

Prof. MUDr. Ondřej Viklický, CSc.

**P**rotilátkami zprostředkovaná rejekce (humorální rejekce, anglická zkratka ABMR) představuje jednu z největších výzev současné transplantální medicíny. Zpočátku se jenom tušilo, že protilátky proti HLA antigenům dárce mohou být patogenní, později Feucht upozornil na možnost průkazu štěpného produktu komplementu C4d v peritubulárních kapilárách po navázání protilátek příjemce na endotel peritubulárních kapilár štěpu (Feucht et al., 1993). Do Banffské klasifikace pak byla humorální rejekce zapracována podstatně později, v roce 2003 (Racusen et al., 2003), a v každé další aktualizaci tohoto systému hodnocení rejekčních nálezů se protilátkami zprostředkované rejekci přiřkládá větší a větší význam. To proto, že se ukazuje, že za příčinou pozdních ztrát štěpů stojí především tento typ rejekce.

Fenotypy humorální rejekce ovlivňují dlouhodobou funkci transplantované ledviny. Humorální rejekce se někdy projevuje velmi subtilně, někdy zase explozivně, kdy neadekvátně léčená vede k rychlému zhroucení funkce transplantované ledviny. V principu existují dvě varianty této rejekce: u nemocných v imunologickém riziku vzniká humorální rejekce časně a u nemocných lze většinou detekovat dárce specifické protilátky (cross-match); později se většinou projevuje méně agresivně a opět se dají prokázat dárce specifické protilátky, většinou proti HLA antigenům II. třídy. Mluvíme proto o *akutní humorální rejekci*, která se vyskytuje velmi brzy po transplantaci (nejčastěji během prvních tří týdnů) a o *chronické humorální rejekci*, která má mnoho tváří a může vzniknout prakticky kdykoli po transplantaci.

Diagnostická kritéria pro humorální rejekci se v poslední době mění a upřesňují, pozitivita barvení C4d přitom představuje jen tzv. vrchol ledovce. U většiny případů pozdního zhoršení funkce transplantované ledviny se v případě provedení biopsie zjistí humorální rejekce. Navíc se v mnoha případech diagnóza humorální rejekce mine, protože bioptický nález je C4d-negativní (Einecke et al., 2009), ale na druhou stranu je u selhávajících štěpů zachycena transplantální glomerulopatie (El Zoghby, 2009). Je možné, že v řadě případů C4d-negativní humorální rejekce je u nemocného mylně diagnostikována toxicita inhibitorů kalcineurinu.

Cílem tohoto krátkého přehledu je ukázat na vývoj poznatků o humorální rejekci především během posledního roku. Její intenzivní výzkum se soustředí na experimentální (zvířecí) modely, HLA protilátky, histopatologii a molekulární změny v biopsiích a rovněž se zkoumá odpověď na terapii.

## Experimentální modely

Humorální rejekci je obtížné navodit v experimentálních modelech. Pouze u primátů to lze snadno provést (Smith et al., 2006), většinou se ale vyskytuje současně i T-buňkami zprostředkovaná rejekce. Je to stejná situace jako u lidí, ale pro identifikaci rizikových faktorů a studium molekulárních fenotypů představuje zásadní problém. U laboratorních potkanů někteří autoři znovu oživilí model F334/LEW. Uvedené dva kmeny se liší jen v minoritních antigenech a bez imunosuprese je dárce ledvina kmene F334 u příjemce kmene Lewis vystavena chronickým změnám, které nejvíce připomínají fokálně-segmentální glomerulosklerózu (FSGS). Tento model proto většina ostatních autorů nepovažuje za ideální pro studium rejekčních změn.

## Fenotypy anti-HLA protilátek

Vztah mezi přítomností anti-HLA protilátek a následným selháním štěpu je dobře znám (Terasaki, 2003; Terasaki et al., 2004). Na druhou stranu, mnoho nemocných s dárce specifickými protilátkami nemá dysfunkci štěpu (Bartel, Regele et al., 2008), a proto je potřeba definovat ty protilátky, které způsobí poškození. Soudí se, že množství protilátek je spojeno s jejich patogenitou (Issa et al., 2008). Jednou z možností, jak vysvětlit škodlivý vliv protilátek, je jejich schopnost aktivovat komplement (Bartel, Wahrman et al., 2008).

## Non-HLA protilátky

Již delší dobu je známo, že časně i pozdní poškození štěpů může být zprostředkováno také protilátkami proti jiným antigenům, než je HLA. Tyto protilátky mohou vázat a aktivovat komplement, a stejně tak jej aktivovat nemusí. Mohou být ve své podstatě autoprotilátkami, ale i alloprotilátkami. Antigeny pro non-HLA protilátky jsou minoritní histokompatibilní antigeny, vaskulární receptory, adhezivní molekuly a intermediární filamenta. Známé jsou především protilátky proti receptoru typu 1 pro angiotensin II (Dragun, 2008).

## Histologické fenotypy

Význam fokální pozitivita C4d oproti difuznímu barvení je nejasný. Pozitivita C4d barvení v protokolárních biopsiích je jenom 2% (Mengel, 2005) a je otázkou, co vlastně pozitivní barvení při normální funkci štěpu krátce po transplantaci vlastně znamená. Loupy a spol. (2009) zjistili, že u senzitivovaných příjemců v protokolárních biopsiích jsou přítomny známky humorální rejekce a že tito nemocní mají riziko progresu. Je zajímavé, že biopsie štěpů u AB0-inkompatibilních transplantací mají téměř vždy pozitivní nález C4d a přitom mají výbornou funkci i dlouhodobý osud. Pokud jsou ale u těchto nemocných přítomny dárce specifické protilátky, může se vyvinout humorální rejekce (Toki et al., 2009).

Klíčovým nálezem v patologii humorální rejekce je kapilaritida (Gibson et al., 2008), která je spojena s glomerulitidou a přítomností protilátek proti HLA antigenům dárce. Je pravděpodobné, že kapilaritida je spojena s rozdělením bazální membrány peritubulárních kapilár, což je obraz pozdní humorální rejekce (Aita et al., 2007). Hlavním znakem pozdní progresivní humorální rejekce je transplantální glomerulopatie, která se rozpozná pomocí dvojitého konturu bazální membrány glomerulů a klinicky se projeví proteinurií (Cosio et al., 2008). Většina případů transplantální glomerulopatie má znaky humorální rejekce, ale malá část je nemá, a je proto otázkou, zda je to kvůli jiným mechanismům, nebo kvůli jiným stádiím humorální rejekce (Sis et al., 2007; Gloor et al., 2008).

## Molekulární fenotypy humorální rejekce

Humorální rejekce vykazuje odlišný profil transkriptomů od T-buňkami zprostředkované rejekce. Současně má ale i některé společné rysy. Jedním z nich je silná exprese interferonu  $\gamma$  uvolněného pravděpodobně z NK-buněk (Mueller et al., 2007; Reeve et al., 2009). Homs a spol. (2009) také prokázali zvýšenou expresi interferonu v biopsiích s transplantální glomerulopatií, kde jsou často nalézány zvýšené prepisy genů se vztahem k endotelu, a to i v případech, kdy je C4d negativní (Sis et al., 2009). My jsme prokázali, že nemocní s časnou humorální rejekcí, kteří mají nízkou

expresi genu pro CD20 (znak B-lymfocytů), růstový faktor TGFβ nebo chemokin RANTES, mají horší přežití štěpů a že u těchto nemocných také častěji použita terapie selhává. Potvrdili jsme také rozdíly v expresních profilech mezi akutními rejekcemi zprostředkovanými protilátkami a T- buňkami (Viklický et al., 2010).

### Léčba protilátkami zprostředkované rejekce

Humorální rejekce je komplexním onemocněním s různými fenotypy, a proto je jasné, že i naše nedávné poznatky o účinné léčbě nejsou dokonalé a výsledky této léčby nejsou uspokojivé. V principu se používají plazmaferézy, intravenózní imunoglobuliny, rituximab, splenektomie a experimentální postupy, které zahrnují bortezomib a eculizumab.

Vysoké dávky IVIG podané samostatně nejsou dostatečně účinné, stejně tak jako plazmaferéza sama o sobě. Výhodnější je kombinace plazmaferéz, IVIG a rituximabu (Slatinska et al., 2009; Lefaucher et al., 2009). Podání IVIG senzitivizovaným nemocným zlepšuje výsledky transplantací včetně snížení titru anti-HLA protilátek (Anglicheau, 2007). Plazmaferéza se ale zdá být účinnější než samotné podání IVIG u nemocných čekajících na dialýze na transplantaci ledviny (Stegall et al., 2006). Splenektomie se používá jen v případech rezistentní těžké humorální rejekce spolu s kombinací PP/IVIG (Locke et al., 2007).

Inhibitor komplementu C5 eculizumab (Locke et al., 2009) byl s úspěchem použit zatím v ojedinělých případech a bylo zjištěno, že snižuje depozice komplexu C5b-C9 (MAC). Dosud byla publikována jenom jedna práce, ostatní ukazují na jeho možné využití při recidivě hemolyticko-uremického syndromu (HUS) po transplantaci ledviny. Jedním z mnoha problémů spojených s jeho léčbou je vysoká cena. V současnosti probíhá jen jedna studie v Mayo University u nemocných s pozitivním cross-match před transplantací od žijícího dárce (clinicaltrials.gov).

Inhibitor proteasomů bortezomib byl vyzkoušen u nemocných bez rizika rejekce anebo jako záchranná léčba. Bortezomib likviduje některé plazmatické buňky (Perry et al., 2009), ale není vůbec jasné, jak je v této indikaci bezpečný a účinný. Zatím byly publikovány práce jen ze dvou pracovišť, z nichž jedním je indické centrum (Trivii et al., 2009). Práce Everlyho a dalších (Everly et al., 2008; Walsh et al., 2010) ukazují na dobrou bezpečnost a účinnost, nicméně zkušenosti s touto léčbou u nemocných s mnohočetným myelomem svědčí o časté neurotoxicitě.

### Závěr

Protilátkami zprostředkovaná rejekce představuje téma, na které se soustřeďuje pozornost výzkumníků a klinických pracovníků již celou dekádu. Její časná akutní forma je relativně vzácná a neléčená vede k rychlému zhroucení funkce štěpu. Léčebná strategie je ale již známá a ve většině případů je úspěšná. Chronická forma naopak vede k pomalému zhoršování funkce u většiny nemocných kdykoli po transplantaci, ale existují různé fenotypy s odlišnou klinickou manifestací i prognózou. Bližší poznání histologických a molekulárních fenotypů této rejekce v budoucnu umožní lépe definovat účinnou terapii. Centra, která chtějí úspěšně léčit tento typ rejekce, musejí mít k dispozici celou paletu nových diagnostických testů (především klasifikaci protilátek), protože z běžné histologie nelze diagnózu vůbec uzavřít.

### Literatura

Aita K, Yamaguchi Y, Horita S, et al. Thickening of the peritubular capillary basement membrane is a useful diagnostic marker of chronic rejection in renal allografts. *Am J Transplant* 2007;7:923–929.

Anglicheau D, Loupy A, Suberbielle C, et al. Posttransplant prophylactic intravenous immunoglobulin in kidney transplant patients at high immunological risk: a pilot study. *Am J Transplant* 2007;7:1185–1192.

Bartel G, Regele H, Wahrmann M, et al. Posttransplant HLA alloreactivity in stable kidney transplant recipients-incidences and impact on long-term allograft outcomes. *Am J Transplant* 2008;8:2652–2660.

Bartel G, Wahrmann M, Exner M, et al. In vitro detection of C4d-fixing HLA alloantibodies: associations with capillary C4d deposition in kidney allografts. *Am J Transplant* 2008;8:41–49.

Cosio FG, Gloor JM, Sethi S, Stegall MD. Transplant glomerulopathy. *Am J Transplant* 2008;8:492–496.

Dragun D. Humoral responses directed against non-human leukocyte antigens in solid-organ transplantation. *Transplantation* 2008;86:1019–1025.

Einecke G, Sis B, Reeve J, et al. Antibody-mediated microcirculation injury is the major cause of late kidney transplant failure. *Am J Transplant* 2009;9:2520–2531.

El Zoghby ZM, Stegall MD, Lager DJ, et al. Identifying specific causes of kidney allograft loss. *Am J Transplant* 2009;9:527–535.

Everly MJ, Everly JJ, Susskind B, et al. Bortezomib provides effective therapy for antibody- and cell-mediated acute rejection. *Transplantation* 2008;86:1754–1761.

Feucht HE, Schneeberger H, Hillebrand G, et al. Capillary deposition of C4d complement fragment and early renal graft loss. *Kidney Int* 1993;43:1333–1348.

Gibson IW, Gwinner W, Brocker V, et al. Peritubular capillaritis in renal allografts: prevalence, scoring system, reproducibility and clinicopathological correlates. *Am J Transplant* 2008;8:819–825.

Gloor J, Cosio F, Lager DJ, Stegall MD. The spectrum of antibody-mediated renal allograft injury: implications for treatment. *Am J Transplant* 2008;8:1367–1373.

Homs S, Mansour H, Desvieux D, et al. Predominant Th1 and cytotoxic phenotype in biopsies from renal transplant recipients with transplant glomerulopathy. *Am J Transplant* 2009;9:1230–1236.

Issa N, Cosio FG, Gloor JM, et al. Transplant glomerulopathy: risk and prognosis related to anti-human leukocyte antigen class II antibody levels. *Transplant* 2008;86:681–685.

Lefaucher C, Nochy D, Andrade J, et al. Comparison of combination Plasmapheresis/IVIG/anti-CD20 versus high-dose IVIG in the treatment of antibody-mediated rejection. *Am J Transplant* 2009;9:1099–1107.

Locke JE, Magro CM, Singer AL, et al. The use of antibody to complement protein C5 for salvage treatment of severe antibody-mediated rejection. *Am J Transplant* 2009;9:231–235.

Locke JE, Zachary AA, Haas M, et al. The utility of splenectomy as rescue treatment for severe acute antibody mediated rejection. *Am J Transplant* 2007;7:842–846.

Loupy A, Suberbielle-Boissel C, Hill GS, et al. Outcome of subclinical antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients with preformed donor-specific antibodies. *Am J Transplant* 2009;9:2561–2570.

Melcher ML, Olson JL, Baxter-Lowe LA, et al. Antibody-mediated rejection of a pancreas allograft. *Am J Transplant* 2006;6:423–428.

Mengel M, Bogers J, Bosmans JL, et al. Incidence of C4d stain in protocol biopsies from renal allografts: results from a multicenter trial. *Am J Transplant* 2005;5:1050–1056.

Mueller TF, Einecke G, Reeve J, et al. Microarray analysis of rejection in human kidney transplants using pathogenesis-based transcript sets. *Am J Transplant* 2007;7:2712–2722.

Perry DK, Burns JM, Pollinger HS, et al. Proteasome inhibition causes apoptosis of normal human plasma cells preventing alloantibody production. *Am J Transplant* 2009;9:201–209.

Racusen LC, Colvin RB, Solez K, et al. Antibody-mediated rejection criteria – an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection. *Am J Transplant* 2003;3:708–714.

Reeve J, Einecke G, Mengel M, et al. Diagnosing rejection in renal transplants: A comparison of molecular- and histopathology-based approaches. *Am J Transplant* 2009;9:1802–1810.

Rodriguez ER, Skojec DV, Tan CD, et al. Antibody-mediated rejection in human cardiac allografts: evaluation of immunoglobulins and complement activation products c4d and c3d as markers. *Am J Transplant* 2005;5:2778–2785.

Sis B, Campbell PM, Mueller T, et al. Transplant glomerulopathy, late antibody-mediated rejection and the ABCD tetrad in kidney allograft biopsies for cause. *Am J Transplant* 2007;7:1743–1752.

Sis B, Jhangri G, Bunnag S, et al. Endothelial gene expression in kidney transplants with alloantibody indicates antibody-mediated damage despite lack of C4d staining. *Am J Transplant* 2009;9:2312–2323.

Slatinska J, Honsova E, Búrgelová M, Slavčev A, Viklický O. Plasmapheresis and intravenous immunoglobulin in early antibody-mediated rejection of the renal allograft: a single-center experience. *Ther Apher Dial* 2009;13:108–112.

Smith RN, Kawai T, Boskovic S, et al. Chronic antibody mediated rejection of renal allografts: pathological, serological and immunologic features in nonhuman primates. *Am J Transplant* 2006;6:1790–1798.

Stegall MD, Gloor J, Winters JL, et al. A comparison of plasmapheresis versus high-dose IVIG desensitization in renal allograft recipients with high levels of donor specific alloantibody. *Am J Transplant* 2006;6:346–351.

Terasaki PI. Humoral theory of transplantation. *Am J Transplant* 2003;3:665–673.

Terasaki PI, Ozawa M. Predicting kidney graft failure by HLA antibodies: a prospective trial. *Am J Transplant* 2004;4:438–443.

Toki D, Ishida H, Setoguchi K, et al. Acute antibody-mediated rejection in living ABO-incompatible kidney transplantation: long-term impact and risk factors. *Am J Transplant* 2009;9:567–577.

Trivii HL, Terasaki PI, Feroz A, et al. Abrogation of anti-HLA antibodies via proteasome inhibition. *Transplantation* 2009;87:1555.

Viklický O, Hřibová P, Volk HD, et al. Molecular phenotypes of acute rejection predict kidney graft prognosis. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:173–180.

Walsh RC, Everly JJ, Brailey P, et al. Proteasome inhibitor-based primary therapy for antibody-mediated allograft rejection. *Transplantation* 2010;89:277–284.