

Shoda v epletech HLA antigenů II. třídy určuje imunologické riziko při transplantaci ledviny

Wiebe C, Rush DN, Nevins TE, et al.

Class II Eplet Mismatch Modulates Tacrolimus Trough Levels Required to Prevent Donor-Specific Antibody Development. J Am Soc Nephrol 2017;28:3353–3362.

Přežití transplantovaných ledvin je omezeno rejekcí, rekurencí základního onemocnění, infekcí, toxicitou medikace a úmrtím s funkčním štěpem. Podávaná imunosuprese ve skutečnosti ovlivňuje všechny uvedené příčiny dysfunkce. Většinou jsou podávány co nejnižší tolerované dávky imunosupresivních léků. Bohužel neexistují žádné prediktivní markery umožňující individualizovat léčbu pro potřeby konkrétních pacientů. Většina pacientů je dnes léčena podle protokolu studie Symphony s takrolimem a mykofenolát mofetilem (MMF). Bohužel cílové koncentrace takrolimu nebyly nikdy studovány dlouhodobě a naše znalosti pocházejí většinou z jednorozhodných studií. Proto nejsme schopni správně předpovědět, u jakých nemocných může být imunosuprese bezpečně minimalizována.

Hlavní příčinou selhání štěpů v dlouhodobém sledování je chronická rejekce, kterou způsobují nově vytvořené dárcovsky specifické protilátky (DSA) proti HLA antigenům II. třídy. V současnosti je pozornost věnována definici míst na HLA antigenech, proti kterým je ve skutečnosti protilátková odpověď namířena. Tato malá místa jsou nazývána eplety, což jsou povrchově uspořádané sekvence aminokyselin na každé alele HLA. Protilátky nevznikají proti celé alele (např. DR2), ale jenom proti konkrétnímu epletu na alele. Zatímco tradiční HLA neshoda je definována jako 0, 1, 2 pro každý lokus, neshody v epletech jsou kvantifikovány stupněm podobnosti na molekulární úrovni. V poslední době bylo prokázáno, že neshody v epletech HLA antigenů II. třídy lépe predikují riziko vzniku protilátek proti těmto antigenům, rejekce a ztráty štěpu. Zatím nebylo prokázáno, zda je možno využít stupně neshody v epletech HLA antigenů II. třídy jako nového biomarkeru pro řízení imunosuprese po transplantaci. Tato studie měla za cíl optimalizovat léčbu takrolimem podle stupně neshody v epletech HLA antigenů II. třídy.

Do studie byli zařazeni nemocní, kteří podstoupili transplantaci ledviny v letech 1999–2015 (n = 654).

HLA typizace byla provedena metodou high-resolution a software HLAMatchmaker byl použit k definování neshod mezi dárce a příjemcem v epletech HLA antigenů II. třídy. Potransplantační séra byla shromažďována před transplantací a následně 1 měsíc, 2, 3 měsíce, 6, 12, 18 a 24 měsíců a následně jednou za rok po transplantaci ledviny nebo v době zhoršení funkce štěpu. Po transplantaci byla vyšetřena přítomnost anti-HLA protilátek v séru. Standardním způsobem byla monitorována hladina imunosuprese. Nemocným s *de novo* tvorbou dárcovsky specifických HLA protilátek (DSA) byla nabídnuta biopsie štěpu. Nemocní s DSA anebo s akutní rejekcí měli upravenou dávku takrolimu (8 ng/ml) a dávku MMF (2 g/den dle tolerance), v případě subklinické rejekce (celulární i humorální) byli nemocní léčeni steroidy, v těžších případech s králičím antithymocytárním globulinem (rATG). V případě klinických projevů humorální rejekce byl nemocným podán jednorázově intravenózní imunoglobulin (IVIG) v dávce 2 g/kg.

Konsekutivní kohorta představovala nízkorizikovou skupinu nemocných, jenom 10 % pacientů mělo cPRA > 80 % a 96 % nemocných podstoupilo první transplantaci ledviny. U 66/596 (11 %) nemocných došlo k novotvorbě DSA (dnDSA) proti antigenům HLA-DR a HLA-DQ; dnDSA byla zachycena poprvé 55 měsíců po transplantaci (medián); 23 % nemocných mělo přítomny DSA HLA-DR, 56 % DSA HLA DQ a 21 % jak proti DR, tak i DQ antigenům. Nemocní s DSA byli mladší, měli transplantovanou ledvinu od mladšího dárce a zaznamenali vyšší neshodu v epletech HLA DR a DQ mezi dárce a příjemcem, delší dobu studené ischemie, vyšší koeficient variability koncentrací imunosupresiv a více akutních rejekcí během prvního roku. Nemocní léčení takrolimem měli nižší prevalenci vzniku *de novo* DSA. Bylo zjištěno, že neshoda v epletech HLA antigenů II. třídy korelovala se vznikem *de novo* DSA a s přežitím štěpů. Počty neshod v epletech (rozpětí 0–41 neshod) se značně

lišily, medián neshod v HLA DR epletech byl 10. Riziko vzniku protilátek se zvýšilo 2,5krát a riziko selhání štěpu 1,29krát pro každých deset neshod. Medián neshod v HLA DQ epletech byl 13 (rozpětí 0–42 neshod). Riziko tvorby protilátek bylo dvakrát vyšší pro každých deset neshod a riziko ztráty štěpu bylo 1,29krát vyšší pro každých deset neshod v HLA DQ epletech. Riziko neshody v celých HLA DR a DQ antigenech (0, 1, 2 neshody) nebylo signifikantní pro predikci tvorby *de novo* DSA.

Padesát tisíc výsledků měření koncentrací takrolimu bylo použito pro predikci rizika novotvorby DSA. Vyšší koeficient variability koncentrací takrolimu byl signifikantním rizikem pro tvorbu DSA, rovněž nejnížší koncentrace takrolimu byly zaznamenány u nemocných s novotvorbou DSA a tito nemocní měli hodnoty takrolimu nižší než

5 ng/ml oproti nemocným, u kterých nikdy k tvorbě DSA nedocházelo, rozdíly byly především patrné v období šesti měsíců před vznikem protilátek. Nemocní s vyšším imunologickým rizikem (> 11 HLA DR a DQ neshod v epletech), kteří vyvinuli *de novo* DSA, měli vyšší procento měření koncentrace takrolimu < 5 ng/ml. Na druhou stranu, nemocní s malým imunologickým rizikem (< 11 neshod v epletech) dobře tolerovali nižší koncentrace takrolimu (< 5 ng/ml) a nevytvářeli *de novo* DSA. V mnohorozměrné analýze byly rizikovými faktory pro vznik protilátkami zprostředkované rejekce mladší věk, nonadherence a HLA DR/DQ neshoda v epletech. Ve sledovaném období bylo zaznamenáno celkem 57 selhání štěpů, riziko pro selhání štěpů byl opožděný rozvoj funkce štěpu, nonadherence a novotvorba DSA proti antigenům II. třídy.

KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Ondřej Viklický, CSc.

Tato studie prokázala, že nezávislémi prediktory pro novotvorbu dárcovsky specifických protilátek a pro vznik humorální rejekce jsou neshody v epletech HLA DR a DQ. Studie také ukázala na fakt, že léčba cyklosporinem představuje pro vznik *de novo* dárcovsky specifických protilátek vyšší riziko než léčba takrolimem. Navíc studie ukázala, že koncentrace takrolimu < 5 ng/ml představuje riziko pro novotvorbu protilátek a že účinek koncentrací takrolimu je významně ovlivněn imunologickým rizikem vyplývajícím z míry neshody v epletech na HLA antigenech II. třídy DR a DQ. Studie také ukázala, že i v případech, kdy nemocní nemají žádné anti-HLA protilátky před transplantací, neshoda v epletech HLA DR a DQ představuje precizní metodu pro definování imunologického rizika. Toto zjištění je další v řadě potvrzující kritický význam HLA shody pro úspěch transplantace ledviny.^{1,2} V posledních letech probíhala diskuse, vedená spíše operátory než imunology, že doba studené ischemie je důležitějším faktorem pro úspěch transplantace ledviny. Samozřejmě ultrakrátká ischemie v případě použití ledvin od marginálních dárců může výsledky pozitivně ovlivnit, nicméně je dobře a dlouho známo, že právě shoda v HLA antigenech II. třídy představuje zásadní parametr pro dlouhodobý úspěch transplantací. V komentované, v principu retrospektivní studii nebyla sice neshoda

v alelách signifikantní pro novotvorbu protilátek, ovšem při použití podrobné typizace HLA antigenů metodou sekvenování nové generace (NGS) s vyšetřením epletů se jasně ukázalo, že míra shody v HLA antigenech II. třídy nejenom určuje riziko vzniku DSA, ale že diskriminuje imunologické riziko a definuje nemocné, kteří mají být léčeni vyššími dávkami takrolimu. Tato práce je také další, jež diskutuje cílové koncentrace takrolimu. Ve studii Symphony,³ podle které většina z nás imunosupresi po transplantaci ledviny řídí, byla cílová koncentrace takrolimu definována jako nízká při hodnotě 4–6 ng/ml. Ve skutečnosti ale průměrná koncentrace takrolimu byla na horní hranici cílového rozmezí. Studie tudíž neprokázala bezpečnost léčby s nízkými koncentracemi takrolimu kolem 4 ng/ml a i výše popsané poznatky svědčí pro vyšší cílové koncentrace takrolimu (> 5 ng/ml). V ČR zatím bohužel nemáme pro rutinní transplantační programy u solidních orgánů k dispozici typizaci HLA antigenů pomocí metody high resolution, a tudíž neumíme definovat nízké imunologické riziko. Než se tak stane, měli bychom používat vyšší cílové koncentrace takrolimu a rovněž se snažit zajistit lepší míru shody v HLA antigenech mezi dárcem a příjemcem, alespoň v HLA antigenech II. třídy. To je ale v současném systému alokací ledvin k transplantaci nedosažitelné. Ale třeba se blýská na lepší časy.

LITERATURA

1. Williams RC, Opelz G, McGarvey CJ, et al. The Risk of Transplant Failure With HLA Mismatch in First Adult Kidney Allografts From Deceased Donors. *Transplantation* 2016;100:1094–1102.
2. Cecka JM. HLA Matching for Renal Transplantation: The Last Word? *Transplantation* 2016;100:975–976.
3. Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A, et al.; ELITE-Symphony Study. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med* 2007;357:2562–2575.