

## První použití bortezomibu při léčbě rezistentní akutní rejekce zprostředkované protilátkami

MUDr. Vladimír Hanzal, prof. MUDr. Ondřej Viklický, CSc., Mgr. Eva Slimáčková

*Klinika nefrologie TC IKEM, Imunogenetická laboratoř IKEM*

V této kasuistice popisujeme případ úspěšně léčené protilátkami zprostředkované rejekce, jež se vyvinula u senzibilizované nemocné po třetí transplantaci kadaverózní ledviny, která měla v minulosti opakovaně pozitivní cross-match. Jde o 51letou nemocnou v chronickém renálním selhání na podkladě chronické glomerulonefritidy. První štěp byl funkční 2,5 roku; příčinou selhání byla chronická rejekce, podobná situace byla i při druhé transplantaci, kdy byl štěp funkční jenom tři roky, příčinou selhání byla opět chronická rejekce. Od roku 2003 byla nemocná znovu léčena hemodialýzou. Před uvažovanou třetí transplantací byla léčena interferonem pro hepatitidu C s efektem na replikaci viru. Nemocná měla následně panel reaktivní protilátky (PRA) 100 % a při výzvách k transplantacím měla vždy pozitivní cytotoxický cross-match. Podobně měla nemocná pozitivní dárcovsky specifické protilátky proti dvěma možným žijícím dárčům. S cílem umožnit transplantaci od zemřelého dárce byla v roce 2008 a 2009 provedena desenzibilizační léčba. K ní byl použit rituximab, plazmaferézy a intravenózní imunoglobuliny. PRA po této léčbě klesly pouze nesignifikantně a přechodně, v tomto období měla nemocná jednu výzvu k transplantaci a aktuální cytotoxický cross-match byl pozitivní. S cílem umožnit transplantaci jsme sérum nemocné odeslali k vyšetření do imunogenetické laboratoře v Leidenu s cílem určit možné antigeny, proti nimž nebude tvořit protilátky. Bohužel, nemocná tvořila protilátky proti většině antigenů vyskytujících se v Evropě, a proto její zařazení do mezinárodní výměny nemělo smysl.

Další nabídku transplantace měla nemocná 10. 8. 2010 a před operací byl cytotoxický cross-match jen slabě pozitivní, později doplněné FACS T i B cross-match byly ale silně pozitivní a rovněž metodikou LUMINEX byly později prokázány dárcovsky specifické protilátky (DSA) proti antigenům HLA 1. třídy A33 a A68. Ve skutečnosti tak šlo o transplantaci ledviny při přítomných DSA. Pro známé imunologické riziko byl zvolen alternativní imunosupresivní režim. Kromě standardní trojkombinace tacrolimus, mykofenolát mofetil a prednison byla nemocná léčena indukcí s polyklonálním antithymocytárním globulinem (Thymoglobulin v kumulativní dávce 425 mg během 6 dní) a druhý pooperační den jsme podali monoklonální protilátku anti-CD20 (rituximab v dávce 500 mg). Navíc bezprostředně před transplantací jsme provedli výměnu plazmy a ve výměnách jsme pokračovali obden i po transplantaci během prvního týdne střídavě spolu s aplikací intravenózních imunoglobulinů (po 0,2 g/kg). Samotný operační výkon byl komplikovaný z důvodu anatomie – štěp měl čtyři

tepny, které byly implantovány kaskádovitě do sebe, a komplikací byly také mnohočetné vaskularizované srůsty operačního pole po předchozí grafektomii. Několik hodin po transplantaci byla nemocná revidována pro krvácení, v dutině břišní byly ponechány roušky, které byly následující den odstraněny. Po transplantaci nedošlo k rozvoji diurézy a funkce štěpu, pacientka byla nadále dialyzována. Dle sonografie byl štěp dobře prokrvený. Pro afunkci štěpu jsme osmý den provedli biopsii štěpu, která prokázala akutní tubulární nekrózu, C4d barvení (prokazující protilátkami zprostředkovanou rejekci) bylo negativní. Nicméně jak cytotoxický, tak FACS T i B cross-match byly pozitivní. Monitorovali jsme přítomnost dárcovsky specifických protilátek metodou LUMINEX a po transplantaci došlo k jejich signifikantnímu vzestupu. Proto jsme úvodní terapii prodloužili, takže celkem bylo provedeno šest plazmaferéz a podáno devět dávek intravenózních imunoglobulinů. Pro přetrvávající afunkci štěpu byla 16. den provedena rebiopsie, opět s nálezem akutní tubulární nekrózy, C4d negativní. Od 21. dne došlo k rozvoji diurézy a postupně i k rozvoji funkce štěpu až na hodnotu sérového kreatininu 200  $\mu\text{mol/l}$ . Protože byl cytotoxický cross-match nadále pozitivní, rozhodli jsme se nemocné podat inhibitor proteasomů, bortezomib. Během 10 dní jsme podali celkem čtyři dávky bortezomibu. Další biopsii štěpu jsme provedli 31. den po transplantaci, sérová koncentrace kreatininu se v té době pohybovala okolo 200  $\mu\text{mol/l}$ . V biopsii byl tentokrát nález hraničních změn a mírné glomerulitidy, C4d bylo opět negativní a opět byla přítomna akutní tubulární nekróza. Cytotoxický cross-match a FACS T a B cross-match byly pozitivní. Proto jsme provedli ještě jednu plazmaferézu a podali jedenkrát další dávku intravenózních imunoglobulinů (0,5 g/kg). Nemocnou jsme propustili 34. den po transplantaci ledviny s funkčním štěpem a hodnotou kreatininu 230  $\mu\text{mol/l}$ . Vzhledem k velmi silné imunosupresi jsme standardní profylaxi cytomegalovirové nemoci řešili valganciclovirem po dobu šesti měsíců. Po dalším mírném zhoršení funkce štěpu jsme imunosupresi změnili na kombinaci tacrolimus se sirolimem. Od třetího měsíce po transplantaci došlo k poklesu dárcovsky specifických protilátek a cytotoxický a FACS T i B cross-match byly negativní. V protokolární biopsii provedené 90. den po transplantaci nebyla akutní rejekce přítomna, byly ale přítomny známky transplantační glomerulopatie. V šestém měsíci po transplantaci je štěp dysfunkční s hodnotou kreatininu v rozmezí 200–280  $\mu\text{mol/l}$ . Hlavním klinickým problémem nemocné byla dlouhodobá hyperhydratace, která byla zvládnuta kombinovanou diuretickou terapií. Nemocná neměla během prvních šesti měsíců

infekční komplikaci s výjimkou klinicky němé infekce močových cest rezistentním kmenem *Klebsiella pneumoniae*, která byla zvládnuta týdenní léčbou carbapenemovým antibiotikem.

## ■ KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Ondřej Viklický, CSc.

Protilátkami zprostředkovaná rejekce představuje u nemocných po transplantaci ledviny zásadní problém. V současnosti je tato rejekce pozorována častěji u nemocných, kteří jsou dlouhodobě léčeni dialyzačními metodami a podstupují opakované transplantace, nebo u nemocných s vysokým množstvím protilátek proti panelu leukocytů. Diagnostika této rejekce byla možná až po roce 2000, kdy bylo možné detekovat protilátky navázané na endotel příjemce technikou stanovení fragmentu komplementu C4d. Akutní, protilátkami zprostředkovaná rejekce nastupuje nejčastěji kolem sedmého pooperačního dne a má různé podoby. Nejčastěji je přítomna pozitivita C4d složky komplementu v imunohistochemickém vyšetření vzorku biopsie, kdy v běžné optické mikroskopii dominuje obraz akutní tubulární nekrózy (ATN), může být ale přítomna i celulární složka rejekce. Kromě dysfunkce štěpu je nutné prokázat přítomné cirkulující protilátky proti HLA antigenům dárce, tzv. dárcovsky specifické protilátky. K tomu slouží různé metody, nejstarší a stále nejspolehlivější metodou je cytotoxický cross-match. O humorální aktivitě se ale můžeme přesvědčit i specifikací přítomných protilátek a vyjádřením jejich koncentrací, což lze učinit metodou LUMINEX. Pomocí metody průtokové cytometrie (FACS) lze vyšetřit protilátky v séru, které nutně nemusejí vázat komplement a jsou měřeny proti antigenům na dárcovských T (antigeny 1. třídy) nebo B (antigeny 2. třídy) lymfocytech. Tyto testy jsou tak daleko citlivější než standardní cytotoxický cross-match.

V minulosti bylo možné se s protilátkami zprostředkovanou rejekcí setkat za situace, kdy byly nedopatřením provedeny transplantace při pozitivitě cytotoxického cross-match a velmi rychle po operaci byl štěp odhojen tzv. hyperakutní rejekcí během několika hodin, nebo v případě omylem provedené ABO inkompatibilní transplantace, kdy byl štěp odhojen akcelerovanou rejekcí během několika málo dní. Proto dosud platí základní veto v transplantologii: Transplantaci nelze provést, existuje-li humorální bariéra ještě před transplantací. V praxi existují pouze dvě situace – nemocný má přítomny ještě před transplantací protilátky proti antigenům krevních skupin nebo HLA antigenům dárce.

V případě naší nemocné jsme dlouho před třetí transplantací věděli, že jde o senzibilizovanou nemocnou s rizikem vzniku akutní rejekce zprostředkované protilátkami. Protože desenzibilizace byla prakticky neúspěšná a jen s přechodným trváním, kdy se pro nemocnou nepodařilo nalézt vhodného dárce, nepředpokládali jsme, že by kdy byla nemocná pozvána k transplantaci, tedy že by její archivní sérum mělo s dárce negativní, tzv. historický cross-match. K našemu překvapení se tak stalo. Navíc byl negativní i aktuální cytotoxický cross-match bezprostředně před transplantací. Vzhledem ke známému riziku jsme u nemocné chtěli použít osvědčené schéma: výměna plazmy před operací a po operaci výměny plazmy spolu s následným podáním nízkých

dávek intravenózních imunoglobulinů při týdenní indukci s anti-thymocytárním globulinem. Již druhý den po transplantaci jsme ale zjistili, že ve skutečnosti měla nemocná silně pozitivní FACS T i B cross-match, který prokázal přítomné protilátky proti HLA antigenům 1. a 2. třídy, s tím, že proti antigenům 1. třídy byla přítomna vysoká koncentrace protilátek ještě před transplantací.

Co je příčinou opakovaně negativního cytotoxického cross-match před transplantací, nevíme, ale je jisté, že jsme ve skutečnosti provedli transplantaci při pozitivitě DSA – dárcovsky specifických protilátek (proti antigenům HLA A33 a A68). Proto jsme do léčby navíc přidali monoklonální protilátku anti-CD20 s cílem zastavit budoucí tvorbu protilátek. Cytotoxický cross-match byl ale pozitivní až do třetího týdne po transplantaci. Proto byla prakticky do té doby prováděna výměna plazmy, respektive plazmaferéza, a byly podávány intravenózní imunoglobuliny. Za této situace a s vědomím, že dle biopsie se stále jedná o životaschopný štěp bez rejekce, jsme se rozhodli na základě literárních znalostí pro podání bortezomibu, inhibitoru proteasomů, s cílem likvidovat z periferní krve plazmatické buňky odpovědné za tvorbu protilátek. Tuto léčbu nemocná překvapivě zvládla velmi dobře a jediným, klinicky významným problémem byla i v literatuře popisovaná hyperhydratace. Cytotoxický cross-match byl negativní až od třetího měsíce po transplantaci.

Bortezomib je inhibitor proteasomů, který je registrován k léčbě mnohočetného myelomu. Jeho první použití v transplantační oblasti bylo uveřejněno v roce 2009. Trivedi s Terasakim použili bortezomib u indických pacientů, kteří neměli prostředky na řízení imunosuprese. Transplantované ledviny byly funkční i bez imunosupresiv, nicméně absence biopsií a abnormální renální funkce vylučuje generalizaci tohoto pilotního pozorování. Druhá recentní zkušenost s bortezomibem byla publikována v roce 2008. Bortezomib byl s úspěchem použit pro léčbu refrakterních rejekcí. Pozitivní zkušenosti vyústily ve změnu schématu s tím, že Everly a spol. se rozhodli použít modifikovaný protokol bortezomib-plazmaferézy–rituximab jako léčbu první linie i pro případy akutní, protilátkami zprostředkované rejekce s cílem zamezit chronickým změnám. Léčba bortezomibem je rovněž ekonomicky náročná a je spojena s celou řadou nežádoucích účinků, z nichž nejčastější se zdají být neurotoxicita a po transplantaci ledviny pak hyperhydratace.

Dlouhodobé výsledky této léčby nejsou zatím známy, ale naše pozitivní zkušenost vedla i v našem centru v současnosti k častějšímu používání tohoto preparátu. I když na zhodnocení našich zkušeností je zatím brzy, popis případu první pacientky zprostředkováváme čtenářům Postgraduální nefrologie.

### Použitá literatura

- Everly MJ, Everly JJ, Susskind B, et al. Bortezomib provides effective therapy for antibody and cell-mediated acute rejection. *Transplantation* 2008;86:1754.
- Lemy A, Toungouz M, Abramowicz D. Bortezomib: a new player in pre- and post-transplant desensitization? *Nephrol Dial Transplant* 2010;25:3480–3489.
- Rostaing L, Guilbeau-Frugier C, Kamar N. Rituximab for humoral rejection after kidney transplantation: an update. *Transplantation* 2009;87:1261.
- Vo AA, Lukovsky M, Toyoda M, et al. Rituximab and intravenous immune globulin for desensitization during renal transplantation. *N Engl J Med* 2008;359:242–251.
- Trivii HL, Terasaki PI, Feroz A, et al. Abrogation of anti-HLA antibodies via proteasome inhibition. *Transplantation* 2009;87:1555.