

Miha Arnol<sup>1</sup>

# Poliklonska protilimfocitna protitelesa

## PREDSTAVITEV

Poliklonska protilimfocitna protitelesa imajo ključno vlogo pri presaditvi čvrstih organov in krvotvornih matičnih celic. Razvili so jih v 60. letih preteklega stoletja, ko so bila po presaditvi organov in celic, kot zdravila za preprečevanje zavrnitve, na razpolago le glukokortikoidi in azatioprin. Takrat je bila pogostost akutnih zavrnitev presadkov visoka, tudi preko 50 %. Z razvojem protilimfocitnih protiteles so se razširile možnosti imunosupresijskega zdravljenja in izboljšali rezultati presaditve. Prve bolnike s presajeno ledvico so s protilimfocitnim serumom (angl. *antilymphocyte serum*, ALS) zdravili leta 1966 v Franciji in ZDA (1, 2). Uporabljali so ga neposredno po presaditvi za preprečevanje zgodnje zavrnitve presajene ledvice. Sprva so limfocite pridobivali z drenažo prsnega mezgovoda bolnikov, ki so čakali na presaditev, in nato z zbranimi limfociti imunizirali konje. Na ta način pridobljeni konjski ALS so v manjših odmerkih bolnikom vbrizgavali intramuskularno več mesecev (tudi do enega leta) po presaditvi. Zaradi pogoste lokalne preobčutljivostne reakcije so kasneje pričeli uporabljati ALS intravensko v večjih odmerkih 10–14 dni po presaditvi organa. Ob koncu 60. in na začetku 70. let so s kemičnimi postopki čiščenja iz seruma izolirali imunoglobuline in tako izdelali konjski protilimfocitni globulin (angl. *antilymphocyte globulin*, ALG) z lastniškim imenom ATGAM®. Uporabljali so ga za preprečevanje in zdravljenje zavrnitve presadka (3). Namesto imunizacije konjev so kasneje pričeli z imunizacijo kuncev, limfocite za imunizacijo pa so pridobivali iz odstranjenih priželjcev – protitimocitni globulin (angl. *antithymocyte globulin*, ATG). V primerjavi s konjskimi pripravki, so novejši kunčji protilimfocitni globulini bolj učinkoviti in zaradi manjše imunogenosti povzročajo manj neželenih reakcij (4). Od leta 1981 sta v klinični uporabi dva poliklonska protitimocitna globulina, pripravljena v kuncih in usmerjena proti človeškim timocitom, z lastniškima imenoma Thymoglobuline® in ATG-Fresenius®. V prvem pripravku so izvor limfocitov človeški timociti, v drugem pa nesmrtna linija človeških limfocitov T (celična linija Jurkat). Čeprav se pripravka razlikujeta po odmerjanju in učinkovitosti, imata podoben mehanizem delovanja. Če v nadaljnjem besedilu ni poudarjeno drugače, se ATG nanaša na oba protitimocitna globulina. Leta 2013 se je farmacevtsko podjetje Fresenius Biotech odcepilo od matičnega podjetja Fresenius in se preimenovalo v Neovii. Od leta 2015 se ATG-Fresenius® zato trži pod novim zaščitenim imenom Grafalon®.

Poleg že omenjenih poliklonskih protilimfocitnih globulinov, ki se vežejo na različne površinske antigene limfocitov T, so razvili tudi monoklonske protilimfocitne globuline (5). Le-ti se vežejo na določen antigen na površini limfocitov. Sem uvrščamo muromonab-CD3 (Orthoclone OKT3), ki je mišje monoklonsko protitelo proti antigenu CD (angl. *cluster of differentiation*) 3 na limfocitih T. Od leta 1985 se je uporabljal za zdravljenje akutne zavrnitve presadka, če zdravljenje z glukokortikoidi ni bilo uspešno. V nekaterih centrih ga uporabljajo tudi za začetno (indukcijsko) imunosupresijo neposredno po presaditvi. Zaradi številnih neželenih učinkov, ki lahko ogrozijo bolnikovo življenje (predvsem sindrom sproščanja citokinov, nekardiogeni pljučni edem, aseptični meningitis in pogoste okužbe), ga pri nas ne uporabljamo več. Novejše zdravilo je alemtuzumab, ki je humanizirano monoklonsko protitelo in se veže na površinski antigen CD52 na človeških limfocitih T in B. Prvotno je bil registriran za zdravljenje kronične limfatične levkemije. V ZDA ga uporabljajo kot začetno indukcijsko imunosupresijo pri približno 10 % bolnikov, predvsem pri zgodnjem ukinjanju glukokortikoidov. Pri nas alemtuzumaba še ne uporabljamo.

<sup>1</sup> Izr. prof. dr. Miha Arnol, dr. med., Klinični oddelek za nefrologijo, Interna klinika, Univerzitetni klinični center, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana; miha.arnol@mf.uni-lj.si

## NAČIN DELOVANJA

V  $\gamma$ -globulinski frakciji ATG so poliklonska protitelesa razreda G (imunoglobulini (Ig) G) usmerjena predvsem proti površinskim antigenom človeških limfocitov T. Mnogo teh antigenov je tudi na drugih krvnih celicah – limfocitih B, nevtrofilnih granulocitih in monocitih ter tudi na eritrocitih in trombocitih. Imunološki mehanizmi učinkovanja ATG so številni in niso dokončno razjasnjeni (tabela 11.1) (6). Protitelesa v ATG, ki jih vbrizgamo bolniku, se vežejo na limfocite v periferni krvi, limfocite v limfatičnih organih in limfocite v presajeni ledvici. Oponizirane limfocite uničijo fagociti mononuklearnega fagocitnega sistema, možna pa je tudi neposredna liza celic z aktiviranjem komplemента. Zaradi limfopenije je zmanjšana aktivacija in proliferacija limfocitov T, ki ju sicer spodbudijo antigeni presajene ledvice.

Poleg lize limfocitov T je imunosupresijsko delovanje ATG posledica vezave protiteles na številne antigene oz. receptorje na limfocitih T (npr. molekule, ki sodelujejo pri kostimulaciji T-celičnega receptorja, adhezijske molekule, receptorje za kemotaktične dejavnike). To zmanjša njihovo reaktivnost, oslabi vezavo na endotelne celice in zmanjša prihod levkocitov na mesto vnetja ter njihov prehod v zunajžilni prostor. Na ta način ATG oslabi aktivacijo imunskega sistema v presajenem organu. ATG se veže tudi na antigene limfocitov B, preprečuje njihovo diferenciacijo v plazmatke in s tem nastanek protiteles proti presajenemu organu. Izrazita destrukcija limfocitov v periferni krvi in limfatičnih organih sčasoma vodi v namnožitev novih limfocitov. Novejše raziskave kažejo, da se hitreje namnožijo limfociti T (CD4+, CD25+) z regulatornimi lastnostmi in limfociti T (CD8+, CD57+) z zavornimi lastnostmi, kar vodi tudi do obrnjenega razmerja med limfociti CD4+/CD8+. Prevlada limfocitov z regulatornim in zavornim delovanjem na imunski sistem (homeostatska repopulacija) lahko prispeva k razvoju zmanjšane imunske odzivnosti oz. delne imunske tolerance na presajeni organ (7).

**Tabela 11.1.** Mehanizmi in učinki poliklonskih protitimocitnih globulinov (angl. *antithymocyte globulin*, ATG) (6, 7).

Način delovanja	Učinek na imunski sistem
Liza limfocitov T	preprečeni aktivacija in proliferacija limfocitov T
Kostimulatorna blokada	preprečena aktivacija limfocitov T
Vezava na adhezijske molekule	zmanjšán prehod limfocitov v zunajžilni prostor
Vezava na receptorje za kemotaktične dejavnike	zmanjšán prihod levkocitov na mesto vnetja in njihov prehod v zunajžilni prostor
Vezava na receptorje limfocitov B	preprečena diferenciacija v plazmatke
Homeostatska repopulacija novonastalih limfocitov T	prevlada limfocitov T, ki zavirajo in regulirajo imunski odziv (periferna imunska toleranca)

## FARMAKOKINETIKA

### Način dajanja in biološka uporabnost

ATG dajemo intravensko, zato imajo 100 % biološko uporabnost. Praviloma jih infundiramo v centralno veno ali arteriovensko fistulo. Infuzijo zdravila pripravimo tako, da predvideni odmerek ATG raztopimo v 500 ml 0,9 % NaCl. Infuzija teče s hitrostjo 100 ml/uro. Na infuzijsko linijo dodamo 0,2  $\mu$ m filter, na katerega se vežejo beljakovine z majhno molekulsko maso, ki predstavljajo nečistoče. S tem zmanjšamo imunogenost pripravka in preobčutljivostne reakcije. Če ATG uvedemo v periferno veno za preprečevanje povrhnjega tromboflebitisa v infuzijsko mešanico dodamo še 20 mg hidrokortizona in 1.000 enot nefrakcioniranega heparina.

### Porazdelitev, presnova in izločanje

Molekulska masa IgG v ATG je približno 150 kDa, zato se po infuziji zadrži v znotrajžilnem prostoru. Razpolovni čas je pri povprečnem enotedenskem dajanju približno 14 dni (8). Po vezavi na limfocite T se iz žilnega prostora odstrani v mononuklearnem fagocitnem sistemu jeter in vranice, kjer se presnavlja

tako kot druge telesne beljakovine. Ker ATG zmanjša število limfocitov T, je farmakološki učinek dolgotrajen in traja tudi več mesecev po odstranitvi zdravila iz krvi.

### **Prilagajanje odmerka**

Odmerka ATG pri ledvični ali jetrni okvari ni treba prilagajati. S hemodializo se ne odstranjuje. Odstranjuje se s plazmaferezo, s katero zdravimo bolnike, ki imajo poleg celično posredovane tudi s protitelesi posredovano (humoralno) zavrnitev presajene ledvice. V tem primeru dajemo ATG po končanem plazmaferezem postopku.

Poleg limfopenije se, zaradi vezave ATG na druge krvne celice, prehodno lahko razvijeta levkopenija in trombocitopenija. V tem primeru je treba odmerek zmanjšati. Kadar se število levkocitov zniža na  $2-3 \times 10^9/l$  ali trombocitov na  $50-75 \times 10^9/l$ , predvideni odmerek razpolovimo. Pri znižanju števila levkocitov  $< 2 \times 10^9/l$ , razvoju nevtropenije ali znižanju števila trombocitov  $< 50 \times 10^9/l$  predvideni odmerek izpustimo. V tem primeru počakamo dan ali dva, da se število levkocitov oz. trombocitov ponovno zviša.

Učinek zdravljenja z ATG lahko spremljamo in dnevno prilagajamo odmerek glede na absolutno število limfocitov T v diferencialni krvni sliki ali na osnovi merjenja števila limfocitov T (CD3+) s pretočno citometrijo (podpoglavje Zdravljenje zavrnitve presajene ledvice).

### **Interakcije**

Zaviralci kalcinevrina (ciklosporin in takrolimus), ki jih uporabljamo pri zdravljenju zavrnitvenih reakcij, zmanjšajo izražanje površinskih receptorjev na limfocitih T – predvsem receptorjev za interleukin 2 (IL-2R) – zaradi česar se učinkovitost ATG zmanjša (9). Zato med zdravljenjem z ATG zmanjšamo odmerek ali prehodno ukinemo zaviralec kalcinevrina in začasno prekinemo dajanje mikofenolata. S tem se izognemo tudi čezmerni imunosupresiji in hematološkim neželenim učinkom.

Zdravljenje z ATG zmanjša učinek cepiv. Bolnike, ki so kandidati za presaditev ledvice, zato precepimo pred presaditvijo. Podobno kot pri drugih imunosupresivnih zdravilih, tudi pri zdravljenju z ATG ne uporabljamo živih oslabljenih cepiv, ker obstaja tveganje za razvoj okužbe.

### **Nosečnost in dojenje**

Reprodukcijske raziskave na živalih niso bile napravljene, zato tveganja za plod ni mogoče izključiti. Med nosečnostjo se ATG daje, kadar koristi odtehtajo morebitna tveganja za plod. Tudi izločanje zdravila v mleko ni raziskano. Pri zdravljenju z ATG proizvajalci svetujejo prekinitev dojenja.

## **NEŽELENI UČINKI**

Slaba stran zdravljenja z ATG je v tem, da sta limfopenija in imunosupresija lahko dolgotrajni (pogosto 6–12 mesecev, lahko pa tudi več let). Neželeni učinki so predvsem posledica vnašanja tuje beljakovine v organizem (preobčutljivostne reakcije) in povečane imunosupresije (večja dovzetnost za okužbe ter razvoj malignih bolezni) (10).

### **Sindrom sproščanja citokinov, preobčutljivostne reakcije in serumska bolezen**

Mrzlica, povišana telesna temperatura, mišične in sklepne bolečine so pogoste, ni pa hudih reakcij prvega odmerka (kot je bilo to pogosto pri zdravljenju z OKT3). Sindrom sproščanja citokinov se v blagi obliki pojavi pri 15–20 % bolnikov. Razvijejo se lahko tudi kožna alergija (eritem in urtikarija), slabost, bruhanje ter glavobol. Redko se pojavijo dispneja, bronhospazem ali tiščanje v prsih. Zelo redko pride do sistemske anafilaksije s tahikardijo in hipotenzijo. ATG je imunogen, vendar pri prejemniku na imunosupresiji navadno ne vzbudi imunskega odziva s tvorbo nevtralizirajočih protiteles, zato je možna ponovna uporaba. Zaradi zdravljenja s tujo beljakovino je možen tudi pojav serumske bolezni. Simptomi in znaki, kot so povišana temperatura, kožni eritem, urtikarija, bolečine v mišicah, bolečine v sklepih, kožni vaskulitis in glomerulonefritis, so bili opisani v začetnih obdobjih zdravljenja z ATG, ko so

bolnike zdravili več kot tri tedne. Serumska bolezen se najpogosteje razvije po približno 10 dneh zdravljenja. V današnjem času, ko ATG uporabljamo manj kot 14 dni, je v klinični praksi skoraj ne vidimo. Sindrom sproščanja citokinov in preobčutljivostne reakcije preprečujemo s premedikacijo. Uporabimo metilprednizolon, antihistaminik (antagonist histaminskih receptorjev H<sub>1</sub>) in antipiretik (paracetamol), ki jih dajemo 30 minut pred infuzijo ATG.

### **Hematološki neželeni učinki**

ATG lahko poleg pričakovane limfopenije povzroči tudi nevtropenijo, anemijo in trombocitopenijo. Pri do 6 % bolnikov se razvije pancitopenija. Ta je posledica vezave protiteles na površinske receptorje drugih krvnih celic. Spremembe v krvni sliki so najizrazitejše po štirih dneh zdravljenja in se praviloma normalizirajo znotraj dveh tednov. Pri dajanju visokih odmerkov ATG (predvsem po presaditvi krvotvornih matičnih celic) so bili opisani primeri s transfuzijo povezane bolezní presadka proti gostitelju (angl. *graft-versus-host disease*).

Če se razvije levkopenija (predvsem nevtropenija) ali trombocitopenija, je treba odmerek zmanjšati ali zdravljenje prehodno prekiniti (podpoglavje Prilaganje odmerka). Pri nas za preprečevanje pojave bolezní presadka proti gostitelju po zdravljenju z ATG uporabljamo obsevane krvne pripravke (koncentrirane eritrocite ali trombocite), običajno šest mesecev po zdravljenju oz. dokler se število limfocitov v periferni krvi ne zveča na  $> 1 \times 10^9/l$ . Po zadnjih priporočilih sicer obsevanje krvnih pripravkov, pri zdravljenju z ATG po presaditvi čvrstih organov, ni nujno potrebno (11).

### **Oportunistične okužbe**

Pri zdravljenju z imunosupresivnimi zdravili, tudi s pripravki ATG, je bila opisana večja pojavnost bakterijskih, virusnih in glivičnih okužb.

Pri zdravljenju z ATG je bila opisana večja pogostost bakterijskih okužb operativnih ran, sečil, urosepse in pljučnice, povzročene s *Pneumocystis jirovecii* (angl. *Pneumocystis jirovecii pneumonia*, PJP). Za njihovo preprečevanje uporabljamo profilakso z antibiotiki. Neposredno po presaditvi preprečujemo okužbe operativne rane in sečil z amoksicilinom ter klavulansko kislino oz. v primeru alergije na penicilinske antibiotike s ciprofloksacinom. Za preprečevanje PJP bolniki prejemajo trimetoprim-sulfametoksazol (prvo leto po presaditvi oz. tri mesece po zdravljenju zavrnitve).

Zaradi dolgotrajne limfopenije je povečana dovzetnost za virusne okužbe, zlasti za okužbe z virusom citomegalije (angl. *cytomegalovirus*, CMV). Opisana je bila tudi večja pogostost okužb z virusom herpes simpleksa (angl. *herpes simplex virus*, HSV), respiratornim sincicijskim virusom (RSV), adenovirusi in virusom BK. Predvsem je nevarna okužba s CMV, ki jo pri vseh bolnikih preprečujemo z valganciklovirjem. Profilaksa po zdravljenju z ATG traja tri do šest mesecev in jo po potrebi podaljšamo, dokler limfopenija ne izzveni. Nevarna je tudi okužba z virusom BK, ki lahko po presaditvi ledvice povzroči intersticijski nefritis z okvaro delovanja ali celo odpovedjo presadka. Morebitni pojav polioma-virusne virurije spremljamo vsaj šest mesecev po zdravljenju z ATG.

Opisane so tudi oportunistične glivične okužbe, predvsem okužbe s kandidami in aspergilusom. Čeprav so glivične okužbe po zdravljenju z ATG redke, pogosto potekajo hitreje, predvsem kot glivična sepsa z večorgansko prizadetostjo (dihal, prebavil in osrednjega živčevja).

### **Maligne bolezni**

Po zdravljenju s poliklonskimi protilimfocitnimi globulini je opisana večja pogostost malignomov, predvsem potransplantacijske limfoproliferativne bolezni. Po rezultatih ene od retrospektivnih raziskav je bila pogostost pojavljanja malignomov in limfoproliferativnih bolezni manjša pri zdravljenju z ATG-Fresenius® – Grafalonom® kot pri zdravljenju s Thymoglobulinom® (3,9 % proti 12,3 % oz. 1,5 % proti 4,6 %) (12). Na manjšo pogostost ne-Hodgkinovih limfomov pri zdravljenju z ATG-Fresenius® – Grafalonom® so pokazali tudi podatki retrospektivne več-centrične raziskave Collaborative Transplant Study (CTS) (13). Velja poudariti, da je analiza zajela bolnike v obdobju 1995–2004, ko so uporabljali bistveno večje odmerke Thymoglobulina®. Tveganje za limfoproliferativne bolezni je bilo večje pred-

vsem pri bolnikih, ki v preteklosti niso preboleli okužbe z Epstein-Barr virusom (EBV) in so prejeli organ EBV-pozitivnega darovalca. Ker poliklonski preparat ATG-Fresenius® – Grafalon® vključuje tudi protitelesa proti antigenu CD21 (ki je receptor za EBV), je s tem preprečena okužba in nenadzorovano podvajanje EBV. Zadnje analize velikih podatkovnih baz (registrov) niso potrdile večjega tveganja za razvoj potransplantacijske limfoproliferativne bolezni pri zdravljenju z ATG v primerjavi z drugimi režimi imunosupresivnega zdravljenja (14). Incidenca je danes nizka in znaša v prvih petih letih po presaditvi ledvice < 1 %.

## INDIKACIJE ZA UPORABO IN ODMERJANJE

### Preprečevanje zavrnitve presajene ledvice

Odmerek in trajanje dajanja ATG sta odvisna od farmacevtske oblike pripravka ter klinične indikacije. Za preprečevanje zavrnitve se neposredno po presaditvi (indukcijska imunosupresija) daje 3–7 dni Thymoglobuline® oz. 5–14 dni ATG-Fresenius® – Grafalon®.

Poliklonska protilimfocitna protitelesa so za indukcijsko imunosupresijo bolj učinkovita kot monoklonska protilimfocitna protitelesa proti IL-2R, tako pri bolnikih z velikim kot majhnim imunološkim tveganjem (poglavje Baziliksimumab) (15). V Sloveniji uporabljamo ATG za indukcijsko imunosupresijo le pri bolnikih z velikim imunološkim tveganjem in večjim tveganjem za zgodnjo zavrnitev. To so predvsem bolniki, ki so že imeli presajeno ledvico, zlasti če je presadek odpovedal zaradi zavrnitvene reakcije. Večje imunološko tveganje imajo tudi bolniki, ki imajo prisotna protitelesa proti levkocitnim antigenom (angl. *human leukocyte antigen*, HLA) zaradi predhodne presaditve, preteklih transfuzij ali nosečnosti. Bolniki z majhnim imunološkim tveganjem za indukcijsko imunosupresijo prejmejo monoklonska protitelesa proti IL-2R, s čimer imamo pri nas dobre izkušnje.

Uporaba ATG je povezana z večjim tveganjem za pojav okužb in maligne bolezni. Pri bolnikih z večjim imunološkim tveganjem za indukcijsko imunosupresijo uporabljamo Thymoglobuline®, ker obstaja več prospektivnih randomiziranih raziskav, v katerih se je Thymoglobuline® izkazal za uspešnejšega kot baziliksimumab (15–17). Običajen celokupni odmerek je 6 mg/kg telesne teže, ki se ga daje 3–5 dni (18). Pri nas ga damo v odmerku 3 mg/kg neposredno pred presaditvijo ter nato še 1,5 mg/kg prvi dan in 1,5 mg/kg drugi dan po presaditvi. Predvideni pooperativni odmerek razpolovimo ali izpustimo v primeru levkopenije ali trombocitopenije (podpoglavje Prilagajanje odmerka). Optimalni celokupni odmerek ni poznan. Raziskave kažejo, da so odmerki < 3 mg/kg, povezani z večjim tveganjem za zgodnjo zavrnitev, odmerki > 6 mg/kg pa z večjim tveganjem za okužbe (19).

V nekaterih centrih za indukcijsko imunosupresijo uporabljajo ATG-Fresenius® – Grafalon®. Rezultati manjše prospektivne raziskave kažejo, da je verjetno podobno učinkovit kot Thymoglobuline® (20). Običajni odmerek je 2–5 mg/kg telesne teže dnevno. Daje se ga 5–14 dni. Najpogostejši dnevni odmerek je 3–4 mg/kg telesne teže 5–7 dni. Uporabljali so tudi krajše sheme zdravljenja z enkratnim večjim odmerkom neposredno pred presaditvijo (9 mg/kg), ki naj bi bil podobno učinkovit, vendar rezultati temeljijo na majhnem številu preiskovancev (21).

V številnih centrih (zlasti v ZDA) uporabljajo ATG za začetno preprečevanje zavrnitve pri večini bolnikov s presajeno ledvico, tudi pri tistih z majhnim ali zmernim imunološkim tveganjem (22, 23). To utemeljujejo z manj pogostim nastankom protiteles proti antigenom presajene ledvice in zato manjšim tveganjem za prognostično neugodno humoralno zavrnitev. Indukcijsko imunosupresijo z ATG pogosteje predpisujejo bolnikom, pri katerih se pričakuje odloženo delovanje presajene ledvice ali se jim v zgodnjem obdobju po presaditvi ukine glukokortikoide ali zmanjša odmerek zaviralca kalcinevrina (24). Poleg tega naj bi po zdravljenju z ATG nastalo več limfocitov T, ki uravnavajo in zavirajo imunski odziv na presajeni organ (homeostatska repopulacija). Prevlada limfocitov T z regulatornim in zavornim delovanjem na imunski sistem lahko prispeva k razvoju delne imunske tolerance na presajeni organ (7).

## Zdravljenje zavrnitve presajene ledvice

Za zdravljenje zavrnitve se daje ATG 7–14 dni, odvisno od kliničnega učinka in neželenih pojavov. ATG dajemo pri zdravljenju celične (z limfociti T posredovane) zavrnitvene reakcije, kadar ni zadovoljivega kliničnega odgovora na zdravljenje z glukokortikoidi ali kadar so prisotni patohistološki kazalci težje oblike zavrnitve. To je predvsem takrat, kadar so poleg ledvičnih tubulov in intersticija prizadete tudi arterije (T-celična žilna zavrnitev z arteritisom in/ali glomerulitisom). Pri zdravljenju akutne zavrnitve se je kuncji ATG izkazal za učinkovitejšega od konjskega (ATGAM®) (25). Na osnovi dolgoletnih izkušenj pri nas za zdravljenje zavrnitve uporabljamo ATG-Fresenius® – Grafalon® (26). Običajni odmerek je 3–5 mg/kg telesne teže dnevno. Zdravljenje traja 7–14 dni in je odvisno od kliničnega učinka, predvsem izboljšanja ledvičnega delovanja.

V nekaterih centrih uporabljajo Thymoglobuline® v dnevnom odmerku 1,5 mg/kg telesne teže, prav tako 7–14 dni. Do danes ni objavljenih raziskav, ki bi primerjale učinkovitost obeh razpoložljivih pripravkov ATG pri zdravljenju akutne zavrnitve presajene ledvice.

Na Kliničnem oddelku za nefrologijo Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana in v nekaterih drugih centrih, za preverjanje učinkovitosti ATG ter preprečevanje prekomerne imunosupresije, spremljamo število limfocitov T (CD3+). ATG dajemo dnevno, dokler se število limfocitov T (CD3+) ne zniža  $< 0,05 \times 10^9/l$  (50 celic/ $\mu$ l). Odmerek damo ponovno, ko se število limfocitov zopet zveča nad to raven. Nizko število limfocitov T (CD3+) vzdržujemo približno 14 dni. V tem času lahko varno zmanjšamo odmerek zaviralca kalcinevrina na polovico in ukinemo mikofenolat mofetil. Učinek ATG lahko enostavneje spremljamo s pomočjo diferencialne krvne slike (27). Cilj je znižanje absolutnega števila limfocitov v periferni krvi  $< 0,3 \times 10^9/l$ . Številni centri za spremljanje učinkovitosti ATG ne merijo števila limfocitov T v periferni krvi, saj za to ni dovolj kakovostnih kliničnih raziskav.

Po zdravljenju z ATG, za najmanj tri mesece, uvedemo preventivni odmerek valganciklovirja (preventiva okužbe s CMV) in trimetoprim-sulfametoksazola (preventiva PJP). Priporočamo tudi redno spremljanje prisotnosti virusa BK v seču (enkrat mesečno, šest mesecev) in morebitne prisotnosti EBV v krvi (enkrat mesečno, 12 mesecev).

## Druge indikacije

Poleg uporabe pri presaditvi solidnih organov in krvotvornih matičnih celic, se poliklonska protilimfocitna protitelesa v zadnjem obdobju uporabljajo tudi pri zdravljenju nekaterih avtoimunskih ter hematoloških bolezni. Mednje spadajo huda oblika sistemske skleroze s kožno, pljučno in ledvično prizadetostjo, multipla skleroza, Crohnova bolezen ter aplastična anemija (28).

## POSEBNOSTI

### Preprečevanje neželenih učinkov

ATG ima pomemben nabor stranskih učinkov. Zato moramo bolnike nadzorovati, ne samo glede na učinkovitost zavore imunskega sistema, ampak tudi glede pojava neželenih učinkov – predvsem preobčutljivostnih reakcij in prekomerne imunosupresije (tabela 11.2).

**Tabela 11.2.** Nadzor in ukrepi za preprečevanje neželenih učinkov poliklonskih protitimocitnih globulinov (angl. *antithymocyte globulin*, ATG) (5, 10). H<sub>1</sub> – histaminski receptor tipa 1, PCR – verižna reakcija s polimerazo (angl. *polymerase chain reaction*).

Neželeni učinek	Preprečevanje in spremljanje
Sindrom sproščanja citokinov, preobčutljivostne reakcije, serumska bolezen	<p>30 minut pred infuzijo ATG predpišemo:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• glukokortikoid (metilprednizolon 0,8 mg/kg i. v.),</li> <li>• antagonist H<sub>1</sub> (klemastin 2 mg i. v.) in</li> <li>• antipiretik (paracetamol 500 mg <i>per os</i>).</li> </ul> <p>Na infuzijsko linijo nastavimo 0,2 µm filter, na katerega se vežejo beljakovine, ki predstavljajo nečistoče.</p>
Povrhnji tromboflebitis	<p>Pri infuziji ATG v periferno veno v infuzijo dodamo:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• nefrakcionirani heparin (1.000 enot) in</li> <li>• hidrokortizon (20 mg).</li> </ul>
Levkopenija (nevtropenija), trombocitopenija, bolezen presadka proti gostitelju	<p>Predvideni odmerek ATG zmanjšamo za polovico:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• pri znižanju levkocitov na <math>2-3 \times 10^9/l</math> in</li> <li>• pri znižanju trombocitov na <math>50-70 \times 10^9/l</math>.</li> </ul> <p>Predvideni odmerek ATG izpustimo:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• pri znižanju levkocitov <math>&lt; 2 \times 10^9/l</math>,</li> <li>• pri znižanju nevtrofilnih granulocitov <math>&lt; 1,5 \times 10^9/l</math> in</li> <li>• pri znižanju trombocitov <math>&lt; 50 \times 10^9/l</math>.</li> </ul> <p>Po zdravljenju z ATG uporabljamo obsevane eritrocite ali trombocite (šest mesecev oz. do zvečanja števila limfocitov <math>&gt; 1 \times 10^9/l</math>).</p>
Prekomerna imunosupresija	<p>Med zdravljenjem z ATG spremljamo število limfocitov in odmerek izpustimo, ko se število limfocitov zniža <math>&lt; 0,3 \times 10^9/l</math> (diferencialna krvna slika) oz. je število celic CD3+ <math>&lt; 0,05 \times 10^9/l</math> (pretočna citometrija).</p> <p>Med zdravljenjem z ATG razpolovimo odmerek zaviralca kalcinevrina (ciklosporina ali takrolimusa) in ukinemo mikofenolat.</p> <p>Po koncu zdravljenja z ATG sledimo morebitno prisotnost virusa BK v seču (enkrat mesečno šest mesecev; PCR ali Decoyeve celice).</p>
Oportunistične okužbe	<p>Uvedemo profilakso (vsaj tri mesece) proti:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• pljučnici, povzročeni s <i>Pneumocystis jirovecii</i> (trimetoprim-sulfametoksazol) in</li> <li>• okužbi z virusom citomegalije (valganciklovir).</li> </ul>
Potransplantacijska limfoproliferativna bolezen	<p>Po koncu zdravljenja z ATG sledimo morebitno prisotnost virusa Epstein-Barr v krvi (enkrat mesečno 12 mesecev; PCR).</p>

**LITERATURA**

1. Traeger J, Perrin J, Saubier E, et al. Serum antilymphocyte et transplantation renale humain. *Med Hyg.* 1967; 25: 754.
2. Starzl TE, Marchioro TL, Porter KA, et al. The use of heterologous antilymphoid agents in canine renal and liver homotransplantation and in human renal homotransplantation. *Surg Gynecol Obstet.* 1967; 124 (2): 301–8.
3. Najarian JS, Simmons RL. The clinical use of antilymphocyte globulin. *N Engl J Med.* 1971; 285 (3): 158–66.
4. Johnson K, Niblack G, Richie R, et al. Multicenter comparison of rejection reversal: rabbit anti-human lymphocyte serum (ATS) versus horse anti-human lymphocyte globulin (ATGAM). *Transplant Proc.* 1989; 21 (1 Pt 2): 1734–5.
5. Kirk AD. Antibodies and fusion proteins. In: Morris PJ, Knechtle SJ, eds. *Kidney transplantation: principles and practice.* 6th ed. Philadelphia: Saunders; 2008. p. 309–32.
6. Mueller TF. Mechanisms of action of thymoglobulin. *Transplantation.* 2007; 84: S5–10.
7. Lopez M, Clarkson MR, Albin M, et al. A novel mechanism of action for anti-thymocyte globulin: induction of CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells. *J Am Soc Nephrol.* 2006; 17 (10): 2844–53.
8. Bunn D, Lea CK, Bevan DJ, et al. The pharmacokinetics of anti-thymocyte globulin (ATG) following intravenous infusion in man. *Clin Nephrol.* 1996; 45 (1): 29–32.
9. Varghese Z, Abudher MN, Fernando ON, et al. Induction therapy with bolus ATG increases cyclosporine sensitivity in renal transplant recipients. *Transplant Proc.* 2001; 33 (3): 2251–3.
10. Product monograph ATG-Fresenius: anti-human T-lymphocyte immunoglobulin from rabbits. Bad Homburg: Fresenius Biotech GmbH.
11. Treleaven J, Gennery A, Marsh J, et al. Guidelines on the use of irradiated blood components prepared by the British Committee for Standards in Haematology blood transfusion task force. *Br J Haematol.* 2010; 152 (1): 35–51.
12. Ducloux D, Kazory A, Challier B, et al. Long-term toxicity of antithymocyte globulin induction may vary with choice of agent: a single-center retrospective study. *Transplantation.* 2004; 77 (7): 1029–33.
13. Opelz G, Naujokat C, Daniel V, et al. Disassociation between risk of graft loss and risk of non-Hodgkin-lymphoma with induction agents in renal transplant recipients. *Transplantation.* 2006; 81 (9): 1227–33.
14. Lim WH, Turner RM, Chapman JR, et al. Acute rejection, T-cell-depleting antibodies, and cancer after transplantation. *Transplantation.* 2014; 97 (8): 817–25.
15. Brennan DC, Daller JA, Lake KD, et al. Rabbit antithymocyte globulin versus basiliximab in renal transplantation. *N Engl J Med.* 2006; 355 (19): 1967–77.
16. Brennan DC, Schnitzler MA. Long-term results of rabbit antithymocyte globulin and basiliximab induction. *N Engl J Med.* 2008; 359 (16): 1736–8.
17. Willoughby LM, Schnitzler MA, Brennan DC, et al. Early outcomes of thymoglobulin and basiliximab induction in kidney transplantation: application of statistical approaches to reduce bias in observational comparisons. *Transplantation.* 2009; 87 (10): 1520–9.
18. Agha IA, Rueda J, Alvarez A, et al. Short course induction immunosuppression with thymoglobulin for renal transplant recipients. *Transplantation.* 2002; 73 (3): 473–5.
19. Gurk-Turner C, Airee R, Philosophe B, et al. Thymoglobulin dose optimization for induction therapy in high risk kidney transplant recipients. *Transplantation.* 2008; 85 (10): 1425–30.
20. Ourahma S, Talon D, Barrou B, et al. A prospective study on efficacy and tolerance of antithymocyte globulin Fresenius versus thymoglobuline Merieux after renal transplantation. *Transplant Proc.* 1997; 29 (5): 2427.
21. Yussim A, Shapira Z. Single-bolus high-dose ATG for prophylaxis of rejection in renal transplantation – a prospective, randomized study. *Transpl Int.* 2000; 13 Suppl 1: S293–4.
22. Hardinger KL, Brennan DC, Schnitzler MA. Rabbit antithymocyte globulin is more beneficial in standard kidney than in extended donor recipients. *Transplantation.* 2009; 87 (9): 1372–6.
23. Brokhof MM, Sollinger HW, Hager DR, et al. Antithymocyte globulin is associated with a lower incidence of de novo donor-specific antibodies in moderately sensitized renal transplant recipients. *Transplantation.* 2014; 97 (6): 612–7.
24. Favi E, Spagnoletti G, Silvestrini N, et al. Thymoglobulin plus basiliximab versus basiliximab induction in deceased donor kidney transplant recipients treated with tacrolimus and MMF: 1-year results of a prospective clinical trial. *Transpl Int.* 2013; 26 Suppl 2: 83.
25. Gaber AO, First MR, Tesi RJ, et al. Results of the double-blind, randomized, multicenter, phase III clinical trial of Thymoglobulin versus Atgam in the treatment of acute graft rejection episodes after renal transplantation. *Transplantation.* 1998; 66 (1): 29–37.
26. Aleš A. Akutna celična zavrnitev presajene ledvice. In: Arnol M, Kandus A, Bren A, eds. *Presaditev ledvic. 1. dopolnjena izdaja.* Ljubljana: Klinični oddelek za nefrologijo, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana; 2009. p. 189–96.



27. Gorrie M, Thomson G, Lewis DM, et al. Dose titration during anti-thymocyte globulin therapy: monitoring by CD3 count or total lymphocyte count? *Clin Lab Haematol.* 1997; 19 (1): 53-6.
28. Mohty M, Bacigalupo A, Saliba F, et al. New directions for rabbit antithymocyte globulin (Thymoglobulin®) in solid organ transplants, stem cell transplants and autoimmunity. *Drugs.* 2014; 74 (14): 1605-34.

## SEZNAM UPORABLJENIH KRATIC

ALG – protilimfocitni globulin (angl. *antilymphocyte globulin*)

ALS – protilimfocitni serum (angl. *antilymphocyte serum*)

ATG – protitimocitni globulin (angl. *antithymocyte globulin*)

CMV – virus citomegalije (angl. *cytomegalovirus*)

EBV – Epstein-Barr virus

HLA – humani levkocitni antigeni (angl. *human leukocyte antigen*)

HSV – virus herpesa simpleksa (angl. *herpes simplex virus*)

IL-2R – receptor za interlevkin 2

PCR – verižna reakcija s polimerazo (angl. *polymerase chain reaction*)

PJP – pljučnica, povzročena s *Pneumocystis jirovecii* (angl. *Pneumocystis jirovecii pneumonia*)