáže (56 hospitalizácií). Pacientka podstúpila extenzívne diagnostické vyšetrenie, ktoré odhalilo zvýšený titer antinukleárných protilátok v sére a protilátok anti-dsDNA v sére a v pleurálnej tekutine a zníženie zložiek komplementu C3 a C4 v pleurálnej tekutine. Počas tohto obdobia pacientku liečili niekoľkými rôznymi imunomodulačnými látkami, niekoľkokrát u nej vykonali talkáž a pleurektómiu, bez zjavného efektu. Potom dostala 6 kúr IVIg (2 g/kg telesnej hmotnosti) v mesačných intervaloch, nasledovala terapia cyklosporínom po dobu 4 mesiacov. Táto terapia viedla k postupnej a nakoniec kompletnej regresii pleurálnych výpotkov a po viac než 2 rokoch nemala pacientka žiadne symptómy a nedostávala žiadnu ďalšiu medikáciu.

Renálne postihnutie: Opisujeme klinickú odpoveď na terapiu IVIg u 7 pacientov s membranóznou a membranoproliferatívnou lupusovou nefritídou, refraktérnou na terapiu [17]. Boli liečení 6 kúrami (pacient 1 a 2) alebo 1 – 2 kúrami (pacienti 3 – 7) vysokých dávok IVIg. U pacientov 3 – 7 sa merali plazmatické hladiny albumínu, celkového cholesterolu, kreatinínu a titre protilátok anti-dsDNA a proteinúrie/24 hodín bezprostredne pred terapiou IVIg, po skončení terapie a s odstupom 6 mesiacov. U všetkých 7 pacientov bola odpoveď na terapiu IVIg priaznivá. U pacienta 1 bolo viditeľné 2 týždne po začiatku terapie IVIg evidentné zníženie proteinúrie, postupne regredoval nefrotický syndróm a po troch rokoch sledovania bola proteinúria celkom negatívna. Zníženie proteinúrie sa zaznamenalo aj u pacienta 2 po 4. kúre IVIg. Aj tak proteinúria dosiahla 4 mesiace po aplikácii IVIg hodnoty pred terapiou. U pacientov 3 – 7 sa znížila priemerná proteinúria po 1 – 2 kúrach IVIg a ďalej klesala po dobu ďalších 6 mesiacov. Podobne aj plazmatické hladiny cholesterolu sa znižovali a plazmatický albumín sa po IVIg zvýšil.

Levy et al. [18] zhrnuli svoje skúsenosti s klinickou odpoveďou pacientov so systé-

movým lupus erythematosus (SLE) na IVIg. 20 pacientov so SLE liečili vysokými dávkami IVIg (2 g/kg) v mesačných intervaloch, v 5-dennej terapeutickú schéme. Pacienti dostali celkovo 1 – 8 terapeutických kúr. Hodnotila sa u nich klinická odpoveď pomocou skóre *Systemic Lupus Activity Measure* (SLAM), hodnoteného pred terapiou a po jej ukončení, a po jednotlivých terapeutických kúrach sa sledovali hladiny antinukleárných protilátok (ANA), protilátok anti-dsDNA (proti natívnej DNA), anti-SS-A a anti-SS-B a ENA (proti extrahovateľným nukleárnym antigénom) a hladiny komplementu C3 a C4. Priaznivá klinická odpoveď po terapii IVIg sa zaznamenala u 17 z 20 pacientov (85 %). Určité klinické manifestácie reagovali na terapiu lepšie: artritída, horúčka, trombocytopenia a neuropsychiatrický lupus. Priemerné skóre SLAM hodnotené pred terapiou a po nej sa u 9 pacientov po terapii IVIg znížilo. U pacientov odpovedajúcich na terapiu bola viditeľná tendencia na abnormálne hladiny komplementu a protilátok (pred terapiou IVIg) v porovnaní s pacientmi refraktérnymi na IVIg, a podobne aj u odpovedajúcich pacientov sa pozorovala tendencia na normalizáciu abnormálnych hladín viac než u refraktérnych pacientov. Tieto rozdiely boli štatisticky významné len pri hladinách C4 a anti-SS-A alebo anti-SS-B pred terapiou IVIg. Naše skúsenosti ukazujú, že na IVIg odpovedá značná časť pacientov so SLE. Kombinácia klinických manifestácií, abnormálnych protilátok a komplementu môže pomôcť pri predikcii terapeutického odpovede na IVIg u pacientov so SLE. Terapia IVIg môže byť čiastočne účinná pri liečbe refraktérnej membránovej alebo membranoproliferatívnej lupusovej nefritídy.

ANTIFOSFOLIPIDOVÝ SYNDRÓM (APS) A OPAKOVANÉ STRATY PLODU

Definícia APS zahŕňa prítomnosť klinických a laboratórnych kritérií. Na diagnostiku APS by mal pacient prejsť aspoň jednou klinickou manifestáciou (vaskulárna trombóza, poruchy farchavosti) a mať jeden z typických sérologických nálezov (stredné alebo vysoké titre antikardiolipínových protilátok (aCL) alebo pozitívita testov na lupusový antikoagulant (LA), minimálne dvakrát v intervale minimálne 6 týždňov. Väčšina správ o použití IVIg pri humánom APS je zameraná na jeho tehotenské komplikácie, najmä straty plodu, existujú

však aj ďalšie kazuistické správy o terapii ďalších klinických manifestácií syndrómu (najmä hematologických). Podanie IVIg pri monoterapii alebo v kombinácii s aspirínom či heparínom viedlo k úspešnému priebehu gravidity u značnej časti pacientiek s APS s opakovanými abortami. Terapia IVIg bola úspešná u pacientiek s pozitívnymi antofosfolipidovými protilátkami, ktoré podstúpili fertilizáciu *in vitro* (IVF) [19]. Na zhodnotenie mechanizmu, ktorým IVIg imunitne modulujú manifestácie APS, sme použili experimentálny myš model, pri ktorom bol APS indukovaný, pasívne či aktívne, infúziou alebo imunizáciou patogénnymi aCL. Myšiam, u ktorých bol APS indukovaný experimentálne pasívnym transferom monoklonálnych myších aCL, sa aplikovali IVIg infúzne do chvostovej žily [20, 21]. Myši liečené IVIg mali po spárení signifikantne menej strát plodov v porovnaní s neliečenými kontrolami. V ďalšej štúdiu sme hodnotili efekt terapie IVIg na imunologické a klinické manifestácie experimentálneho primárneho APS [2]. 8 týždňov po imunizácii boli myši liečené po dobu 6 týždňov buď IVIg (kompletné molekuly), alebo fragmentmi F(ab)₂, alebo Fc. Po terapii IVIg (kompletné molekuly) a fragmentmi F(ab)₂ sa dosiahla kompletná remisia, ktorá sa prejavila normalizáciou aktivovaného parciálneho tromboplastínového času a znížením pomeru fetálnej resorbce u myší s primárnym APS. Titre autoprotilátok sa u myší znížili až na normálne hladiny. Terapia Fc fragmentmi nemala žiadny vplyv na tieto veličiny. Inhibičné štúdie poukázali na prítomnosť antiidiotypovej aktivity proti aCL protilátkam v preparáte IVIg. Terapia IVIg môže preto viesť ku klinickej i imunologickej remisii u myší s experimentálnym APS. Tento efekt môže byť sprostredkovaný manipuláciou idiotypovej siete a neutralizáciou patogénnych autoprotilátok.

Priaznivý efekt IVIg bol takisto preukázaný u žien s idiopatickými opakovanými stratami plodu. Efekt terapie IVIg sme hodnotili u pacientiek, u ktorých sa bez terapie predpokladala zlá prognóza, t. j. u žien s 5 a viacerými potratmi, u žien, ktoré potratili po paternálnej imunizácii leukocyty, alebo ktoré potratili aj napriek expresii antipaternálnej protilátky závislej od komplementu [22]. Celkovo 76 žien dostalo IVIg v dávke 400 mg/kg telesnej hmotnosti (celkovo 30 – 45 g) vo folikulár-

nej fáze cyklu, v ktorom bolo plánované tehotenstvo. Podporná dávka bola podaná pri zistení gravidity. Ich výsledky sa porovnali s neliečenou kontrolnou skupinou 74 žien. Celkovo 35 gravidít (49 %) liečených žien úspešne skončilo pôrodom živého novorodenca alebo prekonallo ranné štádium abortu v porovnaní s 24 (31 %) kontrolnými pacientkami (P = 0,04). Tieto dáta ukazujú, že IVIg môžu zabrániť ďalšiemu abortu u tejto rizikovej populácie so zlou prognózou.

IVIG PRI FIBRÓZE

Depozícia kolagénu, laminínu, fibrinogénu a ďalších molekúl je nevyhnutná pri procese zápalu a hojenia. Akumulácia nadmerného množstva týchto extracelulárnych proteínov však môže viesť k poruche funkcie vitálne dôležitých orgánov a k myelofibróze, cirhóze, pľúcnej fibróze, extraperitoneálnej fibróze alebo väzivovej premene kože. Systémová skleróza (SSc) je autoimunitné ochorenie spojivového tkaniva, charakterizované mikrovaskulárnym poškodením, ukladaním extracelulárnej matrix a fibrózou, postihujúcou najmä kožu, pľúca a gastrointestinálny trakt. Doposiaľ nebola opísaná žiadna účinná terapia difúzných fibrotických zmien. Blank et al. [23] hodnotili efekt IVIg na fibrózu kože u myší s fibrózou kože (Tsk/+). Myši Tsk/+ predstavujú myš model ochorenia podobného sklerodermii s hereditárnou fibrózou, ktorá vedie k fibróze kože pozorovanej u pacientov s humánnou SSc. Excesívna fibróza u týchto myší je výsledkom zvýšenej syntézy a akumulácie kolagénu v koži. Myši Tsk/+ dostali IVIg od 4 týždňov veku, aplikované dvakrát týždenne po dobu 4 týždňov. Kontrolným myšiam sa infundovala 2% maltóza. Expresia kolagénu v koži sa u myší Tsk/+ liečených IVIg v porovnaní s kontrolnými zvieratami znížila. Zníženú expresiu kolagénu po expozícii IVIg sprevádzalo zníženie expresie génu pre kolagén typu I. Redukcia fibrózy kože po terapii IVIg bola združená s inhibíciou TGF-β a sekreáciou IL-4 splenocyty.

Levy et al. (24) ako prví opísali odpoveď pacientov s SSc na terapiu IVIg. Troch pacientov s rýchlo progredujúcou formou ochorenia (postihujúcou najmä kožu) liečili šesťmesačnými kúrami vysokými dávkami IVIg (2 g/kg). Dvaja pacienti dostali 6 kúr IVIg podľa plánu a počas terapie sa u nich nepozorovali žiadne nežiaduce účinky či

známky progresie základného ochorenia. Tretí pacient dostal 3 kúry, potom sa uňho rozvinulo zlyhanie obličiek a neskôr zomrel na sepsu. U všetkých 3 pacientov sa zaznamenalo zníženie kožného skóre po terapii v porovnaní so stavom pred liečbou. Zdá sa teda, že terapia IVIg môže hrať rolu pri liečbe pacientov s SSc s rýchlo progresujúcim kožným postihnutím a pravdepodobne aj fibrózou ďalších cieľových orgánov. V poslednej dobe sme rozšírili skúsenosti o ďalších 14 pacientov (Arthritic & Rheum 2003, v tlači).

Myelofibróza bola opísaná ako vzácna príčina pancytopenie u pacientov s autoimunitnými chorobami. Aharon et al. [25] opísali 54-ročnú pacientku, ktorú prijali s ťažkou anémiou, ktorú neskôr pričítali fibróze kostnej drene. Počas hospitalizácie stanovili diagnózu SLE. Pacientku liečili vysokými dávkami steroidov, ale k zlepšeniu klinických symptómov a normalizácii periférneho krvného obrazu došlo až po zavedení terapie vysokými dávkami IVIg. Spolu so zlepšením periférnych hematologických parametrov sa takisto zaznamenala normalizácia architektúry kostnej drene pri opakovanej biopsii kostnej drene. Domnievame sa, že o indikácii terapie IVIg by sa malo uvažovať aj v týchto extrémnych prípadoch útlmu kostnej drene pri SLE.

SYSTÉMOVÉ VASKULITÍDY

Aktivitu autoimunitných vaskulítid nie je možné vo všetkých prípadoch kontrolovať steroidmi a imunosupresívami. Terapia IVIg sa zdá prínosná pri niekoľkých typoch vaskulítid vrátane systémových i orgánovo špecifických ochorení. Pred niekoľkými rokmi sme pozorovali pozitívny efekt IVIg u 50-ročného muža so syndrómom Churg-Straussovej, systémovou vaskulitídou, ktorá sa obvykle lieči kortikosteroidmi a cytotoxickými látkami [26]. Terapia IVIg viedla v tomto prípade k významnému zlepšeniu klinických parametrov s výrazným znížením titra protilátok proti cytoplazme neutrofilov (ANCA). Po tomto povzbudivom pozorovaní sme zisťovali, či priaznivú klinickú odpoveď na terapiu IVIg pri vaskulitídach sprevádza zníženie hladín autoprotilátok asociovaných s vaskulitídami [27]. Desiat pacientov s diagnostikovanou vaskulitídou sme liečili vysokými dávkami IVIg (2g/kg) mesačne v päťdennej schéme. Vo všetkých prípadoch išlo o pacientov, u ktorých zlyhali ostatné terapeutické prostriedky pri kontrole progresie

ochorenia. Pacientom sme podali 1 – 6 terapeutických kúr. U všetkých pacientov sme hodnotili pred terapeutickou kúrou a po nej hladiny 5 autoprotilátok združených s vaskulitídami. U 6 z 10 sme dosiahli priaznivú klinickú odpoveď na terapiu IVIg. U žiadneho z pacientov sme nepozorovali nežiaduce účinky. Hladiny ANCA sa pozvoľna znižovali súbežne s klinickým zlepšením pozorovaným pri syndróme Churg-Straussovej a Wegenerovej granulomatózy. Hladiny ANCA s afinitou pre proteín zvyšujúcu bakteriálnu permeabilitu a humánny lyzozomálny proteín sa zvýšili vždy po každej terapeutickú kúre, ale pred ďalšiu kúrou sa vrátili na normálne hodnoty. Domnievame sa, že v prípadoch, kedy zlyhajú v kontrole manifestácie ochorenia u pacientov s vaskulitídami ostatné terapeutické prostriedky vrátane imunosupresívnej terapie, predstavujú IVIg ďalšiu možnú účinnú metódu intervencie s vysokou terapeutickou odpoveďou. Efekt IVIg na progresiu ochorenia prebieha pravdepodobne niekoľkými rôznymi mechanizmami. Jedným z týchto mechanizmov je často nachádzané zníženie relevantných protilátok (pravdepodobne antiidiotopovými protilátkami obsiahnutými v IVIg). Amital et al. [28] opísali 36-ročnú pacientku s livedo vaskulitídou (*atrophie blanche*) trvajúcu 15 rokov. Po zlyhaní rôznych terapeutických modalít pacientku liečili IVIg. Pozorovali významnú regresiu kožných lézií so súbežnou úľavou od bolesti. Ide o prvú pacientku s livedo vaskulitídou, opísanú v lekárskej literatúre, ktorú liečili IVIg, pričom sa u nej dosiahol úspešný výsledok.

HEPARÍNOM INDUKOVANÁ TROMBOCYTOPÉNIA

Trombocytopenia indukovaná heparínom je relatívne častým nežiaducim účinkom heparínu, ktorý sa v širokej miere používa pri prevencii a liečbe tromboembolických porúch. Pacienti liečení heparínom, u ktorých sa rozvinie trombocytopenia, sú ohrození rozvojom vážnych tromboembolických komplikácií, ako je periférny arteriálny alebo venózný uzáver, iktus a akútny infarkt myokardu. Terapeutický prístup je veľmi komplexný, je nevyhnutné okamžité ukončenie terapie heparínom a zavedenie alternatívnej antitrombotickej terapie. Široko sa akceptuje, že mechanizmus heparínom indukovanej trombocytopenie (HIT) je imunitný, ako sa demonštrovalo

pomocou experimentálnych zvieracích modelov HIT, indukovaných idiotypovou manipuláciou [29]. Súčasné pozorovania podporujú predstavu, že HIT spôsobujú autoprotilátky proti komplexu heparín + doštičkový faktor 4, ktorý sa viaže na povrch doštičky. Preto by podanie imunomodulujúcej látky, napr. IVIg, mohlo predstavovať adekvátnu terapiu. V poslednej dobe sme liečili úspešne vysokými dávkami IVIg troch pacientov s HIT [30]. Naši traja pacienti sa pripájajú k dvom horeopísaným prípadom liečeným IVIg a poukazujú na účinnosť tohto typu terapie s minimálnymi vedľajšími účinkami. Supresia autoprotilátok proti PF4/heparínovému komplexu prostredníctvom IVIg môže nepriamo svedčiť o idiotypovej etiológii HIT.

ANTIMETASTATICKÉ EFEKTY IVIg [31, 32]

Medzi autoimunitou a zhubnými ochoreniami existuje dvojstranný vzťah. Malígne ochorenia často sprevádzajú autoimunitné fenomény. Ako príklad možno uviesť zvýšenú incidenciu Eaton-Lambert myasthenia-like syndrómu u pacientov s malobunkovým karcinómom pľúc, tymómu u pacientov s myasthenia gravis, rôznych typov epiteliálnych alebo lymfoproliferatívnych malignít u pacientov s autoimunitnou hemolytickou anémiou, trombocytopeniou alebo neutropéniou, alebo melanóm asociovaný s vitiligom [23]. Naopak u autoimunitných stavov existuje zvýšené riziko zhubných ochorení, napr. výskyt ovariálnych karcinómov u pacientov s dermatomyozitídou, lymfoproliferatívnych ochorení u pacientov s reumatoidnou artritídou, SLE a Sjögrenovým syndrómom, karcinómu pľúc u pacientov so sklerodermiou a papilárneho karcinómu štítnej žľazy u pacientov s autoimunitnou tyreoiditídou. Zhubný nádor sa môže manifestovať v dobe diagnózy autoimunitného ochorenia alebo o niekoľko rokov neskôr [33]. Keďže sa obe ochorenia do istej miery liečia podobne, študovali sme účinnosť terapie IVIg aj u malígnych ochorení [34]. Aplikácia IVIg myšiam, ktorým sa i. v. inokulovali melanómové alebo sarkómové bunky, viedla k štatisticky signifikantnej inhibícii metastáz v pľúcach a predĺžila dobu prežívania. Podobné výsledky sme pozorovali aj u myši SCID, ktorým sa inokulovali bunky humánneho melanómu SK-28. Pri tomto odlišnom modeli sa demonštrovalo v skupine liečenej IVIg zníženie počtu recidív melanómu

a predĺženie doby prežívania. Štúdie *in vitro* ukázali, že IVIg stimulujú produkciu IL-12, antitumorového a antiangiogénneho cytokínu. Okrem toho zvyšujú aktivitu NK buniek, čím možno vysvetliť ich priaznivý efekt u myši SCID (ktorým chýbajú B a T bunky, ale ktoré majú NK bunky). Výsledky naznačujú, že IVIg pôsobia ako antitumorový agens a mohli by sa stať potenciálnou terapiou prevencie tumorózneho rozsevu v humánnej medicíne. V ďalšom experimente sme sledovali efekt purifikovaného IVIg na sekreciu MMP-9 a expresiu mRNA *in vitro* pri diferencovaných humánných monocytoch [35]. Degradácia extracelulárnej matrix (ECM) je nevyhnutná pre progresiu a metastazovanie nádorových buniek. Enzýmy degradujúce ECM - metaloproteinázy matrix (MMP - produkujú ich intratumorové monocyty resp. makrofágy MMP, najmä MMP-9) majú podľa pozorovaní kľúčový význam pre rast i invazivitu tumoru. Inhibícia expresie MMP-9 by mohla preto brániť nádorovému rastu. Zistili sme, že IVIg v závislosti od dávky signifikantne redukovali množstvo produkované MMP-9 a expresiu jej MRNA. F(ab)₂, ale nie Fc fragmenty viedli k supresii aktivity MMP-9. Porovnávacie experimenty zasa ukázali, že Fc, ale nie F(ab)₂ fragmenty neutralizovali inhibičný efekt navodený IVIg. Naše výsledky ukazujú, že na dosiahnutie regulácie MMP-9 cestou IVIg je zrejme nevyhnutná aplikácia celých molekúl IgG. Naša štúdia poukazuje na ďalšie nové mechanizmy, pomocou ktorých môžu IVIg priaznivo pôsobiť pri prevencii nádorového rozsevu u ľudí. Takisto sme sa snažili určiť, či sa F(ab)₂ pripravené z IVIg viažu na bunkové štruktúry rôznych nádorových tkanív [36]. Na bioptických vzorkách 18 rôznych nádorových tkanív sme vykonali priamu imunohistochemiu pomocou dôkazu streptavidínovej peroxidázy, ktorá demonštrovala pozitivitu F(ab)₂ z IVIg v cytoplazme, bunkovej membráne a jadrovej membráne niekoľkých typov zhubných nádorov. Pozitivita IVIg v jadrách nádorových buniek bola vzácna. IVIg sa viažu na rôzne nádorové bunky epiteliálneho pôvodu, najmä karcinómu hrubého čreva, prsníka a epiteliálneho karcinómu pľúc. Pozitivita IVIg bola demonštrovaná aj pri zhubných nádoroch mezenchymálneho pôvodu, napr. leiomyosarkómu. IVIg teda obsahujú protilátky proti cytoplazme, jadrovej membráne a bunkovej membráne

rôznych malígnych tumorov, najmä epiteliálneho pôvodu. Vďaka tejto väzbe by mohla terapia pacientov s nádorových ochorením IVIg indukovať cytotoxickú odpoveď na tumor sprostredkovanú bunkami a závislú od protilátok a IVIg by tak mohli predstavovať potenciálnu adjuvantnú terapiu malígnych ochorení. Merimsky et al. [37] pozorovali pacienta s malígnym periférnym neurilemómom (schwannómom), ktorého liečili IVIg pre roztrúsenú sklerózu. Priebeh zhubného ochorenia bol oproti predpokladu nápadne dlhší a menej bolestivý a dosiahla sa remisia trvajúca 30 mesiacov. Sedem ďalších pacientov, ktorých liečili IVIg, malo relatívne agresívny priebeh (priemerná dĺžka remisie 3 mesiace). Tieto pozorovania viedli k skúmaniu vplyvu IVIg na rast sarkómu *in vitro* a *in vivo* na experimentálnom modeli MCA myši. IVIg po pridaní do kultúry sakrómových buniek MCA-105 pôsobili inhibične na inkorporáciu [H3]-tymidínu v závislosti od dávky. Tieto výsledky ukazujú, že antiproliferatívna aktivita vyplýva z apoptotického efektu IVIg na nádorové bunky. V druhej sérii experimentov sme hodnotili schopnosť IVIg po perorálnom alebo subkutánnom podaní inhibovať rast pľúcnych metastáz sarkómu MCA-105. U myši liečených s. d. alebo p. o. imunoglobulínmi sa pozorovalo zníženie priemernej hmotnosti pľúc, pričom p. o. podanie bolo účinnejšie. Výsledky ukazujú na potenciálnu aplikáciu IVIg pri terapii malígneho neurilemómu a ďalších sarkómov mäkkých tkanív. V poslednej dobe sme opísali pacienta so superficiálne rastúcim melanómom s metastázami v pečeni a pľúcach. Pacient odmietol chemoterapiu a liečil sa vysokými dávkami IVIg (2g/kg) raz za mesiac [38]. Šesť mesiacov od začiatku terapie IVIg významne regredovali metastázy v pečeni, pľúcne metastázy však ostali bez zmeny. Deväť mesiacov od začiatku terapie IVIg sa objavili nové podkožné a kostné metastázy, ktoré počas ďalších 6 mesiacov ďalej rástli, ale k signifikantným zmenám pľúcnych a pečenej lésii nedošlo. Pacient zomrel na septický stav 14 mesiacov po začiatku terapie IVIg. Ide o prvú správu, ktorá poukázala na potenciálnu účinnosť vysokých dávok IVIg v prípadoch s metastatickým rozsevom melanómu, ktorý neodpovedá na terapiu a poukazuje na ďalšiu možnosť indikácie bezpečnej terapie IVIg u niektorých pacientov s nádorovými metastázami [39].

NEŽIADUCE ÚČINKY IVIg

Nežiaduce účinky po podaní IVIg nie sú časté a ak sa objavia, sú obvykle mierne. Napriek tomu však boli opísané aj závažné nežiaduce účinky, napr. infarkt myokardu a zlyhanie obličiek. Nežiaduce účinky po podaní IVIg možno rozdeliť na tri typy: nežiaduce účinky, ktoré sa objavujú počas infúzie IVIg (včasné), napr. anafylaktoidná reakcia alebo menej závažné reakcie, ako je hypotenzia či bolesti hlavy; nežiaduce účinky, ktoré sa objavia hodiny až dni po podaní infúzie (neskoršie), napr. aseptická meningitída a neskoré účinky, napr. prenos vírusového agensa. Za účelom overenia nežiaducich účinkov a bezpečnosti strán vírusových nákaz pri terapii IVIg pri autoimunitných ochoreniach sme analyzovali 56 pacientov s rôznymi autoimunitnými ochoreniami, liečených 1 - 6 kúrami IVIg [40]. U pacientov sme hodnotili prítomnosť nežiaducich účinkov po podaní terapie IVIg a všetkých pacientov sme pred a po terapii vyšetrili na prítomnosť protilátok proti vírusu HIV, protilátok proti vírusu hepatitídy C a prítomnosť antigénu HBsAg. U 20 pacientov (36 %) sme zaznamenali minimálne jednu nežiaducu reakciu pri aspoň jednej terapeutickú kúre. Pozorovali sme bolesti hlavy, subfebríliu, zimnicu a triašku, anémiu, bolesti dolnej časti chrbta, prechodnú hypotenziu, nauzeu, zvýšené potenie a povrchové a hlboké žilové trombózy. Manifestácia nežiaducich účinkov IVIg nesúvisela s klinickou odpoveďou na terapiu či s charakterom autoimunitného ochorenia, výskyt nežiaducich účinkov pri prvej terapeutickú kúre významne predikoval vyššie riziko nežiaducich účinkov v nasledujúcich kúrach. Nepozorovali sme prenos sledovaných vírusových agensov. Napriek tomu, že sa nežiaduce účinky terapie IVIg pri autoimunitných chorobách vyskytujú u približne tretiny pacientov, sú obvykle mierne a prechodné. U pacientov, u ktorých sa rozvinuli nežiaduce účinky v priebehu prvej terapeutickú kúry, sa riziko nežiaducich účinkov v počas nasledovných terapeutických kúr zvyšuje. Zaujímavý vedľajší efekt, ktorý sme analyzovali, bolo zníženie hladiny hemoglobínu po infúzii IVIg. V experimente *in vivo* sme pozorovali sekvestráciu erytrocytov, ktorá je však prechodná a klinicky nevýznamná [41]. Vďaka veľmi nízkemu riziku závažných nežiaducich účinkov IVIg a ďalšiemu priaznivému efektu spočívajúcemu v širokospektrálnej antibakteriálnej a antivíruso-

vej aktivite [42] predstavujú IVIg atraktívny spôsob terapie širokého spektra autoimunitných chorôb, refraktérnych na konvenčnú terapiu [43] s ďalšími novými mechanizmami účinku, napr. anticytokínovým [44] či antimetaloproteinázovým efektom.

Literatúra

- Rauova L, Rovensky J, Shoenfeld Y. Immunomodulation of autoimmune diseases by high-dose intravenous immunoglobulins. *Springer Semin Immunopathol* 2001; 23: 447-57.
- Krause I, Blank M, Kopolovic J et al. Abrogation of experimental systemic lupus erythematosus and primary antiphospholipid syndrome with intravenous gamma globulin. *J Rheumatol* 1995; 22: 1068-74.
- Rauova L, Rovensky J, Shoenfeld Y. High dose intravenous immunoglobulins: a new step in the treatment of systemic lupus erythematosus. *IMAJ* 2000; 2: 388-392, 2000.
- Krause I, Blank M, Sherer Y, Gilburd B, Kvapil F, Shoenfeld Y. Induction of oral tolerance in experimental antiphospholipid syndrome by feeding with polyclonal immunoglobulins. *Eur J Immunol* 2002; 32: 3414-24.
- Shoenfeld Y, Rauova L, Gilburd B et al. Efficacy of IVIG affinity-purified anti-double-stranded DNA anti-idiotypic antibodies in the treatment of an experimental murine model of systemic lupus erythematosus. *Int Immunol* 2002; 14: 1303-11.
- Wu R, Shoenfeld Y, Sherer Y et al. Anti-idiotypes to oxidized LDL antibodies in intravenous immunoglobulin preparations—possible immunomodulation of atherosclerosis. *Autoimmunity* 2003; 36: 91-7.
- Krause I, Hacham S, Gilburd B, Damianovitch M, Blank M, Shoenfeld Y. Absence of anti-idiotypic antibodies in IVIG preparations to autoantibodies of rare autoimmune diseases. *Clin Immunol Immunopathol* 1995; 77: 229-35.
- Levy Y, Sherer Y, Ahmed A et al. Autoantibody level modification in adult patients with idiopathic thrombocytopenic purpura following intravenous immunoglobulin treatment. *Nat Immun* 1998; 16: 207-14.
- Krause I, Blank M, Shoenfeld Y. Anti-DNA and antiphospholipid antibodies in IVIG preparations: in vivo study in naive mice. *J Clin Immunol* 1998; 18: 52-60.
- Terryberry JW, Shoenfeld Y, Sherer Y et al. Detection of antibodies to gangliosides and glycolipids in various intravenous immunoglobulin (IVIG) preparations. *Immunol Invest* 2000; 29: 337-47.
- Sherer Y, Wu R, Krause I, Peter JB, Shoenfeld Y. Antiphospholipid antibody levels in intravenous immunoglobulin (IVIG) preparations. *Lupus* 2001; 10: 568-570.
- Tomer Y, Shoenfeld Y. Successful treatment of psychosis secondary to SLE with high dose intravenous immunoglobulin. *Clin Exp Rheumatol* 1992; 10: 391-3.
- Sherer Y, Levy Y, Langevitz P, Lorber M, Fabrizzi F, Shoenfeld Y. Successful treatment of systemic lupus erythematosus cerebritis with intravenous immunoglobulin. *Clin Rheumatol* 1999; 18: 170-3.
- Meissner M, Sherer Y, Levy Y, Chwalinska Sadowska H, Langevitz P, Shoenfeld Y. Intravenous immunoglobulin therapy in a patient with lupus serositis and nephritis. *Rheumatol Int* 2000; 19: 199-201.
- Sherer Y, Levy Y, Shoenfeld Y. Marked improvement of severe cardiac dysfunction after one course of intravenous immunoglobulin in a patient with systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 1999; 18: 238-40.
- Sherer Y, Langevitz P, Levy Y, Fabrizzi F, Shoenfeld Y. Treatment of chronic bilateral pleural effusions with intravenous immunoglobulin and cyclosporin. *Lupus* 1999; 8: 324-7.
- Levy Y, Sherer Y, George J et al. Intravenous immunoglobulin treatment of lupus nephritis. *Semin Arthritis Rheum* 2000; 29: 321-7.
- Levy Y, Sherer Y, Ahmed A et al. A study of 20 SLE patients with intravenous immunoglobulin—clinical and serologic response. *Lupus* 1999; 8: 705-12.
- Sherer Y, Levy Y, Shoenfeld Y. Intravenous immunoglobulin therapy of antiphospholipid syndrome. *Rheumatology (Oxford)* 2000; 39: 421-6.
- Carp HJ, Toder V, Gazit E, et al. Further experience with intravenous immunoglobulin in women with recurrent miscarriage and a poor prognosis. *Am J Reprod Immunol* 2001; 46: 268-73.
- Bakimer R, Guilburd B, Zurgil N, Shoenfeld Y. The effect of intravenous gamma-globulin on the induction of experimental antiphospholipid syndrome. *Clin Immunol Immunopathol* 1993; 69: 97-102.
- Carp HJA, Achiron R, Mashiah S, Shoenfeld Y, Gazit E, Toder V. Intravenous immunoglobulin in women with five or more abortions. *Amer J Reproductive Immunol* 1996; 35: 360 -362.
- Blank M, Levy Y, Amital H, Shoenfeld Y, Pines M, Genina O. The role of intravenous immunoglobulin therapy in mediating skin fibrosis in tight skin mice. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1689-90.
- Levy Y, Sherer Y, Langevitz P et al. Skin score decrease in systemic sclerosis patients treated with intravenous immunoglobulin—a preliminary report. *Clin Rheumatol* 2000; 19: 207-11.
- Aharon A, Levy Y, Bar Dayan Y et al. Successful treatment of early secondary myelofibrosis in SLE with IVIG. *Lupus* 1997; 6: 408-11.
- Levy Y, George J, Fabrizzi F, Rotman P, Paz Y, Shoenfeld Y. Marked improvement of Churg-Strauss vasculitis with intravenous gammaglobulins. *South Med J* 1999; 92: 412-4.
- Levy Y, Sherer Y, George J et al. Serologic and clinical response to treatment of systemic vasculitis and associated autoimmune disease with intravenous immunoglobulin. *Int Arch Allergy Immunol* 1999; 119: 231-8.
- Amital H, Levy Y, Shoenfeld Y. Use of intravenous immunoglobulin in livedo vasculitis. *Clin Exp Rheumatol* 2000; 18: 404-6.
- Blank M, Cines DB, Arepally G, Eldor A, Afek A, Shoenfeld Y. Pathogenicity of human anti-platelet factor 4 (PF4)/heparin in vivo: generation of mouse anti-PF4/heparin and induction of thrombocytopenia by heparin. *Clin Exp Immunol* 1997; 108: 333-9.
- Winder A, Shoenfeld Y, Hochman R, Keren G, Levy Y, Eldor A. High-dose intravenous gamma-globulins for heparin-induced thrombocytopenia: a prompt response. *J Clin Immunol* 1998; 18: 330-4.
- Patent No. 5.562.902: Immunotherapeutic method of treating cancerous diseases by 27b.
- Patent No. 5.965.130: Immunotherapeutic method of treating cancerous diseases by administration of gamma globulins.
- Shoenfeld Y, Gershwin EM. *Cancer and Autoimmunity*: Elsevier Publishers; 2000.
- Shoenfeld Y, Fishman P. Gamma-globulin inhibits tumor spread in mice. *Int Immunol* 1999; 11: 1247-52.
- Shapiro S, Shoenfeld Y, Gilburd B, Sobel E, Lahat N. Intravenous gamma globulin inhibits the production of matrix metalloproteinase-9 in macrophages. *Cancer* 2002; 95: 2032-7.
- Bar Dayan Y, Barshack I, Blank M et al. Antibodies to the cytoplasm, cell membrane and nuclear membrane of malignant neoplasms in pooled normal human polyspecific immunoglobulin G. *Int J Oncol* 1999; 15: 1091-6.
- Merimsky O, Meller I, Inbar M, Bar Yehuda S, Shoenfeld Y, Fishman P. A possible role for IVIg in the treatment of soft tissue sarcoma: a clinical case and an experimental model. *Int J Oncol* 2002; 20: 839-43.
- Shoenfeld Y, Levy Y, Fishman P. Shrinkage of melanoma metastases following high dose intravenous immunoglobulin treatment. *IMAJ* 2001; 3: 698-699.
- Sherer Y, Levy Y, Shoenfeld Y. IVIG in autoimmunity and cancer-efficacy versus safety. *Expert Opin Drug Saf* 2002; 1(2): 153-158.
- Sherer Y, Levy Y, Langevitz P, Rauova L, Fabrizzi F, Shoenfeld Y. Adverse effects of intravenous immunoglobulin therapy in 56 patients with autoimmune diseases. *Pharmacology* 2001; 62: 133-7.
- Kessary-Shoham H, Levy Y, Shoenfeld Y, Lorber M, Gershon H. In vivo administration of intravenous immunoglobulin (IVIG) can lead to enhanced erythrocyte sequestration. *J Autoimmunity* 1999; 13: 129-135.
- Krause I, Wu R, Sherer Y, Patanik M, Peter J, Shoenfeld Y. In vitro antiviral and antibacterial activity of commercial intravenous immunoglobulin preparations - a potential role for adjuvant intravenous immunoglobulin therapy in infectious diseases. *Transfus Med* 2002; 12: 133-139.
- Rauova L, Lukac J, Levy Y, Rovensky J, Shoenfeld Y. High-dose intravenous immunoglobulins for lupus nephritis- a salvage immunomodulation. *Lupus* 2001; 10: 209-213.
- Sherer Y, Wu R, Krause I, Gershwin A, Levy Y, Peter JB, Shoenfeld Y. Cytokine levels in various intravenous immunoglobulin (IVIG) preparations. *Hum Antibodies* 2001; 10: 51-53.
- Lev S, Gilburd B, Lahat N, Shoenfeld Y. Prevention of tumor spread by matrix metalloproteinase-9 inhibitor: old drugs, new concept. *Eur J Intern Med* 2002; 13: 101-103.

Ilan Krause MD¹
Yehuda Shoenfeld, MD, FRCP^{1,2}

¹Center for Autoimmune Diseases,
Sheba Medical Center,
Tel-Aviv University, Israel.

²Incumbent of the Laura Schwarz-Kipp,
Chair for Research of Autoimmune
Diseases, Tel-Aviv University, Israel.