

ÚJ LEHETŐSÉGEK A VESETRASNSZPLANTÁCIÓ EREDMÉNYEINEK JAVÍTÁSÁRA

Ph.D. Értekezés Tézisei

Dr. Káposztás Zsolt

Pécsi Tudományegyetem

Általános Orvosi Kar

Sebészeti Klinika

2009

I. ACUT ANTITEST MEDIÁLT REJECTIO

1. BEVEZETÉS

A transzplantációs várólistán lévők száma folyamatosan növekszik, ezzel szemben a donációk száma nem emelkedett jelentősen az elmúlt időszakban. Egyik lehetőség a transzplantáció iránti egyre növekvő igény csökkentésére a beültetést követő rövid és hosszú távú kimenetel javítása. Jobb, effectívebb fenntartó immunszuppresszív kezelés, a rejectiók korai felismerése és kezelése eredményezhet hosszabban és jobban funkcionáló allograft működést.

A rejectiók lényeges hányadát donor ellenes antitestek okozzák. Antitest mediált acut rejectio (AMR), egy új entitás, egyre nagyobb számban kerül felismerésre a T sejtek ellen irányuló hatásos gyógyszeres kezelés ellenére.

AMR kifejezés használatos minden olyan folyamat leírására, mely donor specifikus antitesteket vagy donor reactive antitesteket, mint anti-human leukocita antigenek (HLA), ABO isoagglutininek és anti-endothelialis antitestek, foglal magába. Az AMR a donor ellenes antitestek; melyek lehetnek jelenlévők alacsony titerben a transzplantációt megelőzően, vagy keletkezhetnek de novo a beültetés után; és az allograft érendothelium közötti interakció eredményeként jön létre. A folyamatot általában a complement rendszer befolyásolja. A humorális kilökődéssel 100%-os korrelációt mutató complement fragmentum C4d immunfluoreszcens módszerekkel való kimutatása a peritubuláris capillárisokban támasztja alá ezt a hypothesisit. Antitest dependens citotoxicitás (ADCC) is szerepet játszhat az érendothelium sérülés kialakulásában a complement rendszer hatásai nélkül.

A tradicionális rejectios kezelések, mint a steroid pulzus kezelés vagy a lymphocita ellenes antitestek általában nem hatásosak az AMR kezelésében, hiszen ezek a celluláris folyamatok blokkolását célozzák elsősorban. Az AMR kezelésére irányuló törekvések a

recipiens vérében keringő káros antitestek, complement fragmentumok és cytokinek eltávolítására irányulnak, plasmapheresis (PP), immunadsorptiót, intra vénás immunoglobulint vagy alacsony dózisú cytomegalovirus ellenes hyperimmun-globulint (IVIg; a B sejt aktiváció és antitest termelés befolyásolására) valamint a B sejtek eliminálására rituximabot alkalmazva.

A CD 20 a B sejtek felszínén megtalálható phosphoprotein antigén, amely csak a B sejt élőalakjain és az érett B sejteken expresszálódik. Nem található meg sem az őssejteken, sem a plazmasejteken. A rituximab következőkben részletezett hatásai vezetnek B sejt depletiohoz: antitest dependens cytotoxicitás (ADCC), complement dependens cytotoxicitás (CDC), apoptosizáció indukció a B sejtekben, végül a sejtek növekedésre való direct gátló hatás.

Steroid és lymphocita ellenes antitest rezistens AMR-t elszenvedő 54 vesetranszplantált beteg retrospective analysise során vizsgáltuk az AMR hatásait és hasonlítottuk össze a hosszú távú kimenetelt két terápiás eljárást alkalmazva. Az egyik csak a plasmapheresisre épült, míg a másik a plasmapheresis és rituximabot is magába foglalta. A vizsgálat a Texasi Egyetem, Immunologiai és Transzplantációs részlegén történt Houstonban.

2. BETEGANYAG ÉS MÓDSZER

Az 54 beteg transzplantációja 2001 és 2006 között történt. Ezen periódus alatt 568 vese került beültetésre. Az első csoport tagjai (A csoport, 26 beteg) plasmapheresis és rituximabot is kaptak, míg a másik csoport tagjai (B csoport, 28 beteg) csak plasmapheresis kezelésben részesültek steroid és anti-lymphocita antitest terápiára rezistens AMR miatt. A betegek IVIg supplementatióban is részesültek amennyiben az IgG és IgM szintje alacsonyabb volt az ellenőrzések során.

Az összes transzplantáció anti-human globulin által erősített CDC (CDC-AHG) valamint fluoresceinel conjugált anti-human globulin reagenssel végzett flow-cytometriás negatív keresztpróbát követően történt. HLA I-es és II-es osztály ellenes panel reactive antitestek (PRA) meghatározása mindkét fent ismertetett technikával ellenőrzésre került minden betegnél a beültetést megelőzően. A donor specifikus antitestek (DSA) meghatározása a “microbead” technológiás flow-cytometriás módszert alkalmazva történt kecske eredetű anti-human IgG-phycoerythrin alkalmazva.

Az AMR diagnózisa a klinika lefolyáson, a histologiai jellemvonásokon, C4d immunfluoreszcens festésen és a recipiens serumában keringő DSA jelenlétének kimutatásán alapult. A tipikus kezelési protocol a két hét hosszúságú 5 napos plasmapheresis, majd 2 nap szünetet magába foglaló kezelés volt. Ezt követően másnapenkénti PP, 3 PP hetente, következett 2-3 hétig a serum creatinin alakulásától függően. Ha sikerült 30%-os creatinin csökkenést elérni akkor befejeztük a kezelést. Az A csoport tagjai a fentiek mellett rituximabot (Rituxan, Genentech Inc., South San Francisco, CA, USA; 375 mg/m²) is kaptak minden egyes PP ciklus végén.

3. EREDMÉNYEK

Nem találtunk szignifikáns különbséget az alapvető demographiai paraméterekben a két csoport között (kor, nem, élő vs. cadaver donor, PRA, HLA egyezés, diabetesz, megelőző transfusi, recipiens ethnicitás, etiológia). Minden beteg részesült indukciós kezelésben és nem volt különbség a két csoport között annak tekintetében, hogy basiliximabot vagy anti-thymocita globulint kaptak indukcióként. A B csoport tagjai nagyobb arányban részesültek cyclosporine alapú fenntartó immunszuppresszív kezelésben (p=0.04). Az AMR megjelenéséig eltelt idő

illetve a kombinált rejectiók (AMR plusz acut celluláris rejectio (ACR)) száma nem mutatott különbséget. Az A csoport tagjai között 14 míg a B csoportnál 15 esetben fordult elő ACR az AMR diagnózisát megelőzően. Minden beteg részesült mono- vagy polyclonalis anti-lymphocytá immunoglobulin kezelésben hasonló átlagos dózisban az AMR felismerését megelőzően és a kezelése során is. Az A csoport betegek nagyobb arányban részesültek IVIg kezelésben (IVIg/Cytogam; Fisher's exact test, $P=0.02$) valamint nagyobb számú ($P=0.003$) és hosszabb ($P=0.009$) plasmapheresis kezelésben is. A fenti különbségek ellenére a multivariáns analysis megerősítette a rituximab AMR kimenetelét befolyásoló elsődleges szerepét. A 2 éves allograft túlélést befolyásoló egyes független rizikó faktorok elemzésére multivariáns Cox regressziós analysis készítettünk. A graft vesztes rizikója két évnél ötszörös volt azon betegeknél, akik nem részesültek rituximab kezelésben. Az egyéb változók egyike sem mutatott szignifikáns hatást.

A beteg túlélés az A csoportnál 100%, míg a B csoportnál 90% volt ($P=NS$). A 2 éves graft túlélés az A csoportnál 90%, a B csoportnál 60% volt ($P=0.005$). Multivariáns analyzissal az IVIg vagy Cytogam adása javulást eredményezett a graft túlélésben hasonlítva a csak PP-ben részesültekkel (90% vs. 66%, $P=0.05$). Mindazonáltal rituximab adása szignifikánsan jobb eredményt mutatott (92% vs. 60%, $P=0.009$). Még ennél is jobb graft túlélést értek el azon betegek, akik IVIg/Cytogam és rituximab kezelésben is részesültek hasonlítva a csak PP-el kezelt betegekhez (94% vs. 53%, $P=0.025$).

A GFR MDRD becslése az allograft funkció vizsgálatára nem eredményezett különbséget a csoportok között a 2 évet vizsgálva (General Linear Model, Repeated Measures test, $P=0.42$).

Az 54 beteg között, akik összesen 838 plasmapheresist kaptak, 124 esetben fordult elő komplikáció 29 betegnél, akik eloszlása hasonló volt a két csoportnál. A hat hónapon belül

jelentkező infekciós eredetű szövődmények nem mutattak hatást a 2 éves graft túlélésre (Kaplan-Meier analysis ($P=0.66$, Log-Rank test). Továbbiakban, nem találtunk különbséget a fertőzéses szövődmények előfordulási gyakoriságában illetve típusában sem a két csoport között a kezelést befejezését követő 3 illetve 6 hónapon belül ($P=0.24$ and $P=0.78$). IVIg adása tendenciát mutatott a fertőzések előfordulásának csökkentése irányába a B csoportnál ($P=0.058$).

4. ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK

4.1. Retrospective vizsgálatunk 92%-os 2 éves graft túlélést eredményezett a rituximab és plasmapheresis/IVIg kombinációval kezelt betegeknél, mely szignifikánsan jobbnak bizonyult (Log-Rank test; $p=0.025$) mint az anti-CD 20 antitesttel nem kezelt betegek graft túlélése.

4.2. A rituximabbal kezelt betegeknél észlelt 100%-os 2 éves beteg túlélés és a kevés, nem súlyos szövődmény megerősíti ennek a monoclonális antitestnek a hatékony és biztonságos felhasználását AMR kezelésében.

4.3. Nem mutatkozott különbség a fertőzéses szövődmények előfordulási gyakoriságában illetve típusában sem a két csoport között a kezelést befejezését követő 3 illetve 6 hónapon belül ($P=0.24$ and $P=0.78$). IVIg adása csökkentette, habár nem szignifikánsan, a fertőzések előfordulását a B csoportban ($P=0.058$).

4.4. C4d immunfluoreszcens festés és a donor specifikus antitestek kimutatása és monitorozása a recipiens szérumban nagyon hasznos és szoros korrelációt mutató factor az AMR diagnózisában és a kezelés hatásosságának, tartósságának megítélésben.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Az általunk végzett retrospektív elemzés a rituximab elsőbbségét igazolta az AMR kezelésében a korábban már hatásosnak bizonyult standard kezelés, a plasmapheresis és IVIg mellett. A 2 éves 100%-os beteg túlélés valamint a jelentősebb szövődmények előfordulásának alacsony száma a rituximabbal kezelt betegeknél ennek a monoclonális antitestnek az AMR terápiájában való biztonságos és hatásos alkalmazását erősíti meg.

II. POSZT-TRANSZPLANTÁCIÓS LYMPHOPROLIFERATÍV BETEGSÉG (PTLD)

1. BEVEZETÉS

A PTLD definíció szerint benignus vagy malignus lymphoid proliferációt jelent, amely a szerv vagy csontvelő átültetést követően alkalmazott hosszan fennálló gyógyszeres immunszuppresszív kezelés következtésben alakul ki. A lymphoproliferatív megbetegedés megjelenése 12 – 20 -szor gyakrabban várható az érintett transzplantált populációban. A PTLD-s esetek többsége CD 20 antigén expresszáló B-sejt eredetű és Epstein-Barr vírus (EBV) fertőzéssel kapcsolatos. A patogenezise azonban T sejt dysfunctionnal hozható összefüggésbe. Kifejlődésére legnagyobb esély a transzplantációt követő első évben van. A szervátültetettek körében az átlagos előfordulási idő 6 hónap. Összefüggés mutatható ki a PTLD megjelenése és a kilökődés kezelésére alkalmazott emelt dózisu és agresszívebb immunszuppresszió között. A betegséget megelőző tipikus kórlefolyás a következő: calcineurin inhibitor fenntartó kezelésen lévő beteg steroid rezisztens kilökődési reakciót elszenvedve egy vagy két kurzus anti-thymocytra ellenes antitest vagy OKT3 kezelésben részesül, melyet követve hamarosan PTLD alakul ki a betegnél.

Klinikailag PTLD kifejeződik háromféleképpen: 1. oropharyngealis hyperplasia vagy lymphadenopathia, mely mononucleosis infectiosára hasonlít; 2. fulmináns, rapidan progrediáló

polyclonalis lymphoid hyperplasia; 3. vagy leggyakrabban, mint egyedüli vagy metastaticus polyclonalis vagy monoclonalis tumor, mely gyakran agyi, gastrointestinalis vagy allograftban lévő extranodalis lokalizációval kerül felismerésre. A betegek 90%-ban mutatható ki az EBV fertőzés, mely lehet primer vagy reaktiváció eredménye.

Korai stádiumban felismerve az immunszuppresszió mérséklése hatásosan kezeli a betegséget, magas reagálási rátával (RR). Az EBV profilaktikus kezelését antivirális gyógyszerekkel, mint a ganciclovir vagy acyclovir próbálták bevezetni több-kevesebb sikerrel. A nem-specifikus immun stimulánsok, mint az alpha-interferon is képes az immunrendszer erősítésére PTLD-s betegeknél. A chemoterapiát mintegy mentő kezelésként lehet alkalmazni, ha az immunszuppresszió mérséklése nem járt eredménnyel, azonban ez szignifikáns mortalitást és morbiditást hordoz magában a transzplantált betegek körében. Rituximab elsőként a relapsust mutató alacsony grádusú CD 20 antigén pozitív non-Hodgkin lymphomák kezelésére lett jóváhagyva 50%-os RR-el és 5%-oscomplett remissió (CR) rátát eredményezve. Szerepe egyre nagyobb különféle nem malignus B sejteket érintő folyamatok, mint autoimmun betegségek (rheumatoid arthritis, Sjogren's syndroma, systemas lupus erythematosus, myasthenia gravis, autoimmun hemolyticus anemia, idiopathic thrombocytopeniás purpura and *dermatomyositis*, *polymyositis*).

Az elmúlt években sok esettanulmány méltatta a rituximab hatásosságát PTLD-ben. Fázis II vizsgálatok prospektíven erősítették meg a rituximab klinikai alkalmazásának előnyeit. A legtöbb betegnél emellett az immunszuppresszió is mérséklésre került és antivirális kezelést is kaptak. Néhány beteg a kezelést követő néhány napon belül, azonban a többség csak pár hónappal utána mutatott javulást. A betegek java része standard dózisú (375 mg/m²) rituximabot kapott hetente egyszer 4 héten keresztül.

2. ESETTANULMÁNY

A dolgozatban részletesen ismertetésre került egy 65 éves gyermek donorból származó en-block vesékkal transzplantált, PTLD-s beteg története, akinek anamnesisében dermatomyositis visszatérő shubokkal szerepelt. A beteg többszörösen befolyásolt és zavart immunrendszere végül PTLD kifejlődéséhez vezetett. Járulékos kockázatot jelentett a dermatomyositis kezelésére indított intenzív mycophenolat mofetil kezelés, a beteg idős kora, CMV status különbözőség és az EBV pozitív donor. Rituximab és sirolimus alapú immunszuppressziót választottunk a betegség kezelésére a fentebb ismertetett okok miatt. Az általunk ismertetett eset is bizonyítékot nyújt a rituximab – sirolimus kombináció hatásosságára PTLD-ben - a histológia az elváltozás 90%-ban necrosist mutatott -, amelelt, hogy más, B sejt eredetű immunológiai rendellenességeket is kontroll alatt képes tartani.

3. ÖSSZEFOGLALÁS

Megállapíthatjuk, hogy a rituximab hatásos kezelési eljárás a CD 20 antigén pozitív PTLD-s betegek kezelésében második vonalban, az immunszuppresszió mérséklését követően de párhuzamosan adva is. A társuló jelentős toxicitása miatt a chemoterápiát érdemes azon betegeknél alkalmazni, akik valamilyen ok miatt nem kaphatnak rituximabot, vagy azt használva remissiot nem sikerült elérni.

IV. A SIROLIMUS SZEREPE ÉS HATÁSOSÁGA RE-TRANSZPLANTÁCIÓKBAN

1. BEVEZETÉS

A transzplantációt követő kimenetel sokat javult az elmúlt időszakban, viszont az allograft veszteség továbbra is komoly probléma maradt számos recipienst érintve. Ismételt transzplantáció jobb és hosszabb beteg túlélést eredményez a vizsgálatok tanúsága szerint, mint a dialízis kezelés. Azon betegeknél akik elveszítik graftjukat három lehetőségük marad:

hemodialízis, mely rossz életminőséget biztosít és költség szempontjából is előnytelen; peritonealis dialízis, mely gyakran visszatérő peritonitisszel és egyéb hasi szövődéssel társul; végül a re-transzplantáció, mely nyilvánvalóan jobb életminőséget ajánl, azonban a korábbi graft vesztés miatt magasabb rizikót hordoz és költséges, legalább is az első évben.

Habár az ismételt átültetés reményt kínál, a korábban végzett tanulmányok szerint a beteg és graft túlélési eredményei rosszabbak hasonlítva az első transzplantációkéhoz. Vizsgálatunk során elemeztük és összehasonlítottuk a különféle demographiai és immunológiai faktorok hatását a beteg és graft túlélésére valamint az acut és chronicus rejectiók előfordulását primer és re-transzplantált betegeknél.

2. BETEGANYAG ÉS MÓDSZER

1994. május és 2005. november között 162 (15%) beteg részesült ismételt vese transzplantációban. Ezen periódus alatt összesen 1062 transzplantáció történt a Texasi Egyetem Immunológiai és Transzplantációs részlegén Houstonban. 98/162 (64%) beteg részesült *de novo* sirolimus bázisú immunszuppresszióban. A re-transzplantáción átesett betegek egyike sem kapott sirolimust az első transzplantációt követően. A 576 (64%) a 900 primer transzplantált betegből *de novo* sirolimus alapú immunszuppresszív protokollra volt beállítva. Ebből az 576 betegből választottunk 200 beteget kontroll populációnak akik, a transzplantáció idejét és a demographiai mutatókat tekintve megfelelt a 98 re-transzplantált beteg hasonló paramétereinek.

3. EREDMÉNYEK, ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK

3.1. Univariáns analízis során a graft vesztés kockázatát emelte az első transzplantációt követő 6 hónapon belüli graft vesztés ($P=0.0001$), idősebb korú recipiens ($P=0.01$), biopszia által igazolt acut rejectio (BPAR; $P=0.049$) és a donor ethnicitása ($P=0.05$). Élő donoros transzplantáció nem hozott jobb eredményeket. Az 5 éves graft túlélés multivariáns analízise

során a BPAR fokozott rizikót jelentett ($P=0.034$, HR 2.42). A 2, 3 és 4 éves beteg túlélést elemezve a recipiens 60 évnél fiatalabb kora előnyt jelentett ($P=0.033$, HR 0.185; $P=0.05$, HR 0.22; $P=0.05$, HR 0.22), 5 évnél a diabetesz hiánya bizonyult protektív faktornak ($P=0.034$, HR 0.037). A jobb (3<) HLA egyezés csökkentette az acut kilökődés előfordulását az 5 éves elemzésnél ($P=0.07$, HR 0.164).

3.2. Vizsgálataink alapján nem észleltük a sebészi szövődmények nagyobb arányú előfordulását az ismételt transzplantációknál. Továbbá, nem igazolódott rosszabb túlélés sem azon nők körében, akik második transzplantációt kaptak, sem azok között a betegek között, akik ismételten kapcsolatba kerültek második transzplantációjuk során adott specifikus HLA antigénekkkel.

3.3. Az 1 éves beteg túlélés a primer beültetéseknel 96%, míg a második transzplantációnál 94% ($P=0.49$) volt. Az 5 éves beteg túlélés sem mutatott szignifikáns különbséget (88 versus 86%; $P=0.68$). Az 1 éves (90 versus 90%; $P=0.96$) és az 5 éves (78 versus 77%; $P=0.92$) graft túlélés különbsége sem bizonyult szignifikánsnak ($P=0.98$).

3.4. A BPAR és a chronicus rejectio/chronicus allograft nephropathia hasonló volt a két csoport között (Log-Rank, $P=0.12$ és $P=0.99$). Az ismételt transzplantáltak között 5 betegnél (5%) fordult elő humorális rejectio, míg a primer transzplantáltaknál 8 betegnél (4%).

3.5. A transzplantációt követő creatinin szint és vesefunkció (MDRD formula alapján kalkulált GFR) 1, 3, 12, 24, 48 és 60 hónappal a műtét után nem különbözött a két csoportnál.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Az 5 éves után követéses vizsgálatunk eredményeként kijelenthetjük, hogy a sirolimus bázisú immunszuppresszió alkalmazása hasonló hatékonyságú második transzplantáció során és ugyan olyan hosszú távú kimenetelhez vezet, mint primer átültetésnél alkalmazva.