

Přežití transplantované ledviny ovlivňují dárcovsky specifické protilátky vázající komplement

Loupy A, Lefaucheur C, Vernerey D, et al. Complement-binding anti-HLA antibodies and kidney-allograft survival. *N Engl J Med* 2013;369:1215–1226.

V roce 1969 bylo prokázáno, že anti HLA protilátky jsou lymfotoxické, a tudíž se začalo předpokládat, že aktivace kaskády komplementu hraje významnou roli v poškození štěpu protilátkami. Následně se zjistilo, že depozice C4d v renálních kapilárách je obrazem protilátkami zprostředkovaného poškození štěpu. Na počátku aktivace klasické komplementové kaskády stojí C1q frakce komplementu. Kapacita anti HLA protilátek vázat C1q představuje novou možnost ve stratifikaci rizika před transplantací a rovněž v diagnostice protilátkami zprostředkované rejekce. Cílem této práce bylo ověřit, zdali se kapacita anti HLA protilátek vázat komplement uplatňuje v selhání funkce štěpu.

Do studie byli zahrnuti všichni nemocní, kteří podstoupili transplantaci ledviny v Hôpital Necker a Saint-Louis Hôpital v Paříži v letech 2005–2011. Pro zevní validaci výsledků byla zahrnuta skupina nemocných z Foch Hôpital. Všichni nemocní měli negativní CDC crossmatch před transplantací. Imunosupresivní protokoly byly podobné. Roční protokolární biopsii podstoupilo 845 nemocných a 171 nemocných mělo akutní rejekci během prvního roku po transplantaci. U všech nemocných byly detekovány anti HLA protilátky ze séra odebraného před transplantací a rok po transplantaci. Protilátky proti antigenům HLA-A, B, Cw, DR, DQ a DP byly vyšetřeny metodou One Lambda pomocí platformy Luminex. Séra nemocných od pacientů s prokázanými dárcovsky specifickými protilátkami (DSA) byla následně vyšetřena v Pittsburghu na přítomnost anti HLA protilátek vázajících C1q metodou single antigen flow bead assay C1qScreen, One Lambda.

Autoři odhalili tři populace příjemců po transplantaci: 700 nemocných nemělo cirkulující dárcovsky specifické anti HLA protilátky, 239 nemocných mělo protilátky, které nevázaly komplement, a u 77 nemocných byly přítomny DSA vázající komplement. Akutní rejekce během prvního roku mělo 171 nemocných, 56 % rejekcí bylo celulárních a 44 % zprostředkovaných protilátkami. Protilátkami zprostředkovaná rejekce se vyskytla u 48 % nemocných s DSA vázajícími komplement a u 16 % s DSA bez vazby komplementu. Celulární rejekce se vyskytla u 18 % nemocných s C1q+ DSA a u 13 % s DSA nevážajícími komplement a u 7 % nemocných bez DSA. U 87 % nemocných s C1q+ DSA byl v biopsii přítomen mikrovaskulární zánět, 23 % nemocných mělo známky endarteriitidy, 22 % mělo transplantaační glomerulopatii a 61 %

mělo C4d pozitivitu v peritubulárních kapilárách. Tito nemocní měli rovněž v roce po transplantaci nižší eGF.

Pacienti byli po transplantaci sledováni v průměru 4,8 roku. Nemocní s DSA měli signifikantně kratší přežití štěpů v porovnání s pacienty bez DSA (83 % vs. 94 %). Následně autoři oddělili skupinu nemocných s DSA vázajícími komplement a zjistili, že jenom 54 % nemocných mělo funkční transplantovanou ledvinu oproti 93 % nemocných s DSA nevážajícími komplement. Podobné riziko ztráty štěpu bylo největší u nemocných s přítomnými DSA vázajícími komplement ve vzorcích před transplantací.

Vazba C1q také korelovala se silou DSA měřenou průměrnou fluorescenční intenzitou (MFI). Jenom 10 % protilátek, které nevázaly C1q, mělo MFI > 6 000 jednotek. Většina protilátek s MFI > 6 000 jednotek tedy vázala C1q. Tato studie tak prokázala, že přítomnost dárcovsky specifických protilátek vázajících komplement po transplantaci je silně spojena s poškozením štěpu.

■ KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Ondřej Viklický, CSc.

Protilátkami zprostředkované poškození transplantované ledviny je v současnosti považováno za hlavní příčinu dysfunkce a selhání štěpu. Protilátky způsobují cévní poškození, které je buď akutní, nebo chronické, a může se manifestovat jako náhlá nebo progresivní dysfunkce štěpu.

Historicky nejstarší a dosud také univerzálně používanou metodou pro detekci DSA je cytotoxický crossmatch (complement-dependent cytotoxicity, CDC) (Patel, Terasaki, 1969). Vyšetření PRA (panel reactive antibody) stanoví počet jamek v panelu HLA antigenů (celkem 100 jamek, proto bývá výsledek v procentech), proti kterým má pacient vytvořené protilátky. Výše PRA tak umožní odhadnout pravděpodobnost negativního CDC crossmatch před transplantací. Luminex je metoda využívající série polystyrenových mikrosfér (korálků) obsahující konkrétní HLA antigen s fluorochromy, která detekuje přítomnost protilátky/protilátek proti konkrétnímu HLA antigenu. Na druhou stranu CDC crossmatch ověří přítomnost protilátky proti antigenu (i non-HLA) vázající komplement tak, že dojde ke smrti buňky. Metoda stanovení DSA technologií Luminex je daleko senzitivnější a může (ale nemusí) předpovědět rejekci i při negativitě CDC crossmatch, protože stanoví všechny protilátky, bez ohledu na jejich schopnost vázat komplement.

Diagnóza protilátkami zprostředkovaného poškození je založena na detekci DSA s prokázanou aktivací komplementu ve štěpu a známek poškození štěpu a zánětu (Racusen et al., 2003). Detekce protilátek je v poslední době předmětem bouřlivého vývoje a protilátky, které poškozí štěp, nejsou jenom protilátky proti HLA antigenům I. a II. třídy, ale také protilátky proti jiným antigenům (non-HLA protilátky: MICA, MICB, receptor pro angiotensin I, vimentin a pravděpodobně další, dosud ne zcela specifikované antigeny). Jak již bylo řečeno, protilátky proti antigenům štěpu se objeví u většiny nemocných po orgánových transplantacích, ale k poškození a ztrátě funkce může dojít až za mnoho let po jejich objevení. Protilátky proti antigenům HLA I. třídy jsou častěji spojovány s akutní humorální rejekcí, kdežto protilátky proti antigenům HLA II. třídy spíše s rejekcí chronickou (Mengel et al., 2012).

Jedním z hlavních úkolů, před nimiž stojí transplantační imunologie v současnosti, je zavést takové testy, které pomohou rozlišit, které protilátky jsou patogenní a způsobí rejekci. Dosud používané testy, které určí třídu protilátek, jejich specifitu a sílu vazby, nejsou přesné. Aktivace komplementu protilátkami je nepochybně hlavním mechanismem, jak vzniká poškození

struktury a následně i funkce štěpu. Proto testy, které umožní posoudit schopnost protilátek vázat komplement, jsou předmětem velkého zájmu transplantační komunity. Delší dobu je známo, že vazba C4d složky komplementu s protilátkami ve štěpu koreluje s přežíváním transplantovaného orgánu. Signál pro vazbu C4d je relativně slabý. V pilotních studiích se prokázalo, že protilátky, které váží složku C1q, mohou být více spojeny s poškozením štěpu. Proto provedl Loupy a spol. větší studii s cílem posoudit predikci ztráty štěpu podle schopnosti dárcovsky specifických protilátek vázat C1q. Vazba C1q s protilátkami velmi silně korelovala s humorální (protilátkami zprostředkovanou) rejekcí v prvním roce po transplantaci ledviny s větším mikrovaskulárním zánětem, depozicí C4d v peritubulárních kapilárách a horší eGF a pětiletým přežitím štěpů.

Práce Loupyho přinesla nové možnosti v detekci rizika budoucího poškození štěpu u nemocných, kteří mají nižší MFI pro DSA, a naopak vyloučit riziko u těch nemocných, kteří mají MFI pro DSA vysoké, ale protože jejich protilátky neváží C1q, jsou vlastně pro osud štěpu benigní. Toto zjištění má zjevnou relevanci pro alokaci štěpů příjemcům stejně jako v modifikaci imunosupresivního protokolu po transplantaci. Detekce vazby C1q dárcovsky specifickými protilátkami se tak zřejmě dostala do klinické praxe.

Jaká je relevance významného příspěvku Loupyho práce pro českou transplantologii? Předně pro detekci dárcovsky specifických

protilátek je zásadní stoprocentní penetrace technologie LUMINEX do rutiny transplantačních center. Dosud se DSA technologií Luminex stanovuje po transplantaci v případech určení fenotypu humorální rejekce, případně monitoraci terapie humorální rejekce. Kromě transplantací od žijících dárců se ale nepoužívá k určení rizika rejekce a modifikaci imunosuprese před transplantací. K tomuto účelu je zcela nezbytné pravidelné vyšetřování DSA technologií Luminex u všech nemocných na čekací listině. Protože ale v ČR nemají všechna transplantační centra zavedenu technologii Luminex do klinické praxe, vážne interpretace výsledků a komunikace mezi centry. Podobně v ČR dosud ani neexistuje kód pro úhradu metody zdravotními pojišťovnami. Přitom celá západní Evropa i USA tuto technologii již několik let využívá. Nyní tedy bude ve vyspělých centrech zaváděno stanovení vazby C1q protilátkami do rutinních postupů. Věřme, že se tak stane i u nás. Jednou z možností, jak udržet krok s dobou, se zřejmě jeví soustředění diagnostiky humorální rejekce do jednoho centra.

Literatura

- Mengel M, Husain S, Hidalgo L, Sis B. Phenotypes of antibody-mediated rejection in organ transplants. *Transpl Int* 2012;25:611–622.
- Patel R, Terasaki PI. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. *N Engl J Med* 1969;280:735–739.
- 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.