

Katastrofální výsledek klinického testu objasněn

VÁCLAV HOŘEJŠÍ

Před devíti lety jsem zde psal o velikém „průšvih“ při testování potenciálně nadějně monoklonální protilátky TGN1412, namířené proti pomocnému receptoru T-lymfocytů CD28 (Vesmír 85, 583, 2006/10; viz též Vesmír 84, 645, 2005/11). Ta byla vyvinuta biotechnologickou firmou TeGenero na základě několikaletého výzkumu v laboratoři T. Hüniga na univerzitě v německém Würzburgu.

Velké naděje spojované s tímto preparátem byly založené na tom, že obdobné protilátky reagující s myší molekulou CD28 velmi dobře fungovaly a potlačovaly experimentální autoimunitní choroby. Tyto účinky jsou založené na silné stimulaci klíčových buněk imunitního systému, T-lymfocytů; při použití vhodné dávky pak víceméně specificky tzv. regulačních T-lymfocytů (Treg), které jsou schopny tlumit většinu imunitních reakcí. Takový nástroj by tedy mohl být neobyčejně užitečný pro potlačování lidských autoimunitních chorob nebo odhojovacích reakcí po orgánových transplantacích.

Preparát TGN1412 byl v březnu roku 2006 použit v první fázi klinického testování, které mělo u malé skupiny zdravých dobrovolníků zjistit, zda nemá nepříznivé účinky. Test však dopadl katastrofálně. U všech šesti dobrovolníků, kteří dostali první dávku, došlo během krátké doby k prudké, život ohrožující negativní reakci. Všechny se sice podařilo zachránit na jednotce intenzivní péče, ale většina z nich bude zřejmě mít doživotně poškozený imunitní systém. Negativní reakce byla projevem toho, čemu se říká „cytokinová bouře“, resp. „syndrom uvolnění cytokinů“ (cytokine-release syndrome – CRS).

Jak již název říká, jde o uvolňování řady cytokinů (jakýchsi proteinových „hormonů“ imunitního systému), které při deregulovaném, masivním uvolnění způsobují prudké zvýšení tělesné teploty, pokles krevního tlaku, otoky, poškození cév, ledvin a jater atd. Tento život ohrožující šokový stav nastává po některých mimořádně silných podnětech aktivujících imunitní systém – podílí se např. na úmrtnosti na některá virová onemocnění (např. známou „španělskou“ či „ptačí“ chřipku) a je častou komplikací při použití terapeutických monoklonálních protilátek.

Preparát TGN1412 (resp. funkčně obdobné druhově specifické monoklonální protilátky) prošel úspěšně preklinickým testováním na zvířatech (myších, potkanech a opicích) i na lidských bílých krvinkách v kultuře. Pokus-

né osoby dostaly pro jistotu mnohonásobně (500krát) nižší dávku než tu, která byla bezpečná u makaků. Přesto došlo ke katastrofě. Důvody se objasnily teprve po několika letech důkladných studií v několika světových laboratořích. Ukázalo se,¹ že hlavní důvody byly dva: (1) zdrojem prudce uvolněných cytokinů byly tzv. efektorové paměťové T-lymfocyty roztroušené v různých tkáních, které jsou pozůstatky mnoha překonaných dosavadních infekcí. Laboratorní hlodavci chovaní v téměř sterilních podmínkách mají takových buněk velmi málo, a proto u nich podobná reakce pozorována nebyla. Makakové je sice mají, ale na rozdíl od lidí není na povrchu jejich buněk kritická molekula CD28 (která je jinak s lidskou téměř totožná a je přítomná na ostatních T-lymfocytech makaků) – to se ovšem v době testování ještě nevědělo.

To, že se příznaky bouřlivé aktivace nepozorovaly ani v experimentech *in vitro* s lidskými T-lymfocyty, bylo způsobeno technickým detailem – tím, že hustota těchto buněk byla příliš nízká; jak se totiž teprve později ukázalo, mezibuněčné kontakty při vyšší hustotě buněk (jaká existuje za fyziologických podmínek v lymfatických uzlinách) jsou nezbytné pro jakousi „presensitizaci“ T-lymfocytů potřebnou pro následující plný aktivační účinek testované monoklonální protilátky. Když se tyto nové poznatky vza-ly v úvahu, ukázalo se, že pro bezpečné testování by bylo potřeba snížit dávku ještě asi 200krát (není ovšem jasné, jestli by bylo při takto nízké koncentraci reálně očekávat konečné žádoucí pozitivní efekty pozorované u zvířecích modelů); pro zabránění případným negativním účinkům by se téměř jistě dalo použít standardní léčby kortikosteroidy.

Pátrání po příčinách katastrofálních výsledků testu na lidských dobrovolnících tedy vedlo ke spoustě zajímavých a velmi důležitých poznatků. Škoda jen, že tyto poznatky nebyly získány za nějakých příjemnějších okolností.


Nejen pro postižené dobrovolníky, ale i pro badatele, kteří se podíleli na vývoji onoho testovaného preparátu, byl šokující výsledek testování určitě velice traumatizující. Oficiální vyšetřování případu však vedlo k závěru, že se nikdo nedopustil nedbalosti nebo formální chyby, že byla dodržena všechna dosavadní platná pravidla. To, co se stalo, bylo důsledkem nepředvídatelných

Prof. RNDr. Václav Hořejší, CSc., viz Vesmír 92, 499, 2013/9.

komplikácií, ktoré nemohly byť za tehdejšího stavu znalostí predpokladávané. Rada badateľů, zvlášt' z biotechnologických a farmaceutických spoločností, ktorí majú (na rozdiel od „nováčků“ z firmy TeGenero) dlhodobé skúsenosti s testovaním experimentálnych liečiv, však s takovým smířlivým záverom nesouhlasí a domníva sa, že problematický výsledok testu mohol byť pri dôkladnejšom analýze preklinických dát do určitej miery predvídaný.²

To, čo sa stalo, samozrejme vedlo k úprave pravidiel testovania preparátů, ktoré sú poprvé podávané zdravým dobrovoľníkům. Nyní sa takéto experimenty musí vykonávať iba v zariadeniach vybavených jednotkou intenzívnej starostlivosti, preparát sa podáva najprv jedinému dobrovoľníkovi, a potom po niekoľkých, resp. mnoha hodinách sa pokračuje v podávaní ďalším. Stejný postup sa musí

použiť, i keď sa v takomto klinickom teste iba zvyšuje dávka už dříve testovaného preparátu.

Je možné, že sa monoklonálna protilátka TGN1412 časom prece iba vráti do klinického testovania a nakoniec z ní bude užitočný liek? Myslím, že ano. Keď sa optimalizuje testovanie na nejakom druhu primátů, určí sa bezpečná dávka, popri tom sa molekula protilátky modifikuje tak, aby sa obmedzily iba nepriaznivé účinky, existuje stále dobrá šanca, že sa nakoniec splní nádej pôvodne vkladaná do tohto preparátu. V každom prípade sa na tom intenzívne pracuje – v posledných rokoch vyšlo niekoľko desiatok publikácií zaoberajúcich sa mechanizmom pôsobenia tohto pozoruhodného monoklonálneho protilátky a molekulárnymi mechanizmami súvisiacimi s negatívnymi vedľajšími účinkami *in vivo*. 

1) Nat. Rev. Immunol. 12, 317, 2012.


2) Nat. Rev. Immunol. 12, 740, 2012.

Kambrická explózia podľa Darwina

Záhada kambrickej explózie, t. j. pomerne náhleho objavenia sa hlavných skupín metazoí, patrí popri otázke vzniku života na našej planéte k tým najdôležitejším evolučným kvestiám a výzvam súčasnej evolučnej biológie. S touto hádankou si nevedel rady ani sám Darwin. Predpokladal však, že aj keď je proces náhleho objavenia sa viacerých pokročilých skupín živočíchov prakticky v jednom okamihu (v súčasnosti vieme, že tento okamih bol predsa len o niečo dlhší) veľmi zložitý vysvetliť modelom prírodného výberu, aj tak evolúcia v kambrii prebiehala gradualisticky s využitím prírodného výberu ako hlavného mechanizmu.

Podľa najnovšej štúdie by za takýmto masívnym prílivom diverzity približne pred 530 miliónmi rokov mohla stáť zvýšená evolučná rýchlosť. Autori štúdie sa preto rozhodli posvietiť si na rýchlosť genetickej a morfolologickej evolúcie organizmov v období kambrickej explózie a v súčasnosti (veľkým problémom pri takýchto štúdiách je predovšetkým neúplnosť fosilného záznamu, na čo si „vylámal zuby“ ne jeden vedec), kvantifikovať genetické a anatomické rozdiely medzi nimi a zistiť, za aký čas sa tieto zmeny naakumulovali. Za molekulárnou evolúciou pritom stoja menšie či väčšie zmeny na úrovni genetického kódu (mutácie), ktorých rozsah alebo nahromadenie môže ovplyvniť aj fenotypové črty súvisiace s evolúciou morfológických znakov. Autorský tím sa zameril na kmeň článkonožcov (hmyz, kôrovce, pavúkovce a podobné skupiny), ktorý patril k naj-

diverzifikovanejším skupinám živočíchov v období kambria, ale aj súčasnosti, navyše, vznik tohto taxónu sa datuje práve do obdobia kambria. V kambrii sa objavilo mnoho známych morfológických štruktúr spojených s touto skupinou, napríklad v podobe tvrdého exoskeletu, končatín s kĺbovými spojeniami či zložených očí, ktoré majú všetky skupiny článkonožcov.

Podrobná analýza dostupných údajov dokonca odhalila aj výskyt prvých antén známych z fosilného záznamu (vyskytujú sa pri hmyze, mnohonožkách a homároch) i najranejších hryzadiel (podrobnejšie informácie k jednotlivým štruktúram sa nachádzajú v prílohe článku: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2013.07.055>). Porovnaním údajov z kambria a súčasnosti autori dospeli k záveru, že rýchlosť fenotypovej evolúcie ediakarského hmyzu sa oproti súčasnej zvýšila približne 4-krát, rýchlosť molekulárnej evolúcie dokonca 5,5-krát. Z modelovania vyplývalo, že aj takéto relatívne mierne zrýchlenie evolúcie v období kambrickej explózie dostatočne vysvetľuje zdanlivo náhle objavenie sa mnohých pokročilých skupín organizmov takmer v rovnakom okamihu. Výsledky sú navyše konzistentné s evolúciou založenou na prírodnom výbere a s údajmi týkajúcimi sa žijúcich organizmov. Zdá sa, že „Darwinovo dilema“ je konečne vyriešená a v období kambrickej explózie prebiehala evolúcia normálnymi vývojovými procesmi. (Michael S. Y. Lee et al.: Current Biology, DOI: 10.1016/j.cub.2013.07.055) 

PETER MIKULA