

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИТЕЛ К ТЕРАПЕВТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТАМ ЭРИТРОПОЭТИНА: ВОЗМОЖНО ЛИ СОЗДАНИЕ УНИВЕРСАЛЬНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ?

Кудряшова А.М.¹, Борисов А.В.², Кольцова А.А.², Пушкина А.В.²,
Борисова О.В.¹

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

² ООО «Компания «Фесфарм», Москва, Россия

Резюме. Целью данной работы является оценка влияния препарата эритропоэтина, используемого для получения иммуносорбента, на выявление IgG-антител к ЭПО иммуноферментным методом в сыворотках крови пациентов, проходящих терапию препаратами чрЭПО.

Проанализированы 294 сыворотки крови пациентов, получавших препараты эритропоэтина и 127 образцов пациентов, не получавших препараты чрЭПО. Исследование проводили методом твердо-фазного ИФА путем связывания исследуемых препаратов чрЭПО на планшете с иммобилизованными моноклональными антителами к ЭПО.

Выявление антител к эритропоэтину проводили с использованием мышинных моноклональных антител к IgG, IgG1 и IgG4 человека, конъюгированных с пероксидазой хрена. В работе исследовали препараты: эритропоэтин рекомбинантный человеческий рчЭПО-бета (Shandong Kexing Bioproducts), европейский стандарт эритропоэтина BRP 3, коммерческие препараты Аранесп (Amgen Europe B.V.), Мирцера (F. Hoffmann-La Roche, Ltd.), Эпрекс (ОО «Джонсон & Джонсон»), Эральфон (ЗАО «Фарм-Фирма «Сотекс»).

Чувствительность характеризовали индексом позитивности (ИП), вычисляемом по формуле $ИП = \frac{ОП_{образца}}{ОП_{порог}}$, где $ОП_{порог} = ОП_{ср.К.} + 3SD$, где $ОП_{ср.К.}$ — среднее арифметическое значение регистрируемого сигнала для выборки сывороток крови пациентов, никогда не получавших препараты эритропоэтина, SD — стандартное отклонение. Результаты оценивали как положительные с $ИП > 1,1$ и отрицательные с $ИП < 0,9$. Результаты в диапазоне $0,9 \leq ИП \leq 1,1$ рассматривали как неопределенные.

Из 294 проанализированных образцов при определении суммарных специфических IgG-антител 32 образца оценивали как положительные или неопределенные во всех случаях, при этом доля неопределенных была выявлена в 1,0-1,7% образцов. Из них антитела субкласса IgG1 были обнаружены у 50-56,3% пациентов, антитела субкласса IgG4 у 43,8-50% пациентов. Тест Манна–Уитни показал достоверное различие между исследуемыми образцами по сравнению с контрольной группой для всех модификаций ИФА ($p = 0,001$). Тест Краскела–Уоллиса не выявил существенных различий для пяти выборок данных по ИП, полученных при иммунохимической иммобилизации различных препаратов ЭПО ($p = 0,05$).

Адрес для переписки:

Кудряшова Александра Михайловна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»
105064, Россия, Москва, ул. 1-я Дубровская, 15.
Тел.: 8 (495) 674-54-97.
E-mail: 2238250@rambler.ru

Address for correspondence:

Kudryashova Alexandra M.
I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera
105064, Russian Federation, Moscow,
1st Dubrovskaya str., 15.
Phone: 7 (495) 674-54-97.
E-mail: 2238250@rambler.ru

Образец цитирования:

А.М. Кудряшова, А.В. Борисов, А.А. Кольцова, А.В. Пушкина, О.В. Борисова «Определение антител к терапевтическим препаратам эритропоэтина: возможно ли создание универсальной тест-системы?» // Медицинская иммунология, 2021. Т. 23, № 3. С. 605-612.
doi: 10.15789/1563-0625-DOA-2169

© Кудряшова А.М. и соавт., 2021

For citation:

A.M. Kudryashova, A.V. Borisov, A.A. Koltsova, A.V. Pushkina, O.V. Borisova "Detection of antibodies to erythropoietin-based drugs: is it possible to create the universal test system?", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2021, Vol. 23, no. 3, pp. 605-612.
doi: 10.15789/1563-0625-DOA-2169

DOI: 10.15789/1563-0625-DOA-2169

Коэффициент корреляции индексов позитивности находился в диапазоне 0,99-0,96 для суммарных IgG и > 0,98 для двух подклассов антител. Коэффициент линейной регрессии был близок к единице, что указывает на незначительные различия в чувствительности сравниваемых методик.

Проведенные исследования указывают на возможность определять антитела к эритропоэтину у пациентов, получавших различные препараты чрЭПО, в одной тест-системе, что открывает возможность для разработки универсальной коммерческой тест-системы.

Ключевые слова: эритропоэтин, препараты чрЭПО, твердофазный ИФА, антитела к эритропоэтину, иммуногенность, сыворотка крови

DETECTION OF ANTIBODIES TO ERYTHROPOIETIN-BASED DRUGS: IS IT POSSIBLE TO CREATE THE UNIVERSAL TEST SYSTEM?

Kudryashova A.M.^a, Borisov A.V.^b, Koltsova A.A.^b, Pushkina A.V.^b, Borisova O.V.^a

^a I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

^b Fesfarm Company LLC, Moscow, Russian Federation

Abstract. Our aim was to compare different immobilized erythropoietin (EPO) preparations for their ability to detect anti-EPO IgG antibodies in blood sera of EPO-treated patients with ELISA technique. 294 serum samples of the patients treated with erythropoietin were analyzed. 127 serum samples of patients who did not receive recombinant human EPO (rhEPO) were studied for comparative analysis. ELISA assay was performed, and different rhEPO drugs were immobilized on the anti-EPO monoclonal antibody-coated plates. Horseradish peroxidase-conjugated mouse monoclonal antibodies to human IgG, IgG1, and IgG4 was used for detection. The following drugs were studied: recombinant human erythropoietin rhEPO-beta (Shandong Kexing Bioproducts), European standard of erythropoietin BRP 3, commercial drugs Aranesp (Amgen Europe B.V.), Mircera (F. Hoffmann-La Roche Ltd.), Eprex (Johnson & Johnson LLC), Eralfon (Pharmaceutical Company Sotex). The sensitivity of the method was expressed as a positivity index (IP). IP calculated as the ratio of OD from tested sera to OD at the cut-off levels. The latter was assumed as a mean $OD \pm SD$ for serum samples from EPO-naïve patients. The results were evaluated as positive with $IP > 1.1$, and negative at $IP < 0.9$. Results in the range of $0.9 \leq IP \leq 1.1$ were considered as unidentified. Among the 294 samples, 32 specimens were evaluated as positive or unidentified for total IgG anti-EPO antibodies. The unidentified samples were detected in 1.0-1.7% of all cases. IgG1 subclass antibodies were found in 50-56.3% of patients and IgG4 subclass antibodies, in 43.8-50% of the patients. Mann-Whitney test showed a significant difference between the test samples compared to control group for all the ELISA modifications ($p = 0.001$). The Kruskal-Wallis test did not show significant differences between the IP results obtained with any of five immobilized EPO drugs ($p = 0.05$). The correlation quotient of IP was in the range of 0.99-0.96 for total IgG and > 0.98 for two subclasses of antibodies. Linear regression coefficients were close to one, thus indicating absence of significant differences in the sensitivity of the compared methods. This study indicate the opportunity of using the similar test systems to determine anti-EPO antibodies in the patients treated with various rhEPO drugs. Therefore, it is possible to develop a universal commercial test system to this purpose.

Keywords: erythropoietin, EPO drug, ELISA, anti-EPO antibodies, immunogenicity, human serum

Введение

Человеческий рекомбинантный эритропоэтин успешно применяется в клинической практике при лечении хронической почечной недостаточности, онкологических заболеваниях, эритропоэтиндефицитных анемий и трансплантации органов. Тем не менее, как и многие тера-

певтические протеины, эритропоэтин, обладает иммуногенностью, т.е. способен индуцировать синтез специфических антител, приводящих к резистентности терапии и в редких случаях к полной аплазии красного костного мозга [2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 13, 14, 15, 17].

В настоящее время применяются препараты рекомбинантного человеческого эритропоэтина,

отличающиеся по степени гликозилирования, соотношению изоформ, по составу готовой лекарственной формы, а также в виде конъюгата с метоксиполиэтиленгликолем, Эндогенный ЭПО и рекомбинантный человеческий ЭПО (рчЭПО) имеют различные паттерны гликозилирования, связанные с сиаловой кислотой, что может влиять на иммуногенность препаратов, в том числе повышенное гликозилирование может приводить к «маскировке» определенных эпитопов. На стадии доклинических и клинических исследований в соответствии с нормативной документацией, при изучении иммуногенности антитела должны определяться именно к препарату, проходящему испытания, и аналитические методики должны разрабатываться с учетом определенных требований [11]. В клинической практике пациенты получают препараты ЭПО разных производителей и различных по структуре эпоэтинов, представленных на фармацевтическом рынке. В большинстве случаев каждому пациенту в процессе длительной терапии чрЭПО препараты периодически заменяют. В связи с этим возникает вопрос о влиянии препарата эритропоэтина, используемого для связывания специфических IgG-антител в процессе постановки анализа, на результаты их выявления. При пассивной иммобилизации препарата требуется наличие чистой субстанции, не содержащей стабилизирующих добавок. Иммунохимическая иммобилизация может быть проведена путем связывания препаратов ЭПО с предварительно сорбированными в лунках планшета моноклональными антителами мыши к ЭПО. Эта схема позволяет получать иммуносорбент с использованием коммерческих форм препаратов рчЭПО.

Целью данной работы является оценка влияния препарата эритропоэтина, используемого для получения иммуносорбента на выявление IgG-антител к ЭПО иммуноферментным методом в сыворотках крови пациентов, проходящих терапию препаратами ЭПО.

Материалы и методы

Антитела мышинные моноклональные к IgG1, IgG4 человека, антитела к эритропоэтину человека мышинные моноклональные EP8 (ОАО «Билакса»). Антитела мышинные моноклональные к Fc-фрагменту IgG человека конъюгированные с пероксидазой хрена (ООО «Сорбент»). Для приготовления растворов использовали деионизованную воду (Milli-Q System, Millipore, США). Для ИФА метода использовали прозрачные 96 луночные планшеты для иммунологических исследований (Corning).

Эритропоэтин рекомбинантный человеческий рчЭПО-бета (Shandong Kexing Bioproducts), евро-

пейский стандарт эритропоэтина BRP 3, коммерческие препараты Аранесп (Amgen Europe B.V.), Мирцера (F. Hoffmann-La Roche, Ltd.), Эпрекс (ООО «Джонсон & Джонсон»), Аральфон (ЗАО «ФармФирма «Сотекс»).

В работе были исследованы 294 сыворотки крови пациентов, проходивших терапию препаратами эритропоэтина (Аранесп, Бинокрит (Эпоэтин альфа), Мирцера) как на момент забора крови, так и в анамнезе. Для сравнительного анализа были исследованы 127 образцов сывороток крови здоровых доноров, не получавших препараты ЭПО.

Инкубацию планшетов проводили на термостатируемом планшетном встряхивателе (ELMI SkyLine) при режиме 700 об/мин и температуре 37 °С. Отмывку планшетов — на планшетном промывателе (StatFax). Оптическую плотность измеряли на аппарате BioRadModel 680.

Получение конъюгатов антител к субклассам IgG человека с пероксидазой хрена осуществляли по методу Накане [16].

При выявлении IgG-антител в 96-луночные планшеты вносили мышинные моноклональные антитела к ЭПО человека в концентрации 2 мкг/мл в 0,02 М фосфатном буферном растворе, pH 7,2. Планшеты выдерживали в течение 19-22 часов при t (4-8) °С, затем на 1 час вносили блокирующий раствор (0,02 М фосфатный буферный раствор pH 7,2, содержащий 5% сахарозы, 0,09% казеината натрия, 0,05% Твин 20). Далее вносили по 100 мкл препаратов рчЭПО в концентрации 0,5 мкг/мл в 0,02 М фосфатном буферном растворе pH 7,2, содержащем 0,2% бычьего сывороточного альбумина, 0,05% Твин 20. После инкубации и последующей промывки вносили образцы сывороток в разведении 1/50. На следующей стадии вносили по 100 мкл конъюгатов с пероксидазой хрена, моноклональных антител мыши к IgG, IgG1 или IgG4 человека соответственно. Повторяли этап инкубации и отмывки, затем вносили по 100 мкл 33 мМ цитратного буферного раствора pH 4,0, содержащего 0,01% перекиси водорода и 0,5 мМ 3,3',5,5'-тетраметилбензидина. Через 15 мин реакцию останавливали добавлением 50 мкл 2N серной кислоты, измеряли оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения 680 нм.

Оптимизация условий проведения иммуноферментного анализа

В каждом случае проводился подбор параметров ИФА с целью достижения максимальной чувствительности и специфичности. Чувствительность характеризовали индексом позитивности (ИП), вычисляемом по формуле $ИП = \frac{ОП_{образца}}{ОП_{порог}}$, где $ОП_{порог} = ОП_{сер.К-} +$

3SD, где ОПср.К- — среднее арифметическое значение регистрируемого сигнала для выборки сывороток крови пациентов, никогда не получавших препараты эритропоэтина, SD-стандартное отклонение. Полученные результаты оценивали, как положительные с ИП > 1,1, и отрицательные с ИП < 0,9. Результаты в диапазоне $0,9 \leq \text{ИП} \leq 1,1$ рассматривали как неопределенные.

Статистическая обработка результатов

Все образцы анализировали двух точках, и для расчетов использовали средние арифметические значение ОП. Критерий Манна–Уитни использовали для сравнения между целевой и контрольной группами пациентов. Для оценки разницы в уровне выявленных антител (ИП) использовался тест Краскела–Уоллиса. Для оценки корреляции между методами проводился регрессионный анализ. Полученные данные анализировали с помощью программного обеспечения Origin 2019b (Origin Lab Corporation) и программного обеспечения Microsoft Office Excel 2013.

Результаты

В работе проводили исследование влияния иммобилизации четырех коммерческих препаратов рчЭПО (Мирцера, Аранесп, Эпрекс и

Аральфон) в сравнении с европейским стандартом эритропоэтина и субстанцией рчЭПО-бета. Результаты анализа сывороток крови пациентов, проходивших терапию препаратами эритропоэтина, представлены в таблице 1.

Из 294 проанализированных образцов при определении суммарных специфических IgG-антител 32 образца оценивались как положительные или неопределенные во всех случаях, при этом доля неопределенных была выявлена в 1,0-1,7% образцов. Из них антитела субкласса IgG1 были обнаружены у 50-56,3% пациентов, антитела субкласса IgG4 у 43,8-50% пациентов. Тест Манна–Уитни показал достоверное различие между исследуемыми образцами по сравнению с контрольной группой для всех модификаций ИФА ($p = 0,001$). Тест Краскела–Уоллиса не выявил существенных различий для пяти выборок данных по ИП, полученных при иммунохимической иммобилизации различных препаратов ЭПО ($p = 0,05$).

В таблице 2 представлены результаты регрессионного анализа при попарном сравнении ИП определения антител к коммерческим препаратам чрЭПО с препаратом ЭПО-бета. Были проанализированы образцы, которые хотя бы в одном

ТАБЛИЦА 1. РЕЗУЛЬТАТЫ ВЫЯВЛЕНИЯ СУММАРНЫХ IgG-, IgG1- И IgG4-АНТИТЕЛ К ПРЕПАРАТАМ чрЭПО В ИФА

TABLE 1. RESULT OBTAINED FOR TOTAL IgG, IgG1 AND IgG4 ANTIBODIES TO rhEPO DRUGS IN ELISA

	ЭПО-β EPO-β	Стандарт Standard	Мирцера Mircera	Аранесп Aranesp	Эпрекс Eprex	Эральфон Eralfon
Определение IgG-антител Determination of IgG antibodies						
Σ	294	294	294	294	294	294
ИП (ИП) > 1,1	29	29	29	29	27	27
0,9 ≤ ИП (ИП) ≤ 1,1	3	3	3	3	5	5
ИП (ИП) < 1,1	262	262	262	262	262	262
Определение IgG1-антител Determination of IgG1 antibodies						
Σ	32	32	32	32	32	32
ИП (ИП) > 1,1	17	17	17	18	18	16
0,9 ≤ ИП (ИП) ≤ 1,1	2	2	2	2	2	2
ИП (ИП) < 1,1	13	13	13	12	12	14
Определение IgG4-антител Determination of IgG4 antibodies						
Σ	32	32	32	32	32	32
ИП (ИП) > 1,1	15	15	16	14	14	15
0,9 ≤ ИП (ИП) ≤ 1,1	3	3	3	3	3	3
ИП (ИП) < 1,1	14	14	13	15	15	14

из тестов давали результат с ИП $\geq 0,9$, т.е. были положительными или находились в серой зоне.

Статистическую значимость построенной линейной модели проверяли с помощью критерия F, и во всех тестах полученное F-значение превышало критическое ($p < 0,001$), что говорит о том, что нулевую гипотезу об отсутствии взаимосвязи между выборками можно отвергнуть, полученные данные отражают линейность зависимости для ИП, полученных для сравниваемых препаратов.

На рисунке 1 представлены данные ИП для образцов сывороток крови пациентов, протестированных при иммобилизации коммерческих препаратов и стандарта в сравнении с субстанцией ЭПО-бета.

Обсуждение

Так как в процессе терапии пациенты получают разные препараты эритропоэтина, причем

история лечения одного пациента часто включает несколько препаратов, для выявления специфических антител желательна универсальная методика, не зависящая от истории лечения.

При определении антител к эритропоэтину иммобилизацию препаратов эритропоэтина проводили через иммунохимическое связывание с сорбированными на поверхности планшета антителами к эритропоэтину. Данный метод позволяет не только использовать в постановке анализа очищенную фармацевтическую субстанцию, но и «выхватывать» чрЭПО из лекарственных препаратов, содержащих вспомогательные вещества, препятствующие пассивной сорбции чрЭПО на планшете (бычий сывороточный альбумин, полисорбат 80 и т.д.). Кроме того, как было показано в ряде работ, иммунохимическая иммобилизация обеспечивает более высокую чувствительность метода по сравнению с пассивной [1, 10].

ТАБЛИЦА 2. ПАРАМЕТРЫ КОРРЕЛЯЦИОННОЙ СВЯЗИ РЕЗУЛЬТАТОВ (ИП) ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ СУММАРНЫХ IgG-, IgG1- И IgG4-АНТИТЕЛ К РАЗНЫМ ПРЕПАРАТАМ чрЭПО

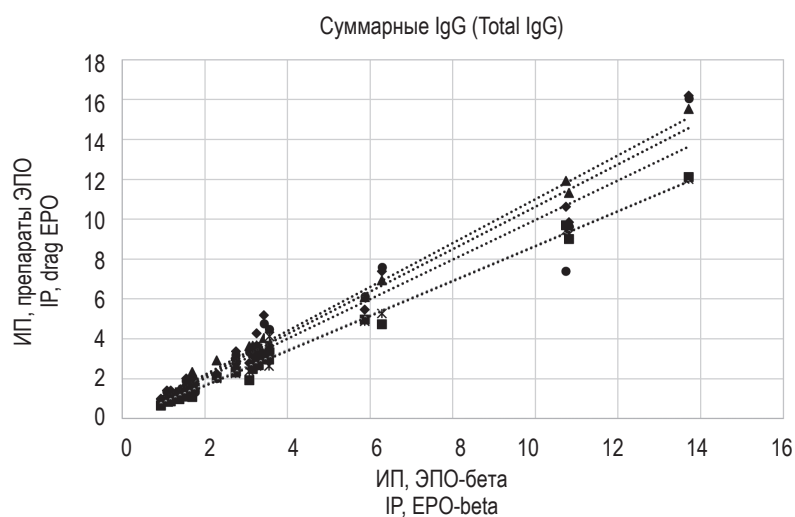
TABLE 2. CORRELATION OF THE IP (INDEX OF POSITIVITY) DETERMINED FOR TOTAL IgG, IgG1 AND IgG4 ANTIBODIES TO DIFFERENT rHEPO DRUGS

	Стандарт Standard	Мирцера Mircera	Аранесп Aranesp	Эпрекс Eprex	Эральфон Eralfon
Определение суммарных IgG-антител Determination of IgG antibodies					
r	0,983	0,997	0,996	0,996	0,960
R²	0,966	0,994	0,992	0,992	0,922
b	1,06	1,09	0,87	0,88	0,99
F, df = 30	871,1	5146,3	3951,5	3908,5	358,5
p	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
Определение IgG1-антител Determination of IgG1 antibodies					
r	0,998	0,997	0,984	0,989	0,993
R²	0,997	0,995	0,968	0,979	0,9862
b	1,01	1,06	1,23	1,13	1,16
F, df = 18	6449,5	4001,8	560,27	861,3	1289,2
p	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
Определение IgG4-антител Determination of IgG4 antibodies					
r	0,995	0,998	0,996	0,997	0,997
R²	0,991	0,997	0,992	0,994	0,995
b	0,99	1,00	1,00	1,00	0,99
F, df = 18	2025,3	6525,8	2313,1	3325,7	4456,7
p	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$

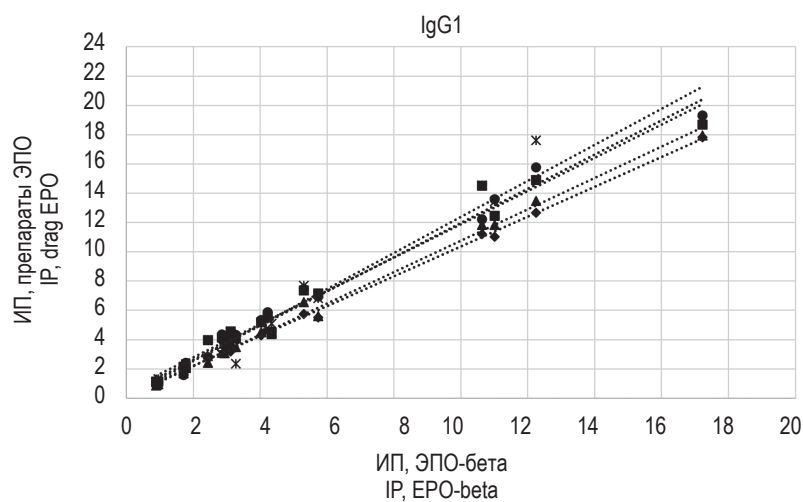
Примечание. b – коэффициент регрессии, r – коэффициент корреляции Пирсона, R² – коэффициент детерминации, F – критерий Фишера.

Note. b, regression coefficient; r, Pearson correlation; R², determination coefficient; F, Fisher criterion.

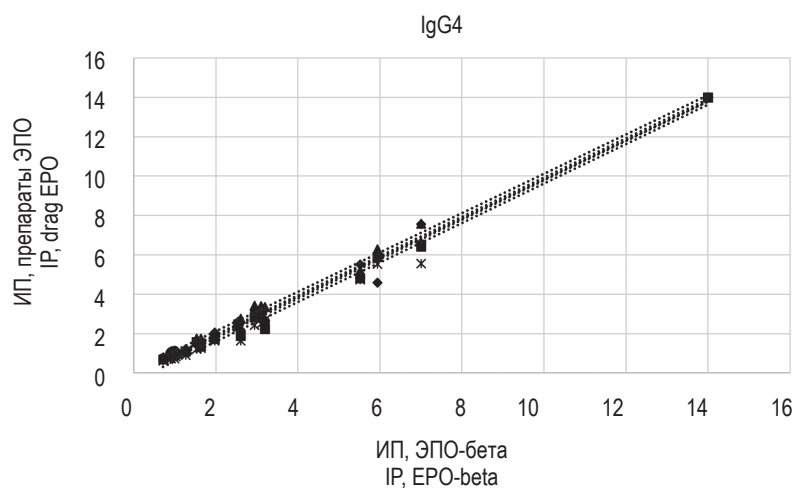
А (А)



Б (Б)



В (С)



◆ Стандарт (Standart) ▲ Мирцера (Mircera) * Аранесп (Aranesp)
■ Эпрекс (Eprex) ● Эральфон (Eralfon)

Рисунок 1. Сравнение ИП, определенных для суммарных IgG (А), IgG1 (Б) и IgG4 (В) антител к разным коммерческим препаратам чрЭПО и ЭПО-бета

Figure 1. Comparison of IP (index of positivity) determined for total anti-EPO IgG (A), IgG1 (B) and IgG4 (C) antibodies to different commercial rHhPO drugs and EPO-beta

В данной работе было проведено определение антител к различным препаратам ЭПО: дарбэпоэтину альфа (Аранесп), метоксиполиэтиленгликоль-эпоэтину бета (Мирцера), эпоэтину альфа (Эпрекс, Эральфон). Определялись как суммарные IgG-антитела, так и антитела подклассов IgG1 и IgG4. Такой выбор определялся тем, что у пациентов с подтвержденной антитело-опосредованной полной аплазией красного костного мозга обнаруживаются IgG1- и IgG4-антитела [3, 4, 18].

Данные анализа результатов выявления антител к чрЭПО в исследуемых образцах при иммобилизации препаратов эпоэтина, имеющих разные структурные различия, показали не только высокий уровень корреляционной связи индексов позитивности всех сравниваемых тестов, но и высокую значимость полученных результатов. Коэффициент корреляции индексов позитивности находился в диапазоне 0,99-0,96 для суммарных IgG и был более 0,98 для двух подклассов антител. Коэффициент вариации (%) определения ИП анализируемых образцов составил $13,3 \pm 4,3$ для суммарных IgG, $11,7 \pm 4,1$ и $11,4 \pm 3,8$ для IgG1

и IgG4 соответственно. Коэффициент линейной регрессии был близок к единице, что указывает на незначительные различия в чувствительности сравниваемых методик.

Полученные данные могут свидетельствовать о выработке IgG-антител к консервативным эпитопам белковой части молекулы ЭПО. Данное предположение подтверждает исследование, показывающее, что антитела к ЭПО связываются одинаково как с гликозилированным, так и дегликозилированным эпоэтином, несмотря на то, что в процессе дегликозилирования происходит изменение конформации белковой молекулы [6].

Проведенные исследования указывают на возможность определять антитела к эритропоэтину у пациентов, получавших различные препараты чрЭПО, в одной тест-системе, что существенно упрощает исследование иммуногенности препаратов на стадии клинических испытаний и в постмаркетинговом периоде. Также открывается возможность для разработки универсальной коммерческой тест-системы для сопровождения терапии пациентов препаратами рекомбинантного человеческого эритропоэтина.

Список литературы / References

1. Кудряшова А.М., Борисова О.В., Михайлова Н.А., Лоншаков Д.В., Катлинский А.В. Влияние методов иммобилизации эритропоэтина на чувствительность выявления специфических IgG антител в сыворотках крови экспериментальных животных // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2017. Т. 6. С. 49-55. [Kudryashova A.M., Borisova O.V., Mikhaylova N.A., Lonshakov D.V., Katlinskiy A.V. The effect of methods of immobilization of erythropoietin on the sensitivity for the detection of specific IgG antibodies to EPO in experimental animals sera. *Zhurnal mikrobiologii i epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2017, Vol. 6, pp. 49-55. (In Russ.)]
2. Кудряшова А.М., Нестеренко Л.Н., Генералова Г.А., Абасеева Т.Ю., Михайлова Н.А., Борисова О.В. Характеристика антител к эритропоэтину у пациентов, проходящих терапию препаратами рекомбинантного человеческого эритропоэтина // Медицинская иммунология, 2020. Т. 22, № 1. С. 143-152. [Kudryashova A.M., Nesterenko L.N., Generalova G.A., Abaseeva T.Yu., Mikhailova N.A., Borisova O.V. Characteristics of erythropoietin antibodies in patients treated with recombinant human erythropoietin. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2020, Vol. 22, no. 1, pp. 143-152. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-COE-1879.
3. Barger T.E., Kuck A.J., Chirmule N., Swanson S.J., Mytych D.T. Detection of anti-ESA antibodies in human samples from PRCA and non-PRCA patients: an immunoassay platform comparison. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2012, Vol. 27, pp. 688-693.
4. Barger T.E., Wrona D., Goletz T.J., Mytych D.T. A detailed examination of the antibody prevalence and characteristics of anti-ESA antibodies. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2012, Vol. 27, no. 10, pp. 3892-3899.
5. Bennett C.L., Luminari S., Nissenson A.R., Tallman M.S., Klinge S.A., McWilliams N., McKoy J.M., Kim B., Lyons E.A., Trifilio S.M., Raisch D.W., Evens A.M., Kuzel T.M., Schumock G.T., Belknap S.M., Locatelli F., Rossert J., Casadevall N. Pure red-cell aplasia and epoetin therapy. *N. Engl. J. Med.*, 2004, Vol. 351, no. 14, pp. 1403-1408.
6. Casadevall N. Antibodies against rHuEPO: native and recombinant. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2002, Vol. 17, no. 5, pp. 42-47.
7. Casadevall N., Eckardt K.U., Rossert J. Epoetin-induced autoimmune pure red cell aplasia. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2005, Vol. 16, no. 1, pp. 67-69.
8. Casadevall N., Nataf J., Viron B., Kolta A., Kiladjian J.J., Martin-Dupont P., Michaud P., Papo T., Ugo V., Teyssandier I., Varet B., Mayeux P. Pure red-cell aplasia and antierythropoietin antibodies in patients treated with recombinant erythropoietin. *N. Engl. J. Med.*, 2002, Vol. 346, no. 7, pp. 469-475.
9. El-Din M., Attia F., Labib S., Omar W. Detection of circulating antierythropoietin antibodies in patients with end stage renal disease on regular hemodialysis. *Int. J. Lab. Hematol.*, 2010, Vol. 32, no. 3, pp. 336-343.
10. Gross J., Moller R., Henke W. Detection of anti-EPO antibodies in human sera by a bridging ELISA is much more sensitive when coating biotinylated rhEPO to streptavidin rather than using direct coating of rhEPO. *J. Immunol. Methods*, 2006, Vol. 313, no. 1-2, pp. 176-182.

11. Guideline on immunogenicity assessment of therapeutic proteins. European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP), 2017.
12. Herrington W., Wieser C., Rosenkranz A.R. Pure red cell aplasia after treatment of renal anaemia with epoetin theta. *Clin. Kidney J.*, 2013, Vol. 6, no. 5, pp. 539-542.
13. Hoesel W., Gross J., Moller R., Kanne B., Wessner A., Müller G., Müller A., Gromnica-Ihle E., Fromme M., Bischoff S., Haselbeck A. Development and evaluation of a new ELISA for the detection and quantification of antierythropoietin antibodies in human sera. *J. Immunol. Methods*, 2004, Vol. 294, no. 1-2, pp. 101-110.
14. Macdougall I.C., Casadevall N., Locatelli F., Combe C., London G.M., Di Paolo S., Kribben A., Fliser D., Messner H., McNeil J., Stevens P., Santoro A., De Francisco A.L., Percheson P., Potamianou A., Foucher A., Fife D., Mérit V., Vercammen E. Incidence of erythropoietin antibody-mediated pure red cell aplasia: the Prospective Immunogenicity Surveillance Registry (PRIMS). *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2015, Vol. 30, no. 3, pp. 451-460.
15. Macdougall I.C., Roger S.D., de Francisco A., Goldsmith D.J., Schellekens H., Ebbers H., Jelkmann W., London G., Casadevall N., Hörl W.H., Kemeny D.M., Pollock C. Antibody-mediated pure red cell aplasia in chronic kidney disease patients receiving erythropoiesis stimulating agents: new insights. *Kidney Int.*, 2012, Vol. 81, no. 8, pp. 727-732.
16. Nakane P.K., Kawaoi A.J. Peroxidase-labeled antibody. A new method of conjugation. *Histochem. Cytochem.*, 1974, Vol. 22, no. 2, pp. 1084-1091.
17. Öztürk S., Gümüş A., Memili V., Düz M.E., Cebeci E., Koldaş M., Kazancıoğlu R. Antierythropoietin antibodies in hemodialysis patients treated with recombinant erythropoietin. *Turk. Neph. Dial. Transpl.*, 2014, Vol. 23, no. 2, pp. 125-130.
18. Weeraratne D.K., Kuck A.J., Chirmule N., Mytych D.T. Measurement of anti-erythropoiesis-stimulating agent IgG4 antibody as an indicator of antibody-mediated pure red cell aplasia. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2013, Vol. 20, no. 1, pp. 46-51.

Авторы:

Кудряшова А.М. — научный сотрудник лаборатории медицинской биотехнологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Борисов А.В. — врач-нефролог, заведующий отделением диализного центра ООО «Компания «Фесфарм», Москва, Россия

Кольцова А.А. — врач-нефролог, заведующая отделением диализного центра ООО «Компания «Фесфарм», Москва, Россия

Пушкина А.В. — к.м.н., главный врач ООО «Компания «Фесфарм», Москва, Россия

Борисова О.В. — к.х.н., заведующий лабораторией медицинской биотехнологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Authors:

Kudryashova A.M., Research Associate, Laboratory of Medical Biotechnology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Borisov A.V., Nephrologist, Head of Department, Dialysis Center, Fesfarm Company LLC, Moscow, Russian Federation

Koltsova A.A., Nephrologist, Head of Department, Dialysis Center, Fesfarm Company LLC, Moscow, Russian Federation

Pushkina A.V., PhD (Medicine), Chief Physician, Fesfarm Company LLC, Moscow, Russian Federation

Borisova O.V., PhD (Chemistry), Head, Laboratory of Medical Biotechnology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Поступила 25.12.2020
Принята к печати 10.01.2021

Received 25.12.2020
Accepted 10.01.2021