

© Е.А.Орлова, С.В.Лашутин, 2004  
УДК 616.419-003.978-02-08:577.175.71

*Е.А.Орлова, С.В. Лашутин*

## ПОЛНАЯ АПЛАЗИЯ КРАСНОГО КОСТНОГО МОЗГА В РЕЗУЛЬТАТЕ ЛЕЧЕНИЯ ЭРИТРОПОЭТИНОМ

*E.A.Orlova, S.V.Lashutin*

## TOTAL APLASIA OF THE RED BONE MARROW AS A RESULT OF TREATMENT WITH ERYTHROPOIETIN

Кафедра терапии и профзаболеваний им. Е.М. Тареева Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова, Россия

**Ключевые слова:** рекомбинантный человеческий эритропоэтин, полная аплазия красного костного мозга.  
**Key words:** recombinant human erythropoietin, pure red cell aplasia.

Рекомбинантный человеческий эритропоэтин (рчЭПО) сразу же после регистрации в конце 80-х годов стал препаратом выбора при лечении анемии у больных с хронической почечной недостаточностью (ХПН). Побочные эффекты, выявленные в начале применения препарата, могли быть следствием слишком быстрого повышения гемоглобина (артериальная гипертензия, тромбозы, гиперкалиемия) в сочетании с прямым действием на негемопоэтические ткани (в том числе – стенки сосудов). В последнее время серьезной проблемой стала полная аплазия красного костного мозга (ПАККМ), проявляющаяся тяжелой нормоцитарной, нормохромной анемией, резким снижением количества ретикулоцитов ( $< 10000/\text{мм}^3$ ), при нормальном количестве гранулоцитов и тромбоцитов и почти полном отсутствии эритроидных предшественников в пунктате костного мозга (менее 5% эритробластов, данные за блок созревания).

Из-за почти полного прекращения эритропоэза, концентрация гемоглобина снижается очень быстро, со скоростью, соответствующей продолжительности жизни эритроцитов (почти 0,1 г/дл/сут, чуть меньше 1 г/дл/нед). Больные требуют еженедельных гемотрансфузий для поддержания уровня гемоглобина 70-80 г/дл [1].

Если с 1988-го, когда рчЭПО появился на рынке, по 1997-й было зарегистрировано только 3 случая ПАККМ, то в последние три года их количество превысило 100 (таблица). Следует отметить, что ПАККМ была в большинстве своем связана с единственным препаратом – эпрексом.

### Этиология

ПАККМ – это тяжелая, арегенеративная форма анемии, сопровождающаяся аплазией кроветворного кроветворного ростка костного мозга. Болезнь

вызывается эпозитин-индуцированными антителами, которые нейтрализуют не только экзогенный рчЭПО, но и перекрестно реагируют с эндогенным эритропоэтином. В результате перестают определяться сывороточные уровни эритропоэтина, а эритропоэз становится неэффективным.

Антиэритропоэтиновые антитела после терапии эпозитином альфа являются поликлональными и способны нейтрализовать очень высокие концентрации нативного ЭПО. Эти антитела относятся к классу IgG, подклассов G1 или G4, и реагируют с белковой частью ЭПО [3]. Это было продемонстрировано при удалении углеводных остатков пищеварительными ферментами, что не повлияло на аффинитет антител к эритропоэтину. Таким образом, вряд ли гликозилирование влияет на иммуногенность.

### Эпидемиология

Общепопуляционная ПАККМ обычно возникает спонтанно (в 50% случаев) или связана с тимомами (в 5% случаев), лимфо-пролиферативными (миелодисплазия, В- и Т-клеточный хронический лимфолейкоз и хронический миелолейкоз) или иммунными (аутоиммунная гемолитическая анемия, системная красная волчанка, ревматоидный артрит) заболеваниями. Иногда она развивается при приеме определенных лекарств (антиконвульсанты, антибиотики и антигиперлипидные средства) или вследствие вирусной инфекции (например, парвовируса В19 или вируса гепатита В).

У взрослых пациентов ПАККМ – это чаще всего аутоиммунное заболевание, связанное с выработкой IgG и появлением цитотоксических Т-лимфоцитов против клеток предшественниц эритропоэза или самих эритропоэтических клеток. В редких случаях она связана с появлением антител к эндогенному эритропоэтину у людей, никогда не получавших рчЭПО.

**Случаи ПАККМ, ассоциированной с антителами к рчЭПО у больных с хронической почечной недостаточностью, по данным отдела фармакологических исследований и развития компании «Johnson & Johnson»**

| Вид препарата и случаи ПАККМ           | Год неизвештен | До 1998 | 1998 | 1999 | 2000 | 2001 | 2002 | 2003 сент. | Всего |
|----------------------------------------|----------------|---------|------|------|------|------|------|------------|-------|
| Эпрекс только                          | 2              | 3       | 5    | 8    | 22   | 64   | 67   | 6          | 177   |
| Другие эритропоэтины                   | 1              | 0       | 1    | 0    | 3    | 5    | 5    | 3          | 18    |
| Расследуемые случаи                    | 5              | 2       | 0    | 5    | 11   | 16   | 18   | 6          | 63    |
| Общее количество заподозренных случаев | 8              | 5       | 6    | 13   | 36   | 85   | 90   | 15         | 258   |

Примечание. Подразумевается отсутствие или снижение эффекта рчЭПО-терапии – необъяснимое падение уровня гемоглобина или необходимость в увеличении дозы [2,4, В. Maroni, Amgen, personal communication, January 2003; E. Frohlich, F. Hoffmann-La Roche, personal communication, March 2003].

Все опубликованные случаи ПАККМ, связанные с рчЭПО, имеют отношение исключительно к больным с хроническими заболеваниями почек (ХЗП), несмотря на широкое применение этого препарата в онкологии. Онкологические больные, вероятно, менее склонны к развитию этого осложнения из-за снижения иммунного статуса, других видов терапии и менее продолжительных курсов эпотерапии [1,5].

Первые три случая иммуно-индуцированной ПАККМ в результате использования рчЭПО были выявлены между 1992–1997 гг., а с 1998 г. отмечено увеличение распространенности ПАККМ, индуцированной антителами к рчЭПО [2,4].

Интересно, что частота этого осложнения на 10 000 больных в год была намного выше для эпекса (3,32) (данные на первую половину 2002 г.), чем для эпоэтина-бета (0,12), эпогена (0,02) и дарбэпоэтина-альфа (0,5). В связи с этим компания «Johnson & Johnson» выпустила пресс-релиз, где указано, что в 94,2% случаев ПАККМ после применения эпекса препарат вводился подкожно. В декабре 2002 г. в странах Европейского Союза в аннотацию к эпексу были внесены изменения: больные с хронической почечной недостаточностью должны получать препарат только внутривенно [[http://www.jnj.com/news/jnj\\_news/20021202\\_143150.htm](http://www.jnj.com/news/jnj_news/20021202_143150.htm)]. Предпринятые меры привели к снижению заболеваемости до 0,89 случаев на 10 000 больных/год приема к первой половине 2003 г. Инструкции по применению других эритропоэтинов не менялись из-за отсутствия четких данных о том, что их использование связано с риском эпоэтининдуцированной ПАККМ. Это, однако, не исключает, что увеличение случаев ПАККМ в результате подкожного введения других поэтинов может наблюдаться в будущем [1,5].

Средний возраст больных составил 61 год, с некоторым преобладанием мужчин. Не выявлено какой-либо корреляции с причиной почечной недо-

статочности, лечением хронического заболевания почек (ХЗП), возрастом или полом, несмотря на диспропорционально более высокую распространенность этого осложнения у мужчин старше 70 лет, которые преобладают в популяции больных с терминальной почечной недостаточностью (ТПН). Средняя продолжительность лечения эритропоэтином до постановки диагноза ПАККМ была 7 месяцев, в диапазоне от 1 месяца до 5 лет [6].

#### **Структура эритропоэтина**

В настоящее время на рынке доступны три различных типа рчЭПО: эпоэтин-альфа, эпоэтин-бета и эпоэтин-омега. Все три молекулы имеют последовательность аминокислот человеческого эпоэтина, но отличаются по количеству полисахаридных цепей, содержанию углеводов. Эпоэтин-альфа имеет немного более низкую сиализацию, чем эпоэтин-бета; это объясняет небольшие различия, наблюдаемые в фармакокинетике и фармакодинамике этих двух молекул, но это вряд ли может служить причиной их различной иммуногенности.

Эпоэтин-омега содержит меньшие количества О-связанного сахара, является менее кислым, и отличается от двух других эпоэтинов по гидрофильности. В настоящее время нет сообщений о случаях ПАККМ у больных, леченных эпоэтином-омега, но и популяция больных, леченных этим препаратом, значительно меньше.

Дарбэпоэтин-альфа появился на рынке недавно. Он содержит пять N-связанных углеводных цепей (на две больше, чем рчЭПО), имеет более высокие молекулярный вес, содержание сиаловых кислот и отрицательный заряд по сравнению с другими эритропоэтинами. Поскольку последовательность аминокислот и содержание углеводов у дарбэпоэтина-альфа отличаются от человеческого ЭПО, теоретически возможно, что эта новая молекула может обладать иммуногенностью. Но до настоящего времени развития ПАККМ при применении этого препарата не наблюдалось [5].

### Путь введения и другие причины иммуногенности

Рост распространенности ПАККМ совпал с переходом с внутривенного на подкожный путь введения рчЭПО, особенно за пределами Соединенных Штатов. Нельзя исключить, что подкожный путь введения больше влияет на иммуногенность, чем внутривенный, потому что кожа имеет высокоразвитую иммунную систему. Возможно, что длительная экспозиция иммунокомпетентных клеток кожи с эпоэтином после подкожного назначения может увеличивать иммуногенность. Кроме того, подкожный способ связан с самолечением и увеличивает риск несоответствующей эксплуатации или хранения препарата. Значение условий хранения до конца не выяснено, но важно, чтобы препарат хранился при температуре между 2° и 8° С.

При проведении межнациональных исследований показано, что большинство больных с ПАККМ получало препарат подкожно (94,2%). Однако имеются страны (например Италия), где ПАККМ практически не выявлялась, несмотря на то, что большинство больных получало препарат подкожно [5].

На иммуногенность препаратов рчЭПО могут влиять факторы, не связанные с различиями между эндогенной и рекомбинантной молекулой. Например, увеличивать иммуногенность могут процесс изготовления и ингредиенты, повышающие возможность оксидации и агрегации, такие, как сухая заморозка. Компания «Johnson & Johnson» пришла к заключению, что удаление человеческого альбумина из состава эпекса в 1998 г., увеличение частоты подкожного введения (особенно самовведения) и несоблюдения условий хранения играют ведущую роль в развитии ПАККМ при применении эпекса. Не исключается также роль замены человеческого альбумина на полисорбит 80 (0,03% концентрация) и глицин для стабилизации состава эпекса. В эпоэтине-бета (неорекормон) полисорбит-80 используется в качестве стабилизатора с момента регистрации препарата. В дарберопоэтин-альфа (аранесп) также в качестве стабилизатора (в меньших концентрациях – 0,005%) используется полисорбит-80, но при этом случаи ПАККМ не наблюдаются. В качестве возможных причин повышения иммуногенности обсуждается также использование силиконового масла в качестве смазки для обработки шприцов с 1994 г. В центре самых последних исследований – органические составляющие, выщелачиваемые растворителем полисорбитом-80 из резиновых поршней шприцев для эпекса. Компания сообщает, что они

уже заменили резиновые поршни на поршни, покрытые тефлоном [6].

### Диагностика

Индукцированная антителами к рчЭПО ПАККМ – это серьезное, но, к счастью, редкое осложнение, связанное с лечением эпоэтинами. Проблема интенсивно изучается властями, производителями эритропоэтинов, независимыми учеными, обществами нефрологов, но до сих пор остается нерешенной.

Несмотря на редкость ПАККМ, вторичной к лечению рчЭПО, врачам следует помнить об этом грозном осложнении и рассматривать его в дифференциальном диагнозе у больных с быстро нарастающей анемией и/или резистентностью к лечению. Первым шагом должно быть полное обследование для уточнения характера анемии (включая оценку числа ретикулоцитов), исключение других известных причин анемии (дефицит железа, кровопотеря, инфекция, воспаление). Следующий шаг – исследование костного мозга [1,5,6].

При выявлении ПАККМ следует немедленно отменить эритропоэтин, определить анти-эритропоэтиновые антитела. Определение антител – ключевой момент в диагностике ПАККМ. В настоящее время нет стандартного скринингового метода для определения антител к эпоэтинам. Доступные исследования используют или реакции связывания, или биологические пробы. Биологические пробы остаются единственным методом, который может выявить нейтрализующую способность антител. Другие пробы включают радиоиммунную преципитацию (РИП), используемую N. Casadevall и соавт., и ELISA. Хотя прямых сравнений методов не опубликовано, РИП кажется более надежным, в то время как ELISA может иметь более низкую чувствительность и специфичность. Хотя «Amgen», «Ortho Biotech» и «Roche» предложили свои тест-системы на антитела к эпоэтинам, предпочтительны исследования тест-системами независимых лабораторий. Скрининговые тесты на антитела к эритропоэтину рекомендуются только при проведении научных исследований. В обычной клинической практике у больных, резистентных к терапии рчЭПО, при отсутствии в аспирате костного мозга признаков ПАККМ нет необходимости определять антитела к эритропоэтину [1,5,6].

### Лечение

В связи с тем, что антитела к чрЭПО являются нейтрализующими и будут перекрестно реагировать как со всеми, доступными в настоящее время экзогенными эритропоэтинами, так и с эндогенным эритропоэтином, любая эритропоэтическая

кая терапия должна быть прекращена немедленно при подозрении на ПАККМ.

Опыт по лечению ПАККМ остается минимальным. Почти половина пациентов, отвечают на иммунодепрессанты. Описано применение как только кортикостероидов, так и в сочетании с циклоспорином или циклофосфаном, иммуноглобулином или плазмаферезом. Хорошие результаты наблюдались при применении стероидов в сочетании с циклофосфаном, а также при лечении циклоспорином. Лучшие результаты наблюдались у больных после трансплантации почки, вероятно, потому, что назначаемая после трансплантации иммуносупрессивная терапия может быть эффективной при ПАККМ [5,6].

После отмены рчЭПО титр антител снижался медленно у всех больных. Предполагается, что иммунодепрессанты ускоряли снижение титра антител и, возможно, позволили восстановить эритропоэз до уровня, предшествующего терапии эритропоэтинами. Тем не менее, предварительные данные показывают, что почти 40% больных остаются зависимыми от гемотрансфузий даже после 2 лет иммуносупрессивной терапии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Терапия рчЭПО – широко распространенный вид лечения почечной анемии. Этот продукт молекулярной генетической технологии используется более 15 лет и имеет превосходный терапевтический индекс (селективное и мощное влияние на эритропоэз, сопровождающееся таки-

ми побочными эффектами, как усугубление артериальной гипертензии или тромбические осложнения). У больных в додиализной стадии ХЗП рчЭПО также снижает заболеваемость и смертность, и также оказывает положительное влияние на сердечную функцию. Кроме того, коррекция анемии существенно улучшает самочувствие и качество жизни больных. Заметное повышение распространенности ПАККМ, наблюдаемое в последние годы, заслуживает особенного внимания; однако мы должны сопоставлять ее серьезность и чрезвычайную редкость с высоким числом больных с ХЗП, умирающих ежегодно от сердечно-сосудистых осложнений, которые могли бы быть частично уменьшены лечением анемии.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Eckardt K-U, Casadevall N. Pure red-cell aplasia due to anti-erythropoietin antibodies. *Nephrol Dial Transplant* 2003 18: 865-869
2. Casadevall N, Nataf J, Viron B et al. Pure red-cell aplasia and antierythropoietin antibodies in patients treated with recombinant erythropoietin. *N Engl J Med* 2002; 346: 469-475
3. Casadevall N, Dupuy E, Molho-Sabatier P et al. Autoantibodies against erythropoietin in a patient with pure red-cell aplasia. *N Engl J Med* 1996; 334: 630-633
4. Casadevall N. Antibodies against rHuEpo: native and recombinant. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17 [Suppl 5]: 42-47
5. Locatelli F, Del Vecchio L. Pure red cell aplasia secondary to treatment with erythropoietin. *Artificial Organs* 2003; 27(9):755-758
6. Locatelli F, Aljama P, Barany P et al. Erythropoiesis-stimulating agents and antibody-mediated pure red-cell aplasia: where are we now and where do we go from here? *Nephrol Dial Transplant* 2004 19: 288-293

Поступила в редакцию 02.06.2004 г.