

Endoteliální progenitorové buňky u Asiátů po transplantaci ledviny

Townamchai N, Praditpornsilpa K, Eiam-Ong S. Endothelial progenitor cells in Asian kidney transplant patients. *Transplant Proc* 2010;42:1690–1694.

Chronická dysfunkce štěpu je nejčastější příčinou ztráty funkce transplantované ledviny v dlouhodobém období. Je charakterizována neointimální hyperplazií, která může indukovat

vaskulární okluzi. Endoteliální progenitorové buňky (EPC) pocházející z kostní dřeně mohou hrát velmi významnou roli v reparaci poruch endotelu, a tak vést k úpravě tvorby neointimy a průchodnosti intrarenálních arterií. Studie sledující EPC u nemocných po transplantaci ledviny jsou zatím ojedinělé. Většina z nich sleduje buňky CD34 jako jeden z hlavních markerů k identifikaci EPC v periferní krvi. Nejnověji byly identifikovány jejich prekurzory, buňky CD133+/VEGFR, jako významný a zřejmě i přesnější marker endoteliální reparační. Hodnocení periferní aktivity EPC pomocí samotných CD34 tak dle autorů studie nemusí vždy přesně vyjádřit koeficient endoteliální reparační a mělo by být doplněno dalším vyšetřením.

Komentovaná studie se zabývá prioritním sledováním EPC u asijské populace po transplantaci ledviny. Stanovení EPC v periferní krvi bylo provedeno průtokovou cytometrií pro stanovení fenotypu CD133/VEGFR-2 u 38 nemocných po transplantaci ledviny na nefrologickém oddělení Královské nemocnice v Bangkoku v období červenec až prosinec 2007. Kontrolní soubor sestával z 15 zdravých dobrovolníků. Pomocí specifických protilátek byly odstraněny CD3, CD19 a CD33. Renální funkce byla stanovena výpočtem glomerulární filtrace ve zkrácené MDRD formuli, a to ve stejné době, kdy byly vyšetřeny buňky EPC. Sledovaný soubor nemocných po transplantaci ledviny sestával z 22 mužů a 16 žen průměrného věku $47,7 \pm 9,6$ roku a průměrná doba po transplantaci činila $6,0 \pm 3,9$ roku. Jedenáct nemocných bylo po transplantaci ze živého dárce, 27 po kadaverózní transplantaci. Celkem 34 nemocných bylo léčeno kalcineurinovými inhibitory nebo rapamycinem a cyklosporinem. Biopsicky verifikovaná rejekce byla diagnostikována u pěti pacientů. Pokud jde o přítomné komorbidity, které by mohly EPC ovlivnit, sedm nemocných mělo diabetes mellitus, 24 dyslipidémii a 35 hypertenzi. Rekombinantním lidským erythropoetinem (rHu-EPO) bylo léčeno pět pacientů, inhibitory receptoru pro angiotensin II (ARB) 16 a statiny 23 nemocných.

Počty zjištěných EPC buněk byly v souboru transplantovaných nemocných signifikantně nižší než u zdravých dobrovolníků ($p < 0,05$). Velmi významným nálezem byla pozitivní korelace mezi počty EPC v periferní krvi a funkcí transplantované ledviny: při vyšší hodnotě glomerulární filtrace byly významně vyšší i počty EPC. Na základě tohoto zjištění byli nemocní v závislosti na úrovni GFR rozděleni do dvou podskupin a byli sledováni současně s počty EPC po dobu 12 měsíců (16 nemocných se sníženou a klesající GFR vs. 22 nemocných s funkcí stabilní). I při tomto hodnocení byly prokázány nižší počty EPC při nižší funkci v dlouhodobém sledování ($p < 0,05$).

Počty EPC nekorelovaly s pohlavím, věkem, BMI, časem po transplantaci, typem transplantace (živý dárce vs. kadaver), imunosupresivním režimem, přítomností akutní rejekce, hodnotami krevního tlaku a glykémie ani s použitím statinů. Naopak byla pozitivní korelace s podáváním ARB, kdy byly zjištěny vyšší počty EPC buněk při vyšších dávkách ARB ($p < 0,05$). U nemocných užívajících ARB byla však také zjištěna lepší funkce transplantované ledviny při 12měsíčním sledování. Překvapivě pět nemocných, kteří dostávali rHu-EPO, mělo hodnoty EPC nižší (ale také měli horší funkci transplantované ledviny). Počty EPC však pozitivně korelovaly s hematokritem.

Při srovnání číselných hodnot počtu EPC u sledovaných asijských pacientů a hodnot u bělošské populace stanovených stejnou metodikou (dle literárních údajů) nebyly zjištěny významné rozdíly (i když se jedná o malý počet stanovení).

Studie uzavírá, že nejvýznamnějším faktorem ovlivňujícím počty EPC v periferní krvi při stanovení CD133+/VEGFR+ je funkce

transplantované ledviny. Ostatní faktory se jeví jako méně průkazné, včetně vlivu sledovaných léků (i imunosupresiv).

■ KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Vladimír Teplan, DrSc.

Četné studie prokazují, že chronické selhání ledvin vede k endoteliální dysfunkci. Samotné závažné snížení renálních funkcí tak představuje nezávislý rizikový faktor a riziko kardiovaskulárního onemocnění je u nemocných s dysfunkcí ledvin léčených dialýzou mnohonásobně vyšší. Pro detekci a odhad rizika kardiovaskulárního postižení lze užít řady klinických i laboratorních vyšetření. Citlivými markery umožňujícími posoudit riziko endoteliální dysfunkce jsou i cirkulující endoteliální buňky. Cévní změny jsou při dlouhodobém dialyzačním programu závažným limitujícím faktorem pro zařazení do programu transplantace. I proto je významné zjištění, že dialyzovaní nemocní mají snížený počet cirkulujících EPC, a tedy, že jejich kardiovaskulární riziko je i z tohoto aspektu velmi vysoké.

Kardiovaskulární komplikace jsou nejčastější příčinou úmrtí po transplantaci ledviny. Jejich etiologie souvisí s endoteliální dysfunkcí spojenou se snížením počtu cirkulujících endoteliálních progenitorových buněk (EPC). Mechanismy indukce těchto buněk z kostní dřeně i samotný mechanismus reparace poškozených endoteliálních buněk nejsou dosud plně objasněny. V modelových studiích se předpokládá, že ischemie (více akutní, méně chronická) aktivuje řadu interferujících faktorů (růstové faktory, enzymy, ligandy a povrchové markery), které ovlivňují aktivitu atrakce EPC z kostní dřeně a jejich strukturální modifikaci. Z tohoto hlediska se uvádí především aktivace na ischemii dependentních proangiogenních cytokinů, jako je SDF-1 (stroma cell-derived faktor-1) nebo VEGF (vaskulární endoteliální růstový faktor). Dalšími jsou placentární růstový faktor, G-CSF a GM-CSF. Přímou v kostní dřeni se pak významně účastní metaloproteináza-9. Pro její aktivaci je zřejmě klíčový účinek NO při aktivitě eNOS. Endoteliální progenitorové buňky se mohou významně podílet na integritě endotelu cév. Podle původní představy se mohou diferencovat do podoby endoteliálních buněk, a tím zacelit defekt v endotelu. Nověji se předpokládá, že jsou integrovány do endoteliálních buněk mechanismem „cell-cell fusion“. Je však možné, že se uplatňují oba mechanismy. EPC jsou mobilizovány a aktivovány z kostní dřeně do periferní cirkulace. Tento proces je regulován řadou růstových faktorů, enzymů, ligandů a receptorů buněčných povrchů, jakož i přímým účinkem zvýšeného průtoku krve v kostní dřeni.

Komentovaná práce sledovala periferní endoteliální progenitorové buňky pocházející z kostní dřeně. I když šlo o nevelký soubor nemocných, je významná svým zjištěním závislosti reparační schopnosti endoteliální dysfunkce související s úrovní funkce transplantované ledviny. Překvapivě nebyl na rozdíl od jiných studií prokázán vliv věku. Ve studiích u kardiologických nemocných bylo totiž ukázáno, že schopnost kostní dřeně reagovat na hypoxii (např. po infarktu myokardu) při vyšším věku klesá. Vysvětlením je zřejmě to, že na rozdíl např. od populace českých transplantovaných nemocných, je thajský soubor významně mladší. Překvapivě nebyl prokázán ani vliv tělesné hmotnosti (ale opět asijská populace v této věkové kategorii má obecně v průměru nižší BMI, i když číselné hodnoty nebyly ve studii uvedeny). Nežjištěný rozdíl mezi příjemci ledvin od živých a kadaverózních dárců mohl být vysvětlen tím, že u našich nemocných se transplantace od živých dárců provádějí často preemptivně a u mladších jedinců,

a pokud je dialyzační léčba, tak pouze krátce; u thajské populace tyto rozdíly nebyly přítomny. Při podání ARB a inhibitorů ACE může být ovlivněna perfuze kostní dřeně, čímž by se mohl vysvětlit pozitivní účinek léčby. Je však možné, že to bylo ovlivněno pouze lepší renální funkcí transplantované ledviny. Účinek rHu-EPO je v literatuře popisován jako stimulační, v komentované studii však indikací pro podání rHu-EPO byla nepochybně renální anémie při zhoršené funkci. Jistě velmi významné bude zhodnocení vlivu imunosupresivní léčby. Vzhledem k tomu, že nejsou komparativní studie s podáváním imunosuprese jinak zdravým jedincům, lze její možný (a předpokládaný) vliv těžko jednoznačně odhadnout. Na jedné straně mohou ovlivnit koncentraci prozánětlivých cytokinů ve smyslu pozitivním, na straně druhé mohou ovlivnit jak aktivaci EPC z kostní dřeně, tak jejich vlastní reparační schopnosti úpravy buněk endotelu. V malém heterogenním souboru komentované práce tyto rozdíly zjištěny nebyly.

I když jsou výsledky komentované studie zajímavé a aktuální, nelze je přeceňovat. Vedle již zmíněné heterogenity a velikosti souboru byla statistická významnost převážně na nejnižší hladině. Je tedy zřejmé, že zjištěné nálezy jsou pilotní a je třeba rozsáhlejších studií k potvrzení jejich závěrů. Je třeba se také zaměřit na hlavní neimunitní komplikaci po transplantaci, tj. vysoký výskyt kardiovaskulárních komplikací s možností je i touto cestou ovlivnit.

Literatura

- Díaz JM, Gich I, Bonfill X, et al. Prevalence evolution and impact of cardiovascular risk factors on allograft and renal transplant patient survival. *Transplant Proc* 2009; 41:2151–2155.
- de Groot K, Bahlmann FH, Bahlmann E, et al. Kidney graft function determines endothelial progenitor cell number in renal transplant recipients. *Transplantation* 2005;79:941–945.
- Herbrig K, Gebler K, Oelschlaegel U, et al. Kidney transplantation substantially improves endothelial progenitor cell dysfunction in patients with end-stage renal disease. *Am J Transplant* 2006;6:2922–2928.
- Soler MJ, Martínez-Estrada OM, Puig-Marí JM, et al. Circulating endothelial progenitor cells after kidney transplantation. *Am J Transplant* 2005;5:2154–2159.
- Steiner S, Winkelmayer WC, Kleinert J, et al. Endothelial progenitor cells in kidney transplant recipients. *Transplantation* 2006;81:599–606.