

# PRVNÍ ZKUŠENOSTI S PODÁNÍM ANTI-D GLOBULINU U DĚTÍ S CHRONICKOU FORMOU ITP

Dagmar Pospíšilová<sup>1</sup>, Hana Beislová<sup>2</sup>, Petr Smíšek<sup>3</sup>, Lenka Vepřeková<sup>4</sup>,  
Bohumír Blažek<sup>5</sup>, Vladimír Mihál<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dětská klinika FN a LF UP v Olomouci

<sup>2</sup>Transfúzní oddělení Fakultní nemocnice v Olomouci

<sup>3</sup>II. dětská klinika 2. lékařské fakulty UK a Fakultní nemocnice v Praze-Motole

<sup>4</sup>I. interní klinika-CHL 1. lékařské fakulty UK a Všeobecné fakultní nemocnice Praha

<sup>5</sup>Dětská klinika ILF Ostrava

**Cíl práce:** Cílem práce bylo zhodnotit efekt a toxicitu intravenózního podání anti-D globulinu, imunoglobulinu namířeného proti RhD antigenu na povrchu erytrocytů vyrobeného z plazmy imunizovaných dárců, u dětských pacientů s chronickou formou imunitní (idiopatické) trombocytopenické purpury (ITP).

**Pacienti a metody:** Anti-D globulin byl podán 8 dětským pacientům s chronickou formou ITP ve věku 5–15 let (medián 9,5 let) s počtem trombocytů 3–17×10<sup>9</sup>/l (medián 6×10<sup>9</sup>/l) v dávce 50 µg/kg v krátké intravenózní infuzi (10–20 minut). Příznivá odpověď na léčbu byla definována jako zvýšení počtu trombocytů nad 50×10<sup>9</sup>/l v průběhu 7 dnů po aplikaci, neodpovídavost jako vzestup počtu trombocytů na méně než 30×10<sup>9</sup>/l. Byla hodnocena doba poklesu trombocytů pod 50×10<sup>9</sup>/l, pod 30×10<sup>9</sup>/l a pod 20×10<sup>9</sup>/l. Byl hodnocen krevní obraz v den 0, 1, 2, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42, laboratorní známky hemolýzy a trombocytární protilátky před a po podání léku.

**Výsledky:** Po podání anti-D globulinu byla příznivá odpověď pozorována u 7 z 8 (87,4 %) pacientů, jedna pacientka na léčbu neodpověděla. Normalizace počtu trombocytů v průběhu 7 dní po podání anti-D byla pozorována u 4/8 (50 %) pacientů souboru. Zvýšení počtu trombocytů nad 50×10<sup>9</sup>/l bylo u 7 pacientů s příznivou odpovědí dosaženo po 48–168 hodinách. Efekt léku byl u všech pacientů s příznivou odpovědí přechodný, doba zvýšení počtu trombocytů nad 50,0×10<sup>9</sup>/l nepřesáhla u žádného z pacientů 21 dní. K poklesu počtu trombocytů na hodnoty pod 20×10<sup>9</sup>/l došlo v průběhu 14–42 dní (medián 28 dní). U všech pacientů byl zaznamenán pokles hladiny hemoglobinu v důsledku Coombs-pozitivní hemolytické anémie. Maximální pokles hemoglobinu byl 27 g/l (rozptyl 3–27 g/l, medián 17 g/l). Stupeň hemolýzy nebyl klinicky významný. U 3/4 pacientů s pozitivním nálezem protilátek proti trombocytům nemělo podání léku vliv na pozitivitu protilátek.

Lék byl všemi pacienty dobře snášen. Kromě poklesu hemoglobinu nebyly pozorovány závažné vedlejší účinky. U dvou pacientů se objevila přechodná pyretická reakce bez třesavky i přes preventivní podání antipyretika, u jednoho z nich pro-  
vázená bolestí hlavy.

Odpověď na podání anti-D globulinu byla pozorována u všech šesti pacientů s dobrou odpovědí na HDIVIG. Pacientka, která neodpověděla na podání HD IVIG, neodpověděla ani na podání anti-D globulinu.

Lék je možno podávat ambulantně, cena jedné aplikace pro pacienta vážícího 30 kg je 4 305 Kč.

Cena HDIVIG pro dávku 0,8–1 g/kg je průměrně 26 900 Kč, tedy přibližně 6× vyšší. Podání anti-D globulinu nezasahuje do patogenetického mechanismu onemocnění, nelze proto očekávat jeho vyléčení. Opakované podání anti-D globulinu však dává čas pacientům na postupné spontánní zlepšení onemocnění.

K definitivnímu zhodnocení efektu anti-D globulinu, jeho optimální dávky a vedlejších účinků u dětských pacientů s chronickou formou ITP jsou nutné další systematické studie na velkém souboru pacientů.

**Klíčová slova:** idiopatická (imunitní) trombocytopenická purpura, chronická forma, anti-D globulin, hemolytická anémie.

## FIRST EXPERIENCE WITH ANTI-D GLOBULIN ADMINISTRATION IN CHILDHOOD CHRONIC FORM OF IMMUNE (IDIOPATHIC) THROMBOCYTOPENIC PURPURA

**The aim of the study:** The aim of the study was to evaluate the efficacy and toxicity of intravenous administration of anti-D, an immune globulin directed at the D antigen on erythrocytes purified from the plasma of sensitised persons, on children with the chronic form of immune (idiopathic) thrombocytopenic purpura.

**Patients and methods:** Anti-D globulin was given to 8 children aged 5–15 years (median 9.5 years) with a platelet count of 3–17×10<sup>9</sup>/l (median 6×10<sup>9</sup>/l) in a dose of 50 µg/kg using short intravenous infusion. A good response was defined as platelet increase above 50×10<sup>9</sup>/l, a poor response as platelet increase to less than 30×10<sup>9</sup>/l. The time of platelet decrease under 50, 30 and 20×10<sup>9</sup>/l was evaluated. Blood count on days 0, 1, 2, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42, laboratory markers of hemolysis on days 0, 1 a 2 and antiplatelet antibodies on days 0 and 7 were measured.

**Results:** A good response after anti-D globulin administration was observed in 7 out of 8 (87.4 %) patients. One patient was poor responder. Normal platelet count during the first 7 days after anti-D was observed in 4/8 patients. Platelet increase to more than 50×10<sup>9</sup>/l was achieved after 48–168 hours in good responders. The effect was transient: the period of platelet count increase above 50×10<sup>9</sup>/l was no longer than 21 days in any of the patients. Platelet decrease under 20×10<sup>9</sup>/l was

observed between 14–42 days (median 28 days) after anti-D administration. In all patients, a decrease in hemoglobin level in the range 3–27 g/l (median 17 g/l) due to Coombs-positive hemolytic anaemia was observed. Decreased hemoglobin levels had no clinical signs. Instead of hemoglobin decrease, no serious adverse effects were observed. In two patients, brief increase in body temperature without chills despite preventive antipyretics administration accompanied by headache in one of them was observed. A good response to anti-D administration was seen in all 6 patients with a good response to HDIVIG. The only poor responder to anti-D had in the past no response to HDIVIG. In 3/4 patients with antiplatelet antibodies, anti-D administration had no influence on antibody positivity. Anti-D globulin is feasible for outpatient care. The cost of 1 application for 1 patient (30 kg body weight) is 4 305 crowns, in comparison with 26 900 crowns for HDIVIG. Anti-D globulin has no effect on pathogenetic mechanisms of ITP. It cannot cure the disease. On the other hand, repeated courses of anti-D offer time for spontaneous recovery without splenectomy. For definitive evaluation of efficacy, optimal dose and side effects of anti-D in children with the chronic form of ITP, studies in larger cohorts of patients are needed.

**Key words:** Idiopathic (immune) thrombocytopenic purpura, chronic form, anti-D globulin, hemolytic anaemia.

## Úvod

Imunitní (idiopatická) trombocytopenická purpura (ITP) je nejčastějším typem trombocytopenie v dětském věku a současně nejčastějším autoimunitním onemocněním postihujícím krevní elementy u dětí. Příčinou nemoci je tvorba protilátek proti trombocytům, které se vážou na povrchové antigeny trombocytů. Trombocyty s navázanou protilátkou jsou vychytávány a destruovány v buňkách monocyto-makrofágového systému, převážně ve slezině. V dětském věku převažuje výskyt akutní formy onemocnění, která obvykle probíhá bez větších komplikací, závažné slizniční krvácení se vyskytuje asi u 10–20 % dětí (1). Riziko krvácení do CNS jako nejobávanější komplikace ITP je menší než 0,5 % (2). Do šesti měsíců dosáhne remise 80–90 % pacientů, u 10–20 % pacientů nemoc přechází do chronicity. Chronická ITP je definována jako trombocytopenie trvající déle než 6 měsíců. Vyskytuje se častěji u starších dětí s převahou ženského pohlaví. U 37–58 % pacientů jsou popisovány spontánní remise i po mnoha letech trvání nemoci (2, 3), u některých dětí se však rozvíjí závažné dlouhotrvající onemocnění s výraznou morbiditou, které může významně ovlivnit kvalitu života dítěte.

K běžně doporučeným léčebným postupům u chronické formy ITP zaměřeným hlavně na léčbu a prevenci závažných krvácení patří podávání kortikosteroidů, vysokých dávek intravenózních imunoglobulinů (HD IVIG) a splenektomie. V urgentních případech s nutností rychlého zvýšení počtu trombocytů je používána i kombinace kortikosteroidů a HDIVIG. Většinou hematologů je preferováno použití kortikosteroidů, jejich dlouhodobé podávání však může mít v dětském věku řadu závažných nežádoucích vedlejších účinků (poruchy růstu, přírůstek hmotnosti, únavnost, osteoporóza, porucha glukózové tolerance). HDIVIG mají sice většinou promptní, ale pouze přechodný efekt. Jejich podání je finančně velmi nákladné a může být provázeno pyretickou reakcí s bolestmi hlavy a zvracením, vzácně rozvojem

poruchy funkce ledvin a aseptické meningitidy. Jde o přípravek vyrobený z lidské plazmy. Splenektomie je indikována pouze u pacientů s trváním nemoci déle než 1 rok, s projevem krvácení do sliznic a trombocyty trvale pod  $10,0 \times 10^9/l$  (3, 4). Z výše uvedených důvodů jsou stále hledány nové léky s imunosupresivním nebo imunomodulačním účinkem, které by splňovaly požadavek co nejvyššího efektu s minimem vedlejších účinků. Zkušenosti s léky výše uvedeného typu, mezi které patří vincristin, cyklofosfamid, cyklosporin A, azathioprin, danazol a interferon  $\alpha$ -2b, jsou malé, navíc může většina z nich mít v dětském věku velmi závažné vedlejší účinky.

V roce 1984 se objevila první zpráva o efektu podání anti-D globulinu u pacientů s ITP. Salama a spoluautoři (5) při jeho prvním použití u ITP vyšli z hypotézy, že nízký titr anti-A a anti-B antierytrocytárních protilátek obsažených v imunoglobulinových preparátech se může podílet na blokáde Fc receptorů monocyto-makrofágového systému. Hypotéza o možném účinku anti-D globulinu byla založena na teorii substituce vazby trombocytů s navázanou protilátkou na Fc receptory za vazbu erytrocytů s navázanou anti-D protilátkou, jejímž důsledkem by mělo být zvýšení počtu trombocytů v cirkulaci. Autoři skutečně prokázali vzestup počtu trombocytů po podání anti-D u většiny RhD pozitivních pacientů s ITP. U RhD negativních pacientů ke zvýšení počtu trombocytů nedošlo (5). Od té doby se rozšířilo použití anti-D globulinu v léčbě akutní i chronické ITP u dospělých, převážně v Kanadě a Spojených státech amerických (6, 7, 8). V 90. letech byly publikovány první práce o podání anti-D globulinu u akutní a chronické ITP u dětí (9, 10, 11). Práce shodně hodnotí anti-D globulin jako vhodnou alternativu léčby ITP u dětí a uvádějí jako hlavní výhody jeho podání krátkou dobu infuze, málo závažných nežádoucích účinků (hemolytická anémie, pyretické reakce s třesavkou) a nízkou cenu ve srovnání s HD IVIG. Anti-D globulin nebyl

v České republice pro léčbu dětí s ITP dosud používán.

## Cíle práce

Zhodnotit efekt, vedlejší účinky, výhody a nevýhody podání anti-D globulinu u dětí s chronickou formou ITP.

## Pacienti a metody

Do sledovaného souboru pacientů bylo zařazeno 8 RhD pozitivních dětských pacientů s chronickou formou ITP léčených ve čtyřech dětských hematologických centrech. Jednalo se o sedm dívek a jednoho chlapce ve věku 5–15 let (medián 9,5 let) s dobou trvání trombocytopenie 18–42 měsíců (medián 26 měsíců). Trombocyty při zahájení léčby se pohybovaly v rozmezí  $3\text{--}17 \times 10^9/l$  (medián  $6 \times 10^9/l$ ). Před zahájením podání anti-D globulinu byli pacienti léčeni: kortikoidy (8 pacientů), HD IVIG (7 pacientů), Cyklosporinem A (1 pacientka) a interferonem  $\alpha$ 2b (1 pacient). V době podávání anti-D globulinu nebyly pacientům podávány jiné léky kromě antipyretika (paracetamol). Žádný z pacientů nebyl splenektomován, všichni byli sledováni po dobu 6 měsíců po podání první dávky anti-D globulinu.

Charakteristika souboru pacientů je uvedena v tabulce 1.

Anti-D globulin (WinRho SDF, Cangene Corporation, Canada) byl podáván v dávce 50–60  $\mu$ g/kg ve 20minutové infuzi při hospitalizaci nebo na hematologické ambulanci (dávka dle hmotnosti byla zaokrouhlena na násobek 300  $\mu$ g – obsah jedné lahvičky). Šedesát minut před aplikací bylo podáno antipyretikum (paracetamol v dávce 15 mg/kg/dávku) jako prevence možné pyretické reakce.

Laboratorní vyšetření: kompletní krevní obraz (KO) včetně retikulocytů byl vyšetřen v den 0, 1, 2, 3, 7, 14, 21, 28. Trombocyty byly měřeny z krve odebrané do EDTA (etylendiaminotetraoctová kyselina) na automatickém analyzátoru KO a jejich počet byl ověřen při hodnocení nátěru periferní krve. V den 0 byl vyšetřen přímý a nepřímý Coombsův anti-globulinový test. Den 0 a 1 bylo u 7 pacientů

provedeno i biochemické vyšetření séra (transaminázy a základní parametry hemolýzy: bilirubin, haptoglobin, volný hemoglobin plazmy, LDH). U 5 pacientů byly vyšetřeny protilátky proti trombocytům metodou MAIPA před aplikací a týden po aplikaci léku.

Při poklesu trombocytů na hodnoty stejné jako při zahájení podání první dávky bylo u 3 pacientů podání anti-D globulinu opakováno. Ostatní 4 pacienti byli v dalším průběhu léčby jinými léky (HD IVIG, kortikoidy). Počet podaných dávek anti-D globulinu je uveden v tabulce 2.

Příznivá odpověď na léčbu byla definována jako zvýšení počtu trombocytů nad  $50 \times 10^9/l$  v průběhu 7 dnů po aplikaci, neodpovídavost jako vzestup počtu trombocytů na méně než  $30 \times 10^9/l$ . Byla hodnocena doba poklesu trombocytů pod  $50 \times 10^9/l$  (bezpečná hemostatická hranice), pod  $30 \times 10^9/l$  (hodnota trombocytů, při které obvykle pacient ještě nevyžaduje léčbu) a pod  $20 \times 10^9/l$  (hodnota trombocytů, při které se již objevují krvácivé projevy a je často indikována léčba).

### Výsledky

Příznivou odpověď na podání léku jsme pozorovali u 7 z 8 (84 %) pacientů souboru. U 4 z 8 pacientů (50 %) došlo k přechodné normalizaci počtu trombocytů, u tří pacientů k přechodnému vzestupu počtu trombocytů na hodnotu nad  $50,0\text{--}140 \times 10^9/l$ . Jedna pacientka byla na léčbu rezistentní. Maximální vzestup počtu trombocytů byl zjištěn 3. a 7. den po podání léku. Do 21 dnů došlo u všech 7 pacientů s příznivou odpovědí na podaný lék k poklesu trombocytů pod  $50 \times 10^9/l$  (graf 1). K poklesu počtu trombocytů na hodnotu pod  $30 \times 10^9/l$  došlo v rozmezí 14–28 dní (medián 21 dní), pokles trombocytů pod  $20 \times 10^9/l$  byl zaznamenán v rozmezí 14–42 dní (medián 28 dní) Dynamika počtu trombocytů v průběhu prvního podání anti-D globulinu u jednotlivých pacientů je sumarizována v grafu 1.

Hladina hemoglobinu klesla o 3–27 g/l (medián 17 g/l), u žádného pacienta však nebyl pokles hemoglobinu provázen klinickými příznaky a nevyžadoval transfuzi erytrocytární masy. Počet retikulocytů vzrostl na 3,1–7,2 % (medián 4,1%). Ostatní laboratorní známky hemolýzy byly mírné. Vzestup hladiny bilirubinu v séru nepřesáhl  $65 \mu\text{mol/l}$  (N:  $0\text{--}23 \mu\text{mol/l}$ ), hladina LDH byla zvýšena pouze u 5 pacientů, její hodnota nepřesáhla  $11,7 \mu\text{kat/l}$  (N:  $3,8\text{--}7,0 \mu\text{kat/l}$ ). Všichni pacienti měli nízkou hladinu haptoglobinu v séru.

Další závažnější vedlejší účinky nebyly pozorovány. U dvou pacientů se po podání anti-D globulinu objevila pyretická reakce (T do  $39^\circ\text{C}$ ) bez třesavky i přes preventivní podání antipyretika. U jednoho z těchto

dvou pacientů byl vzestup teploty provázen bolestí hlavy. Ostatní pacienti neudávali žádné potíže.

U čtyř pacientek jsme sledovali přetrvávání pozitivitu přímého antiglobulinového testu (PAT), pozitivita PAT v klesajícím titru byla zaznamenána po dobu 12–16 týdnů po podání dávky anti-D globulinu.

Šest ze sedmi pacientů s příznivou odpovědí na anti-D globulin v minulosti odpovědělo příznivě i na podání HDIVIG. Pacientka, která

neodpověděla na HDIVIG, neodpověděla ani na anti-D globulin.

U čtyř z pěti vyšetřených pacientů byly před zahájením léčby metodou MAIPA prokázány protilátky proti trombocytům (tabulka 1). U dvou pacientů šlo o protilátky vázané na trombocyty, u dvou pacientů o volné protilátky v séru. Sedm dní po aplikaci anti-D globulinu byla u obou pacientů s průkazem protilátek vázaných na trombocyty před zahájením léčby opět prokázána pozitivita protilátek stejného typu. U pacienta č. 6 došlo k vymizení volných

Tabulka 1. Charakteristika souboru pacientů

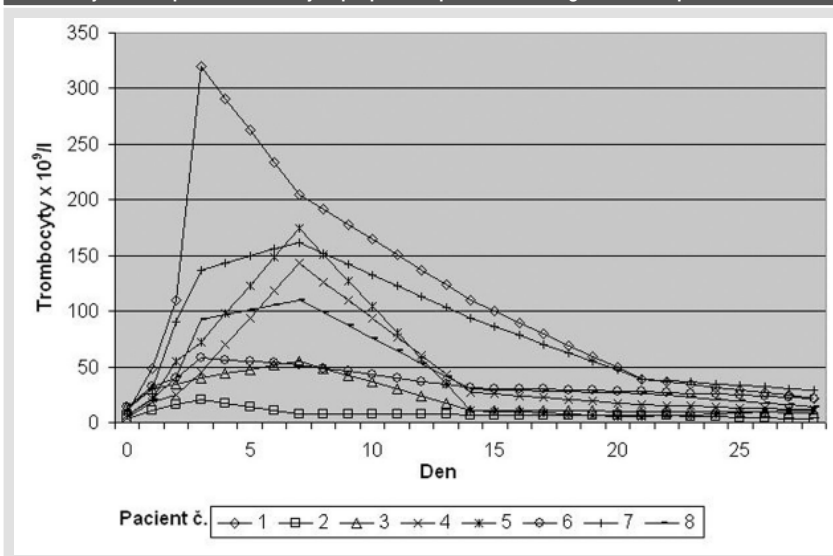
Pacient	Pohlaví	Věk (roky)	Délka onemocnění (měsíce)	Protilátky (MAIPA)	Léčba před aplikací anti-D
1	Ž	13	24	pozitivní–sérum	KS, HDIVIG
2	Ž	13	18	negativní	KS, HDIVIG
3	M	7	23	ND	KS, HDIVIG
4	Ž	7	25	ND	KS, HDIVIG
5	Ž	7	42	ND	KS, HDIVIG
6	Ž	12	29	pozitivní–sérum	KS, HDIVIG, IFN
7	Ž	15	26	pozitivní–trombocyty	KS
8	Ž	5	18	pozitivní–trombocyty	KS, HDIVIG, CSA

S: sérum, T: trombocyty, ND: neprovedeno, KS: kortikosteroidy, CsA: Cyklosprin A, IFN: Interferon  $\alpha\text{-}2\text{b}$

Tabulka 2. Průběh léčby první dávkou anti-D globulinu

Pacient	Dávka anti-D (g/kg dávku)	Počet dávek	Počet trombocytů před aplikací anti-D ( $\times 10^9/l$ )	Nejvyšší počet trombocytů po aplikaci anti-D ( $\times 10^9/l$ )	Pokles Hb (g/l)	Nejvyšší počet Tr po HDIVIG ( $\times 10^9/l$ )
1	52	3	9	342	19	215
2	55	1	3	21	3	25
3	53	2	4	66	27	165
4	50	3	6	143	18	211
5	52	1	5	175	22	314
6	45	1	17	52	7	125
7	53	1	6	93	16	–
8	51	1	12	166	6	62

Graf 1. Dynamika počtu trombocytů po prvním podání anti-D globulinu u pacientů souboru



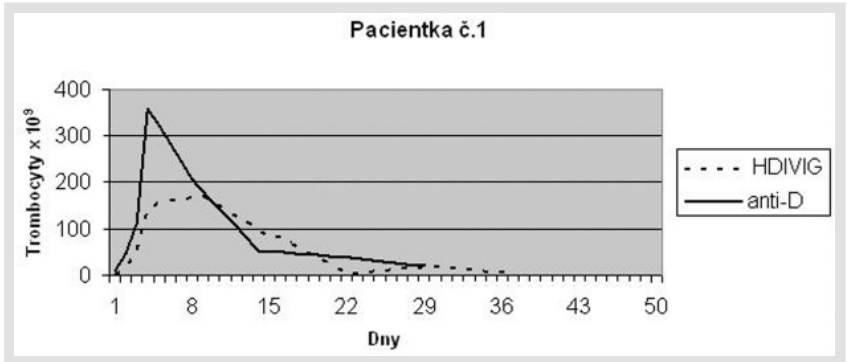
protilátek v séru, u pacienta č. 1 nález protilátek v séru přetrvával.

### Diskuze

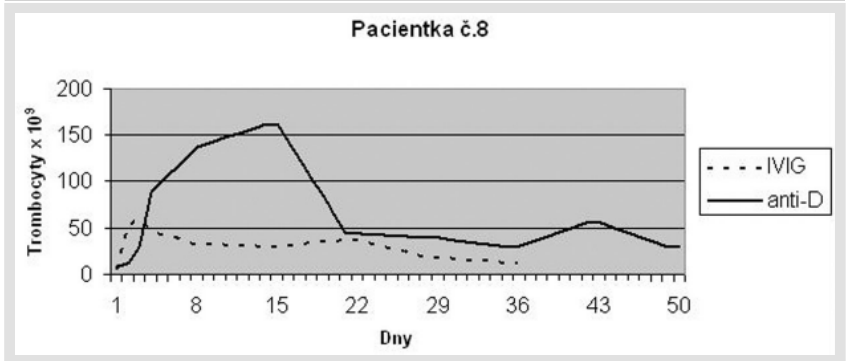
Názory na léčbu dětí s chronickou formou ITP se liší, mezi dětskými hematology neexistuje shoda v jednotném léčebném přístupu. Pouze u relativně malého počtu onemocnění v dětské hematologii je otázka léčby zdrojem tolika kontroverzních diskuzí jako u ITP (2). Léčba dětí s chronickou formou ITP patří v každém případě do rukou zkušeného dětského hematologa a vyžaduje individuální přístup. Jednou z hlavních zásad by mělo být neléčit pacienta pouze podle počtu trombocytů, ale také podle klinických příznaků, které i přes nízký počet trombocytů nemusí být závažné. Děti s počtem trombocytů nad  $30 \times 10^9/l$  obvykle není potřeba léčit. Léčba je jednoznačně indikována při významném slizničním krvácení, protrahovaných epistaxích, silném menstruačním krvácení nebo v situacích, kdy je nutno zvýšit počet trombocytů před chirurgickými výkony nebo zákroky v dutině ústní. Při použití doporučených léčebných postupů, ke kterým patří léčba kortikoidy a HDIVIG, je ve většině případů možno dosáhnout přechodného vzestupu počtu trombocytů, použití obou léků však má i velké nevýhody. Kortikoidy nejsou vhodné v přípravě před chirurgickými zákroky a v pooperačním období nebo při výrazném poklesu trombocytů v průběhu virových infekcí dýchacích cest. Jejich vedlejší účinky při dlouhodobém podávání jsou pro řadu pacientů, ke kterým patří často adolescenti, špatně akceptovatelné. HDIVIG je preparát vyrobený z lidské plazmy, jeho podávání může mít rovněž nepříznivé účinky a jeho cena je vysoká. Zkušenosti s ostatními léky s imunosupresivními nebo imunomodulačními účinky jsou malé, rizika jejich podání často převažují nad příznivým efektem. Dosud neexistuje tzv. „bezpečný“ lék. V posledních letech byl mezi léky vhodné pro léčbu akutní i chronické formy ITP u dětí i dospělých s ITP zařazen anti-D globulin. V publikovaných pracích je většinou hodnocen jako preparát, který má relativně málo vážných nežádoucích účinků a přijatelnou cenu. V roce 2004 byl anti-D globulin poprvé použit také u novorozence s autoimunitní trombocytopenií (12).

V našem souboru pacientů jsme potvrdili příznivý efekt anti-D globulinu u 7 z 8 (87 %) pacientů souboru, u 4 z 8 pacientů (50 %) se hodnota počtu trombocytů na přechodnou dobu normalizovala. Vzestup počtu trombocytů byl pozorován u pacientky neúspěšně léčené cyklosporinem a u další pacientky léčené interferonem  $\alpha$ -2b bez většího efektu. Bylo provedeno srovnání účinku anti-D globulinu a HDIVIG. U pacientky č. 1 bylo po aplikaci

Graf 2. Srovnání dynamiky počtu trombocytů po podání anti-D globulinu a HDIVIG u pacientky č. 1



Graf 3. Srovnání dynamiky počtu trombocytů po podání anti-D globulinu a HDIVIG u pacientky č. 8



anti-D globulinu možno sledovat pozvolnější pokles počtu trombocytů pod  $20 \times 10^9/l$  (35 dní) ve srovnání s HDIVIG podanými v dávce 0,8 g/l (21 dní) (graf 2). U pacientky č. 8 vedlo podání anti-D globulinu k normalizaci počtu trombocytů na rozdíl od HDIVIG, po kterých se počet trombocytů zvýšil maximálně na  $60 \times 10^9/l$ . Pokles trombocytů na hodnotu pod  $20 \times 10^9/l$  po podání anti-D globulinu byl i u této pacientky pozvolnější ve srovnání s podáním HDIVIG (graf 3). U dalších 5 pacientů byl efekt obou léků srovnatelný.

Aplikace anti-D globulinu jednoznačně vedla k dočasnému zlepšení kvality života pacientů. Rodiče i děti vnímali velmi pozitivně krátkou dobu aplikace a možnost ambulantního podání. Mírná hemolýza erytrocytů neměla u žádného pacienta kromě ikteru sklér jiné klinické příznaky.

Anti-D je hyperimunní globulin s vysokým titrem protilátek proti RhD antigenu vyrobený z lidské plazmy. Je používán hlavně v prevenci imunizace RhD antigenem plodu u RhD negativních matek. Jeho použití u ITP má efekt pouze u RhD pozitivních pacientů, u RhD negativních pacientů s ITP je tento lék bez efektu. Dle prevalence RhD negativních jedinců v populaci jej tedy nelze použít asi u 15–17 % pacientů s ITP. Jeho podání nemá prakticky žádný efekt u pacientů po splenektomii (13).

Mechanismus účinku anti-D globulinu zatím nebyl jednoznačně objasněn. Obecně je dosud uznávána teorie blokády monocytomakrofágového systému erytrocytů s navá-

zanou anti-D protilátkou. Původní teorie je založena na předpokladu, že anti-D je navázán na povrch RhD + erytrocytů, které jsou potom přednostně vázány na Fc receptor (FcγR) ve slezině a saturují tak kapacitu sleziny ve vychytávání ostatních cirkulujících buněk s navázanou protilátkou, v případě ITP trombocytů s navázanou protilátkou. Mechanismus účinku erytrocytů s navázanou protilátkou je tedy analogický splenektomií, efekt je však na rozdíl od splenektomie krátkodobý. Anti-D není účinný u RhD negativních pacientů, což demonstruje skutečnost, že odpověď na anti-D vyžaduje vazbu molekul IgG na erytrocyty.

U 80–85 % pacientů je efekt anti-D globulinu přechodný a trvá průměrně 3 týdny. U části pacientů trvá však efekt anti-D mnohem déle, například i ve srovnání s HDIVIG (11). Proto se předpokládají i jiné mechanismy jeho působení. Bussel a spoluautoři (7) prokázali u pacientů s ITP léčených anti-D globulinem zvýšenou in vitro produkci protilátek třídy IgG proti ovčím erytrocytům při nezměněné expresi FcR1 na cirkulujících monocytech, předpokládá proto imunomodulační efekt. Teorii o možné imunomodulaci podporují také pomalejší nástup účinku anti-D ve srovnání s HDIVIG a fakt, že míra vzestupu počtu trombocytů nekoreluje se stupněm hemolýzy (7). Podání anti-D je sledováno přechodnou změnou hladiny některých cytokinů, například výrazným zvýšením hladiny interleukinu (IL)6, IL10, tumor nekrotizujícího faktoru (TNF) $\alpha$  a monocyty vázajícího proteinu 1 (MCP-1) 2 hodiny po ukončení infúze

anti-D (14, 15). Zvýšení těchto prozánětlivých cytokinů, které jsou produkovány v časně fázi imunitní odpovědi, demonstruje intenzitu interakce erytrocytů s vázanou anti-D protilátkou s buňkami monocyto-makrofágového systému. Zvýšení jejich hladin koreluje se závažností některých nežádoucích účinků, jako je teplota s třesavkou. Odpověď na anti-D a hladina cytokinů je ovlivněna také polymorfizmem Fc $\gamma$ R (15). Dalším faktorem ovlivňujícím efekt anti-D může být snížení fagocytózy neutrofilních granulocytů, které bylo prokázáno při inkubaci leukocytů periferní krve s anti-D globulinem. Vedle přímé blokády Fc $\gamma$ R může dle autorů práce imunomodulační účinek anti-D globulinu spočívat i v ovlivnění funkce granulocytů (16).

V průběhu dlouhodobého sledování dosáhne remise onemocnění 37–52 % dětských pacientů s ITP. Přirozený průběh onemocnění je odlišný od ITP dospělých, u kterých ve většině případů ke spontánnímu nástupu remise nedochází. Riziko sepse po splenektomii, poměrně nízký výskyt závažných příznaků u chronické ITP a možnost spontánní remise jsou hlavními motivy snahy o oddálení splenektomie. V posledních letech je patrný zřetelný odklon od splenektomie u dětí s chronickou formou ITP.

Anti-D globulin je některými autory považován za lék umožňující po opakovaném podání u dospělých pacientů oddálit nebo zcela eliminovat nutnost splenektomie. Weintraub (17) analyzoval soubor 16 dospělých pacientů s ITP, u kterých bylo po opakovaném podání anti-D globulinu dosaženo stabilizace počtu trombocytů, u žádného z nich nebylo nutno indikovat splenektomii. Cooper (8) v souboru 28 dospělých pacientů s ITP léčených anti-D prokázal, že u 43 % pacientů bylo možno po opakovaném podání anti-D globulinu vysadit léčbu bez provedení splenektomie. Prospektivní studie hodnotící vliv opakovaného podání anti-D globulinu u dětí na oddálení nebo eliminaci indikace splenektomie zatím nebyly publikovány. Newman (18) prokázal ve studii 27 dospělých pacientů s ITP, že podání vyšší dávky anti-D (75  $\mu$ g/kg) prodlužuje signifikantně dobu odpovědi z 21 na 46 dní.

K nejzávažnějším vedlejším účinkům anti-D globulinu patří hemolytická anémie. Po aplikaci anti-D byl popsán i ojedinělé případy akutní intravaskulární hemolýzy s hemoglobinurií, ve dvou případech provázené selháním ledvin (19). Všichni pacienti našeho souboru měli Coombs-pozitivní hemolytickou anémii, ta však nebyla provázena klinickými symptomy, pokles hladiny Hb byl většinou mírný a žádné z dětí nevyžadovalo transfuzi erytrocytů. U dvou pacientů byl zaznamenán vzestup teploty provázený v jednom případě bolestí hlavy.

Závažným potenciálním rizikem aplikace anti-D globulinu je přenos virových onemocnění. Relativně malý pool dárců, z jejichž plazmy se anti-D globulin izoluje, snižuje teoreticky pravděpodobnost přenosu infekčních chorob. Po podání anti-D globulinu dosud nebyl popsán případ přenosu dosud známých patogenů přenášených krevními deriváty. Pokud však nebudou definitivně vyřešeny otázky rizika přenosu Creutzfeldovy-Jacobovy choroby (20), případně patogenů dosud neznámého původu, kterýkoliv přípravek vyrobený z lidské krve nebo plazmy přináší potenciální riziko přenosu infekčních agens (21).

Anti-D globulin není lék, který zasahuje do základního patogenetického mechanismu ITP. V našem souboru bylo u dvou pacientů prokázáno přetrvávání protilátek vázaných na trombocyty 7 dní po podání léku, což podporuje hypotézu, že anti-D globulin nezasahuje do mechanismu tvorby trombocytárních protilátek. Jeho podání tedy není kauzální léčbou a nelze od něj očekávat vyléčení pacienta. Všemi pacienty souboru však byl dobře snášen a po prvních zkušenostech je možno jej považovat za jednu z možností, jak zlepšit kvalitu života dětských pacientů s chronickou ITP a dát pacientovi šanci na dosažení spontánní remise onemocnění a tím současně oddálení nebo eliminaci nutnosti splenektomie.

### Závěry

1. Po podání anti-D globulinu byla příznivá odpověď pozorována u 7 z 8 (87,4 %) pacientů s chronickou formou ITP, jedna pacientka na léčbu neodpověděla. Normalizace počtu trombocytů v průběhu 7 dní po podání anti-D byla pozorována u 4/8 (50 %) pacientů souboru. Efekt léku byl u všech pacientů s příznivou odpovědí přechodný. Zvýšení počtu trombocytů na bezpečnou hemostatickou hranici  $50 \times 10^9/l$  bylo dosaženo po 48–172 hodinách, doba zvýšení počtu trombocytů nad  $50,0 \times 10^9/l$

nepřesáhla u žádného z pacientů 21 dní. K poklesu počtu trombocytů na hodnoty pod  $30 \times 10^9/l$  došlo v rozmezí 14–28 dní (medián 21 dní), pod  $20 \times 10^9/l$  v průběhu 14–42 dní (medián 28 dní).

2. U všech pacientů došlo k poklesu hladiny hemoglobinu v důsledku Coombs-pozitivní hemolytické anémie. Maximální pokles hemoglobinu byl 27 g/l (rozptyl 3–27 g/l, medián 17g/l). Stupeň hemolýzy nebyl klinicky významný.
3. Lék byl všemi pacienty dobře snášen. Kromě poklesu hemoglobinu nebyly pozorovány závažné vedlejší účinky. U dvou pacientů se objevila lehká pyretická reakce bez třesavky i přes preventivní podání antipyretika, u jednoho z nich provázená bolestí hlavy.
4. Odpověď na podání anti-D globulinu byla pozorována u všech 6 pacientů s dobrou odpovědí na HDIVIG. Pacientka, která neodpověděla na podání HD IVIG, neodpověděla ani na podání anti-D globulinu.
5. Lék je možno podávat ambulantně, cena jedné aplikace pro pacienta vážícího 30 kg je 4 305 Kč.

Cena HDIVIG pro dávku 0,8–1 g/kg je průměrně 26 900 Kč, tedy přibližně 6x vyšší. Anti-D globulin by bylo možno s výhodou použít k plánovanému vzestupu počtu trombocytů (operační zákroky) nebo jako méně finančně nákladnou variantu HDIVIG v situacích, kdy není vhodné podat kortikoidy. Jeho podání nezasahuje do patogenetického mechanismu onemocnění, nelze proto očekávat vyléčení onemocnění. Anti-D však dává čas pacientům na postupné spontánní zlepšení onemocnění a je možno jej použít u pacientů, kde je potřeba oddálit splenektomii.

K definitivnímu zhodnocení efektu anti-D globulinu, jeho optimální dávky a vedlejších účinků u dětských pacientů s chronickou formou ITP jsou nutné další systematické studie na velkém souboru pacientů.

### Literatura

1. Medeiros D, Buchanan GR. Major hemorrhage in children with idiopathic thrombocytopenic purpura: Immediate response to therapy and long term outcome. *J Pediatr* 1998; 133: 334–338.
2. Medeiros D, Buchanan GR. Current controversies in the management of idiopathic thrombocytopenic purpura during childhood. *Ped Clin North Amer* 1996; 757–769.
3. George JN, et al. Idiopathic thrombocytopenic purpura: A practice guidelines developed by explicit methods for the American Society of Hematology. *Blood* 1996; 88: 3–40.
4. Eden OB, Lilleyman JS. Guidelines for management of idiopathic thrombocytopenic purpura. The British Paediatric Haematology group. *Arch Dis Child* 1992; 67: 1056–1069.
5. Salama A, Kiefel V, Amberg R, Mueller-Eckhard C. Treatment of autoimmune thrombocytopenic purpura with rhesus antibodies. *Blut* 1984; 49: 29–35.
6. Bennett CL, Weinberg PD, Golub RM, Bussell JB. The potential for treatment of idiopathic thrombocytopenic purpura with anti-D to prevent splenectomy: a predictive cost analysis. *Semin Hematol* 2000; 37: 26–31.
7. Bussell JB, Graziano JN, Kimberly RP, et al. Intravenous anti-D treatment of immune thrombocytopenic purpura: Analysis of efficacy, toxicity and mechanism of effect. *Blood* 1991; 77: 1884–1893.
8. Cooper N, Woloski BMR, Fodero EM, et al. Does treatment with intermittent infusions of intravenous anti-D allow a proportion of adults with recently diagnosed immune thrombocytopenic purpura to avoid splenectomy? *Blood* 2002; 99: 1922–1927.

9. Andrew M, Blanchette VS, Adams M, et al. A multicenter study of the treatment of childhood chronic idiopathic thrombocytopenic purpura with anti-D. *J Pediatr* 1992; 120: 522–5275.
10. Blanchette V, Imbach P, Andrew M, et al. Randomized trial of intravenous immunoglobulin G, intravenous anti-D, and oral prednisone in childhood acute immune thrombocytopenic purpura. *Lancet* 1994; 344: 703–707.
11. Tarantino MD, Madden RM, Fennewald DL, et al. Treatment of childhood immune thrombocytopenic purpura with anti-D immune globulin or pooled immune globulin. *J Pediatr* 1999; 134: 21–26.
12. Gaedicke G, Cremer M, Meyer O, Salama A. A therapy refractory neonatal auto-immune thrombocytopenia treated with anti-D. *Eur J Pediatr* 2004; 163: 183–184.
13. Scaradavou A, Bonnie W, Woloski BMR, et al. Intravenous anti-D treatment of immune thrombocytopenic purpura: experience in 272 patients. *Blood* 1997; 98: 2689–2700.
14. Semple JW, Allen D, Rutherford M, et al. Anti-D (WinRho SD) treatment of children with chronic autoimmune thrombocytopenic purpura stimulates transient cytokine/chemokine production. *Am J Hematol* 2002; 69: 225–227.
15. Cooper N, Heddle NM, Haas M, et al. Intravenous (IV) anti-D and IV immunoglobulin achieve acute platelet increase by different mechanism: modulation of cytokine and platelet responses to IV anti-D by Fc $\gamma$ R1IIa and Fc $\gamma$ R1IIb polymorphisms. *Br J Haematol* 2004; 124: 511–518.
16. Coopamah MD, Freedman J, Semple JW. Anti-D initially stimulates an Fc-dependent leukocyte oxidative burst and subsequently suppresses erythrophagocytosis via interleukin-1 receptor antagonist. *Blood* 2003; 102: 2862–2867.
17. Waintraub SE, Brody JI. Use of Anti-D in immune thrombocytopenic purpura as a means to prevent splenectomy: Case reports from two University hospital centres. *Semin Hematol* 2000; 37: 45–49.
18. Newman GC, Novoa MV, Fodero EM, Lesser ML, Woloski BMR, Bussel JB. A dose of 75  $\mu$ g/kg/g of anti-D increases the platelet count more rapidly and for a longer period of time than 50  $\mu$ g/kg/g in adults with immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2001; 112: 1076–1078.
19. Gaines AR. Acute onset hemoglobinemia and/or hemoglobinuria and sequelae following Rho (D) immune globulin intravenous administration in immune thrombocytopenic purpura patients. *Blood* 2000; 95: 2523–2529.
20. Rickets MN. Is Creutzfeld-Jacob disease transmitted in blood? Is the absence or evidence of risk? *Can Med Assoc J* 1997; 157: 1367–1370.
21. Soldan K, Barbara J. The risk of infective transmission by blood transfusion in England. *J Clin Pathol* 1999; 52: 405–408.