

Geni, antigen i antitijela HLA kao kriterij odabira imunogenetički optimalnog davatelja bubrega

Imunološki rizik u transplantaciji bubrega – klinička procjena i praktični pristup

Renata Žunec

KBC Zagreb

Mladen Knotek

KB Merkur

Zagreb

TIPIZACIJA - ANTIGENI/GENI HLA

USPOREDBA PRIMATELJ – DAVATELJ

ODREĐIVANJE

PODUDARNOSTI

MATCHING –

„M”

NEPODUDARNOSTI MISMATCHING – „MM”

ODREĐIVANJE HLA MM

E G HLA-A*26, -; B*38, -; C*12, -; DRB1*04, *13; DQB1*03, *06
K D HLA-A*02, *26; B*38, -; C*12, -; DRB1*04, *13; DQB1*03, *06

E G i sestra K D imaju ABDR nepodudarnost **100** ABCDRDQ **10000**
(Izračun prema pravilima Eurotransplanta - nepodudarnost HLA-A i -B na razini širokih specifičnosti, -DR na razini užih specifičnosti)

MM aleli 1. donora, -majka (Tx: 23.05.1990.g.): B18, Bw6, DR1

MM aleli 2. donora ET 170915 (Tx: 13.03.2019.g.): A25, B18, B49, Bw6, Cw12, DR3, DR11, DQ2, DQ7

**ANALIZA: SVEUKUPNA ANTITIJELA HLA
DONOR-SPECIFIČNA ANTITIJELA**

SKRINING - ANTITIJELA HLA

1. PRISUTNOST

NEIMUNIZIRANOST vs IMUNIZIRANOST,
% PRA - PANEL REAKTIVNA ANTITIJELA

PRA 0-6%

NEIMUNIZIRANOST

PRA 6-85%

IMUNIZIRANOST

PRA 85-100%

VISOKA IMUNIZIRANOST

SKRINING - ANTITIJELA HLA

2. SPECIFIČNOST

AUTO- vs ALO-

HLA vs non HLA

IgG vs IgM

HLA SPECIFIČNOST

RAZRED I - A, B, C

RAZRED II – DRB1, DRB3,4,5, DQA1, DQB1,

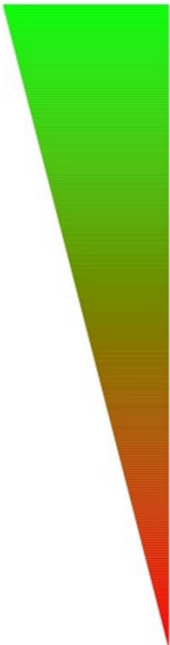
DPA1, DPB1

METODE ODREĐIVANJA ANTITIJELA

**LIMFOCITOTOKSIČNOST OVISN
KOMPLEMENTU (((CDC**

METODE ČVRSTE FAZE

- **ELISA**
- **PROTOČNA CITOMETRIJA**
- **LUMINEX METODOLOGIJA**



INTERPRETACIJA REZULTATA – % PRA

CDC – ovisi o zastupljenosti na panelu,
PROMJENJIVA VRIJEDNOST

LUMINEX – ovisi o broju kuglica
NEREALNA VRIJEDNOST

VIRTUALNI PRA / KALKULIRANI PRA– izračun koji u obzir uzima stvarnu učestalost u populaciji i daje **REALAN** broj imunološki nepodobnih donora - online kalkulatori tx programa

INTERPRETACIJA REZULTATA – SPECIFIČNOST HLA AT

KLINIČKA RELEVANTNOST VS IRELEVANTNOST

CDC - DETEKTIRA SAMO SPEC HLA-A,B

RELEVANTNA

- Nedvojbeno utvrđene specifičnosti

IRELEVANTNA

- Autoantitijela
- Non HLA antitijela
- IgM HLA antitijela

INTERPRETACIJA REZULTATA – SPECIFIČNOST HLA AT

KLINIČKA RELEVANTNOST VS IRELEVANTNOST

LUMINEX – SA TESTOVI

Imunološki parametri parametri

koji lokusi
pozitivnosti

HLA-A, B, DR , DQB

HLA-C, DQA, DPB

EPITOPI / KROS REAKTIVNE SKUPINE
RIJETKE SPECIFIČNOSTI

nevezujuća

ALEL SPECIFIČNA ANTITIJELA

Metodološki

granica

MFI

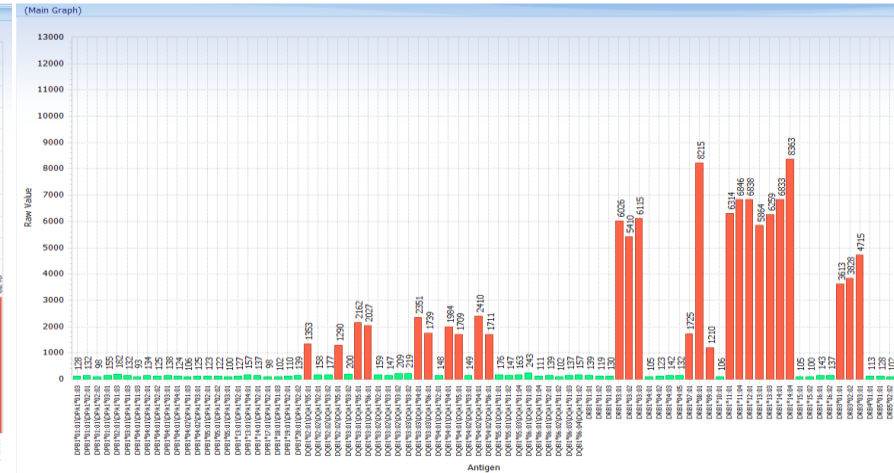
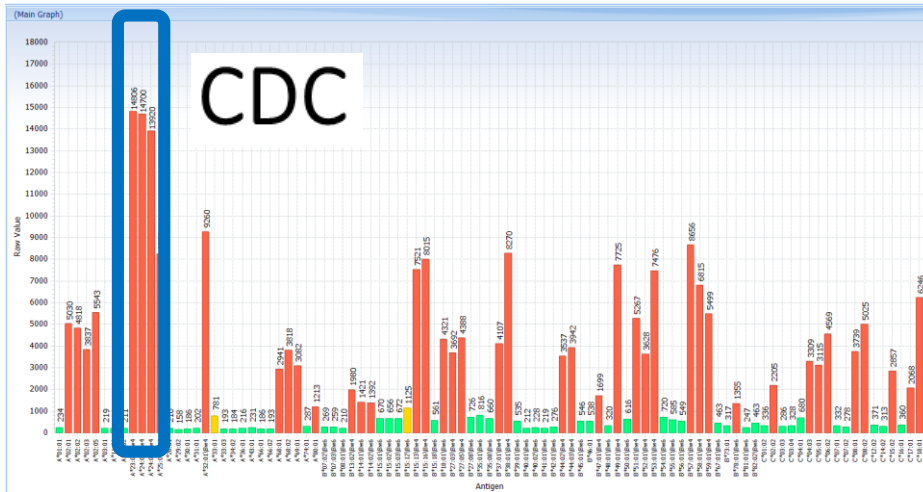
LRA/MFI

PROZON EFEKT

C vezujuća vs C

gustoća antigena

CDC vs LUMINEX



Reakcije za antitijela HLA razreda I u rasponu MFI: 1200 (HLA-A34) - 5100 (HLA-Cw12).

Reakcije za antitijela HLA razreda II u rasponu MFI: 3800 (HLA-DR15) - 21 900 (HLA-DQ3).

Prisutna su antitijela HLA razreda II, niskog intenziteta reakcija (MFI: 600-950), a koja su bila prisutna i prije druge transplantacije i nisu donor(170915)-specifična. Antitijela HLA razreda I nisu prisutna.

CROSSMATCH

ZAVRŠNI PRE-TRANSPLANTACIJSKI TEST
ISKLUČUJE DONOR SPECIFIČNA ANTITIJELA

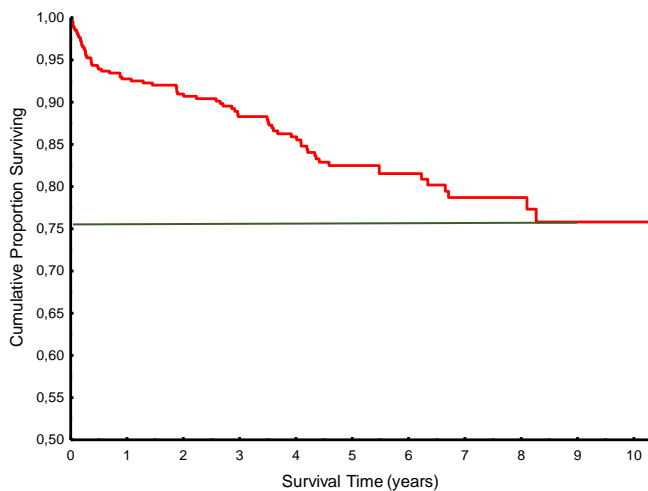
NEGATIVAN

SLABO POZITIVAN ? KLINIČKI ZNAČAJ
IgM POZITIVAN CM

POZITIVAN

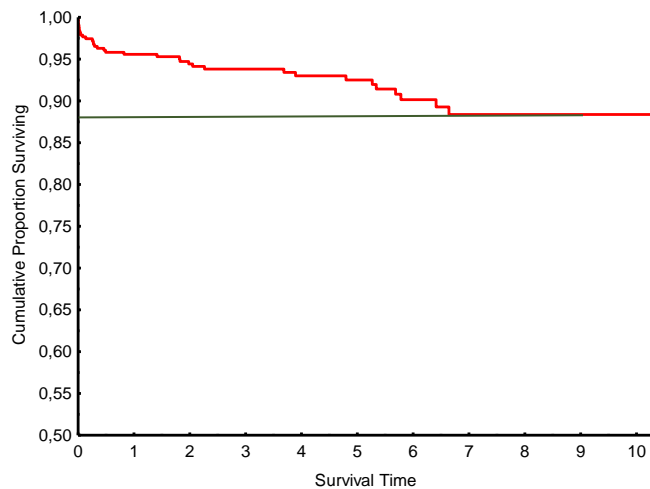
JAKO POZITIVAN

Preživljenje bolesnika nakon transplantacije bubrega



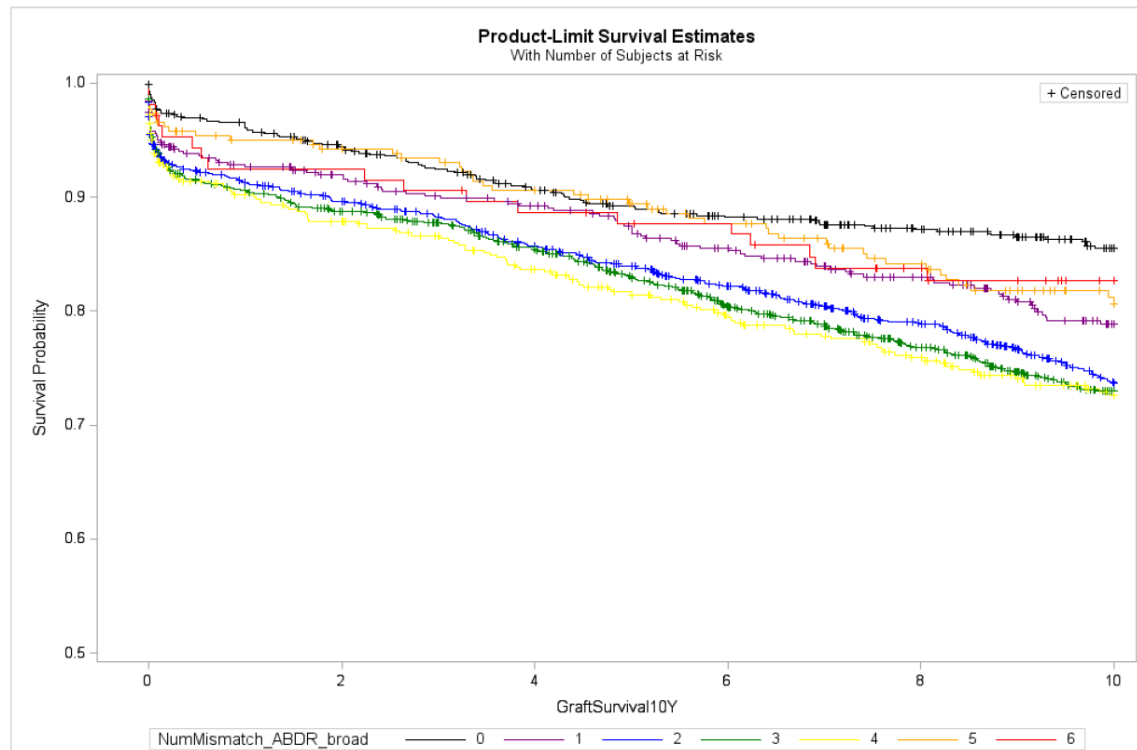
	Level of effect	p	HR	CI	
Dob primatelja		<0,001	1,048	1,026	1,071
Dob donora		0,079	1,020	0,997	1,043
Spol primatelja	M	0,384	0,823	0,531	1,276
Spol donora	M	0,728	0,927	0,607	1,418
HLA nepodudarnost		0,425	0,928	0,772	1,115
Trajanje liječenja dijalizom		<0,001	1,104	1,054	1,157

Preživljenje bubrega cenzurirano za smrt bolesnika



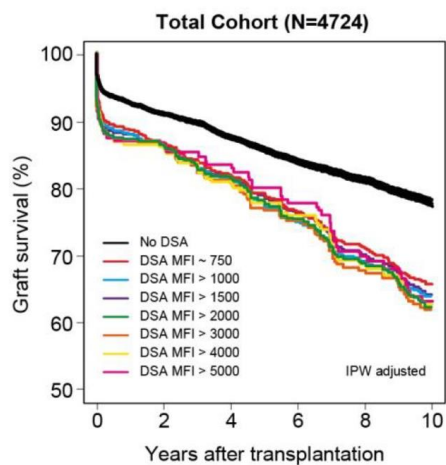
	Level of effect	p	HR	CI	
Dob primatelja		0,224	0,986	0,963	1,009
Dob donora		0,661	0,996	0,977	1,015
Spol primatelja	M	0,622	1,167	0,631	2,159
Spol donora	M	0,377	0,770	0,431	1,375
HLA nepodudarnost		0,761	1,046	0,782	1,399
Trajanje liječenja dijalizom		0,441	1,030	0,955	1,112

Izostanek povezanost HLA nepodudarnosti s dugoročnim preživljenjem bubrega- Nizozemski podaci

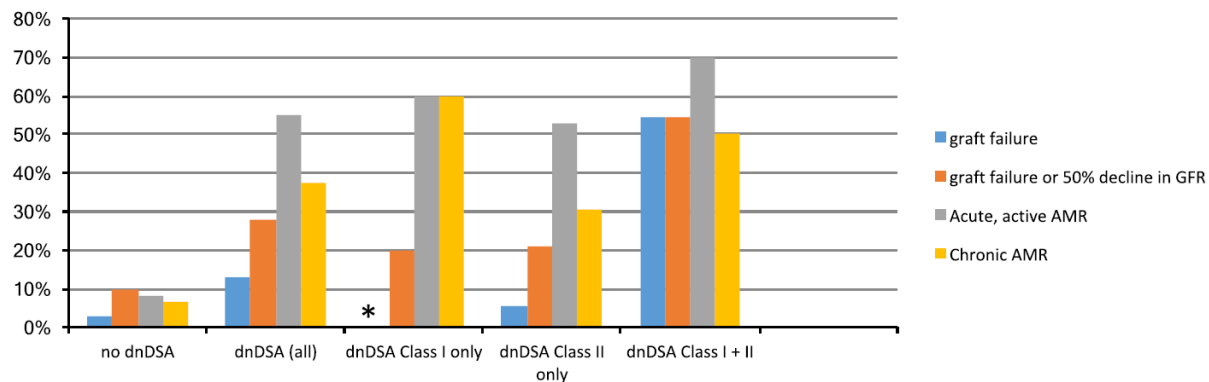


Donor-specifična protutijela (DSA) i transplantacija bubrega

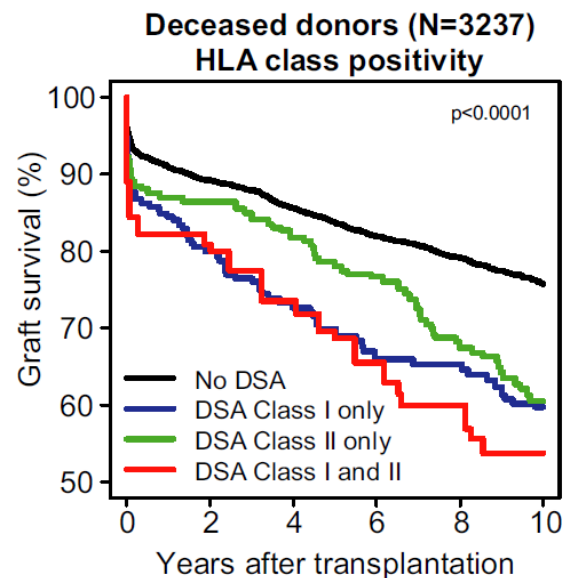
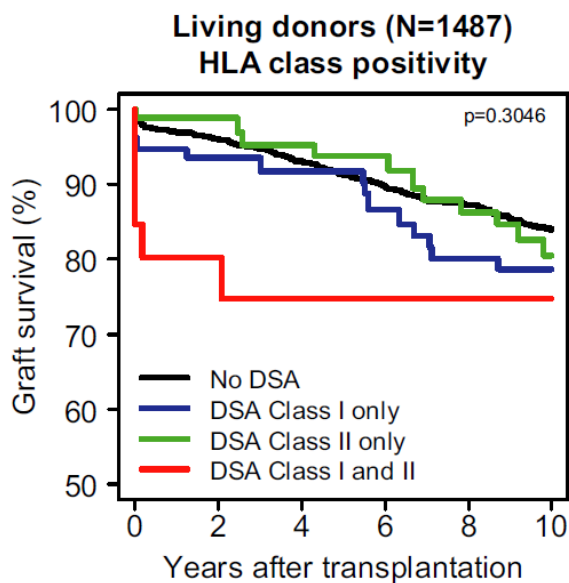
Preegzistentna DSA



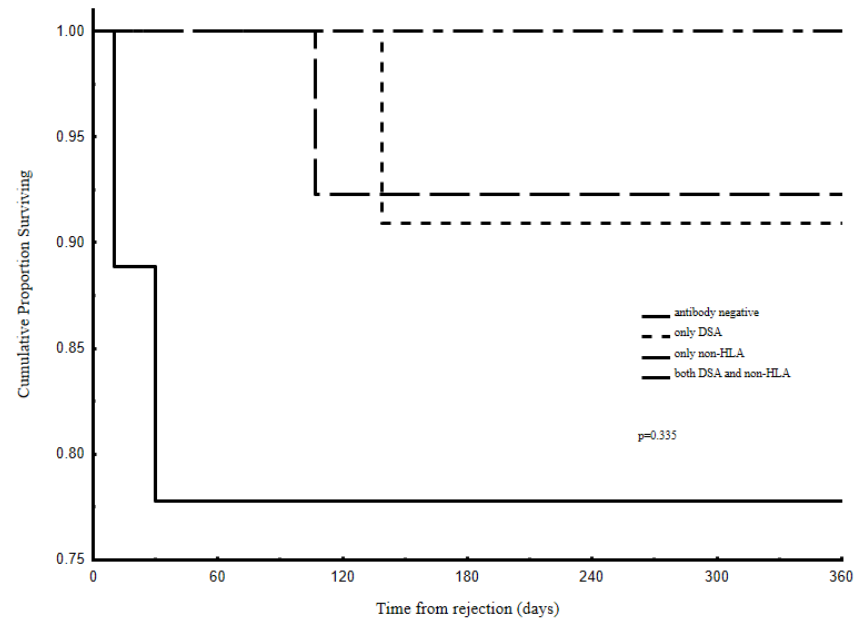
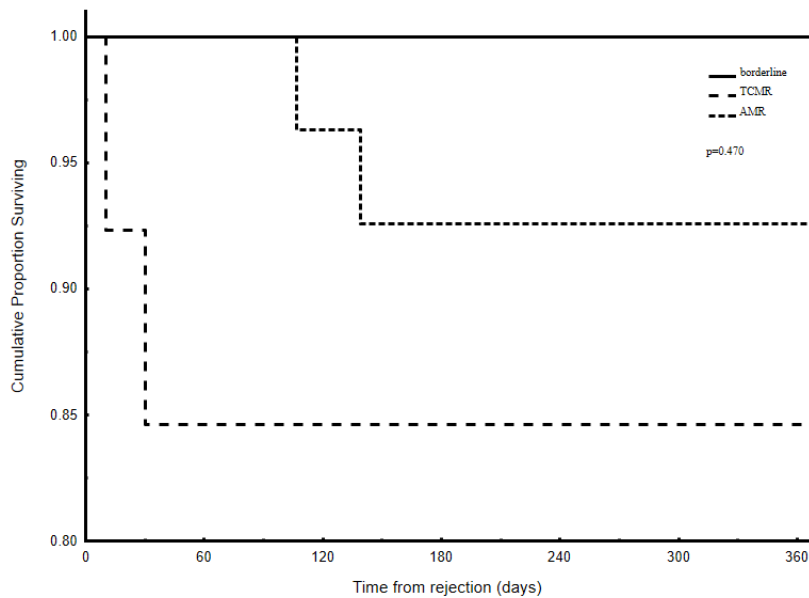
De novo DSA



Preegzistentna donor-specifična protutijela i ishod transplantacije bubrega s obzirom na tip donora



Odbacivanje posredovano protutijelima; odn. udruženo s mikrovaskularnom ozljedom (bez obzira na DSA) povezano je s rizikom od gubitka bubrega



P.R., Ž, 1971g, KG B, 1 TX – PRIJAVA NA LČ

- 2013 - 2015 CDC skrining: PRA 60-90%
 LUMINEX scr: vRA 97%

RAZRED I POZITIVAN MFI 1 000-17 000

RAZRED II NEGATIVAN

NEPRIHVATLJIVI ANTIGENI

A23 A24 A25 A26 A66 A11 A32 B51 B52 B8 B44 B45 B13 B15
B70 B38 B39 B57 B58 B18 B49 B50 B54 B55 B56 B35 B37
B60 B61 B41 B42 B46 B47 B53 B78 B82 Cw3

P.R., Ž, 1971g, 1. TX

- Osnovna boleost: Granulomatoza s poliangitisom
- Hemodijaliza od 12/2012

P.R. – RE-EVALUACIJA NEPRIHVATLJIVIH ANTIGENA

14.01. 2015

vPRA 97%

A23 A24 A25 A26 A66 A11 A32 B51 B52 B8 B44 B45 B13 B15
B70 B38 B39 B57 B58 B18 B49 B50 B54 B55 B56 B35 B37
B60 B61 B41 B42 B46 B47 B53 B78 B82 Cw3

vPRA 80%

B51 B52 B44 B45 B15 B70 B57 B58 B49 B50 B54 B55 B56
B35 B60 B61 B41 B53 B78 B82

P.R. - TRANSPLANTACIJA

- 14.05.2015.

PONUĐA BUBREGA - KADAVERIČNI DONOR

TRENTNI NEPRIHVATLJIVI AG - /

POVIJESNI NEPRIHVATLJIVI

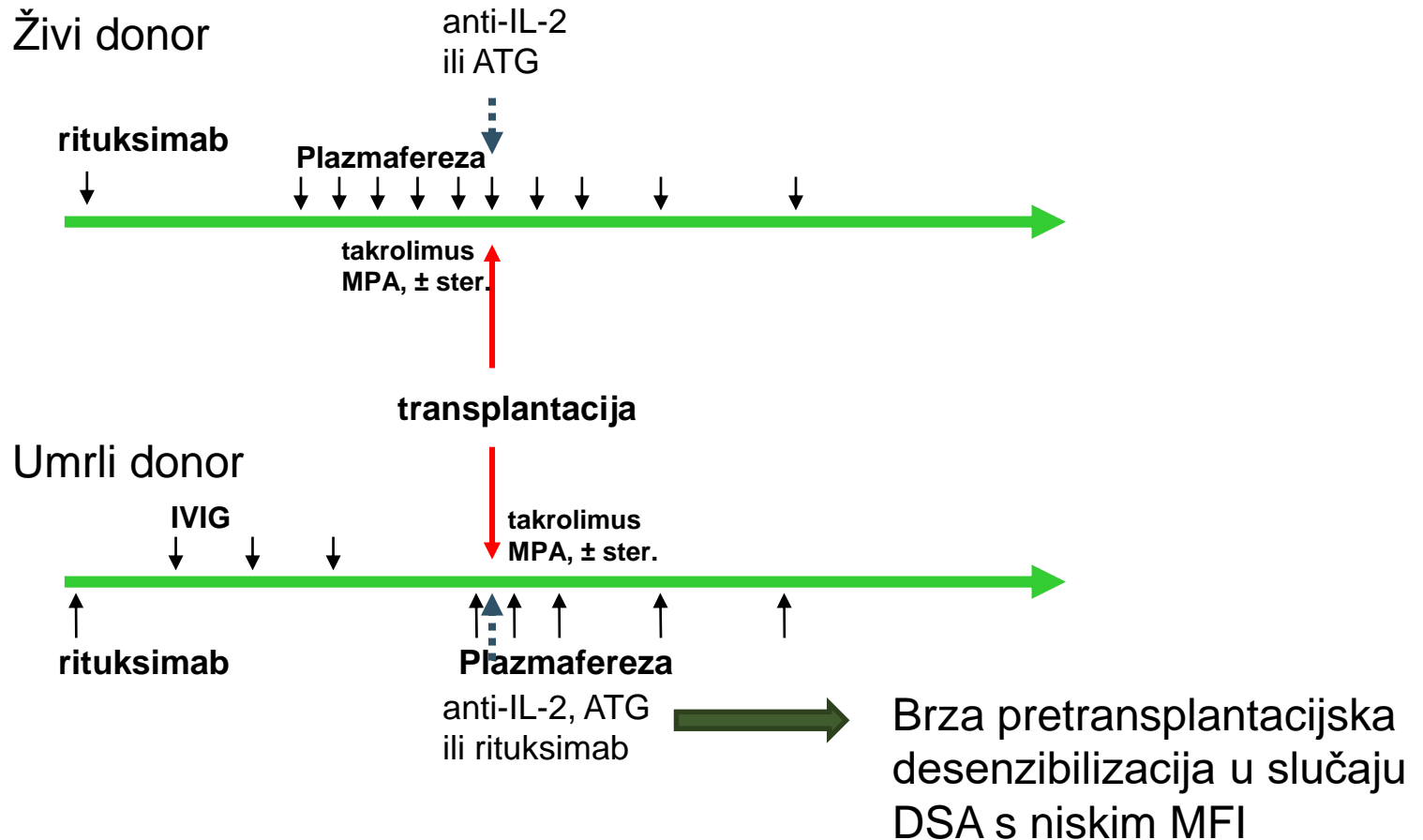
A24 – MFI 860

B13 – MFI 4100

B39 – MFI 1900

- MM ABDR 121 MM ABCDRDQ 12111
- CDC CROSSMATCH - NEGATIVAN

Protokoli desenzibilizacije (Merkur)



P.R. TRANSPLANTACIJA

- Indukcija imunosupresije: rituksimab+basiliksimumab; kortikosteroidi
- Plazmafereza prije transplantacije + nakon transplantacije
- Održavanje imunosupresije: Prograf, CellCept, kortikosteroidi

P.R.- POSTTX PRAĆENJE

- Odgođena funkcija bubrega
- Biopsija 8 dana nakon tx: akutno oštećenje tubula; bez znakova odbacivanja
- 03.07.2015. –

NISU PRISUTNA DSA

PRISUTNA SU ANTITIJELA DRUGIH SPECIFIČNOSTI (non-DSA)

koja su bila prisutna i prije transplantacije, najviši MFI 11000

CDC PRA 12%

- Indikacijska biopsija 2 mj. nakon tx (7. mj. 2015): i3, t2, g2, v1, ptc2, C4d0- akutno odbacivanje posredovano stanicama IIA; sumnja na transplantacijsku glomerulopatiju- bolusi metilprednizolona; PEX
- EM: duplikature glomerularne bazalne membrane; paramezangijski i subendotelni imuni depoziti- membranoproliferativni GN posredovan imunim kompleksima



P.R. - POSTTX PRAĆENJE

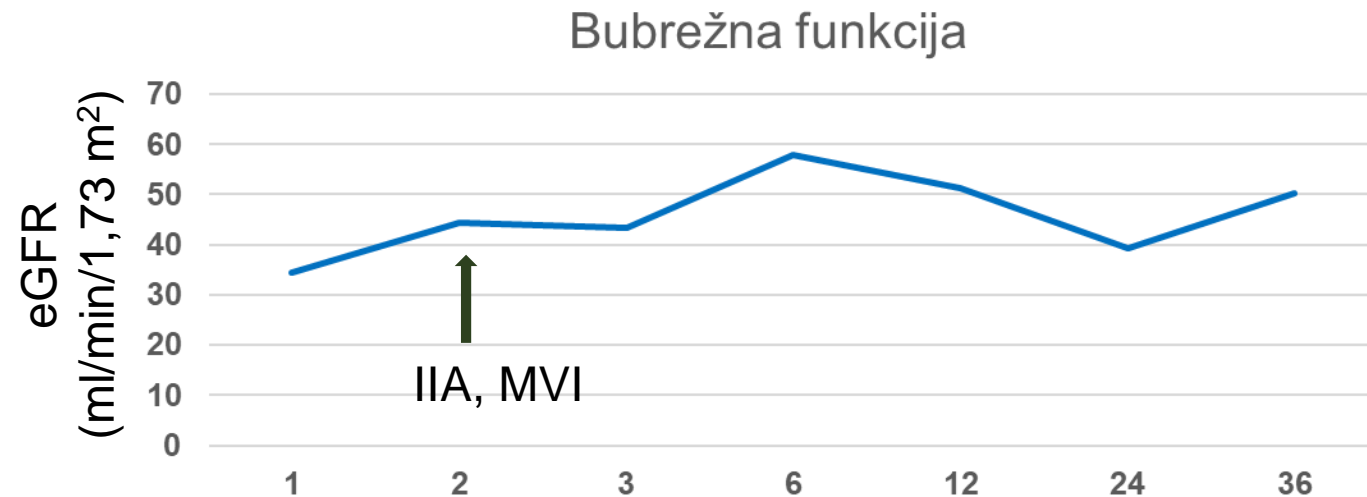
- 29.06.2017

NISU PRISUTNA DSA

PRISUTNA SU ANTITIJELA DRUGIH SPECIFIČNOSTI (non-DSA)
koja su bila prisutna i prije transplantacije, najviši MFI 2100
CDC PRA 2%

P.R.- POSTTX PRAĆENJE

- 7 biopsija bubrega (zadnja u 6. 2017.)
- Bez znakova odbacivanja
- IFTA 30%; EM: MPGN



Kreatinin na zadnjoj
kontroli 117 $\mu\text{mol/L}$
P/C 0,1

R.M., M, 1974g, KG A,
1 TX 2012. god. – živi donor, majka,
MM ABDR: 111

- 19.11.2015.
- priprema za 2.tx – živi donor, teta,
sestra po majci
- CDC skrining: PRA 0%
- LUMINEX scr:

RAZRED I NEGATIVAN

RAZRED II POZITIVAN MFI 750-2500

DQ 4,5,6,7,8,9,

DP 1,3,5,13,14,18,19

R.M. – nastavak pripreme za 2.tx.

- TIPIZACIJA DQ i DP pacijenta i tete kako bi se odredilo da li su specifičnosti određene Luminex testiranjem DSA (donor-specifična antitijela)

REZULTAT:

DA – antitijela DQ i DP su donor-specifična

DQ6 MFI 1500

DQ7 MFI 2000

DP3 MFI 400

R.M. - TRANSPLANTACIJA

- 18.06.2016.

TRENUTNA DSA

DQ6 – MFI 1500

DQ7 – MFI 2000

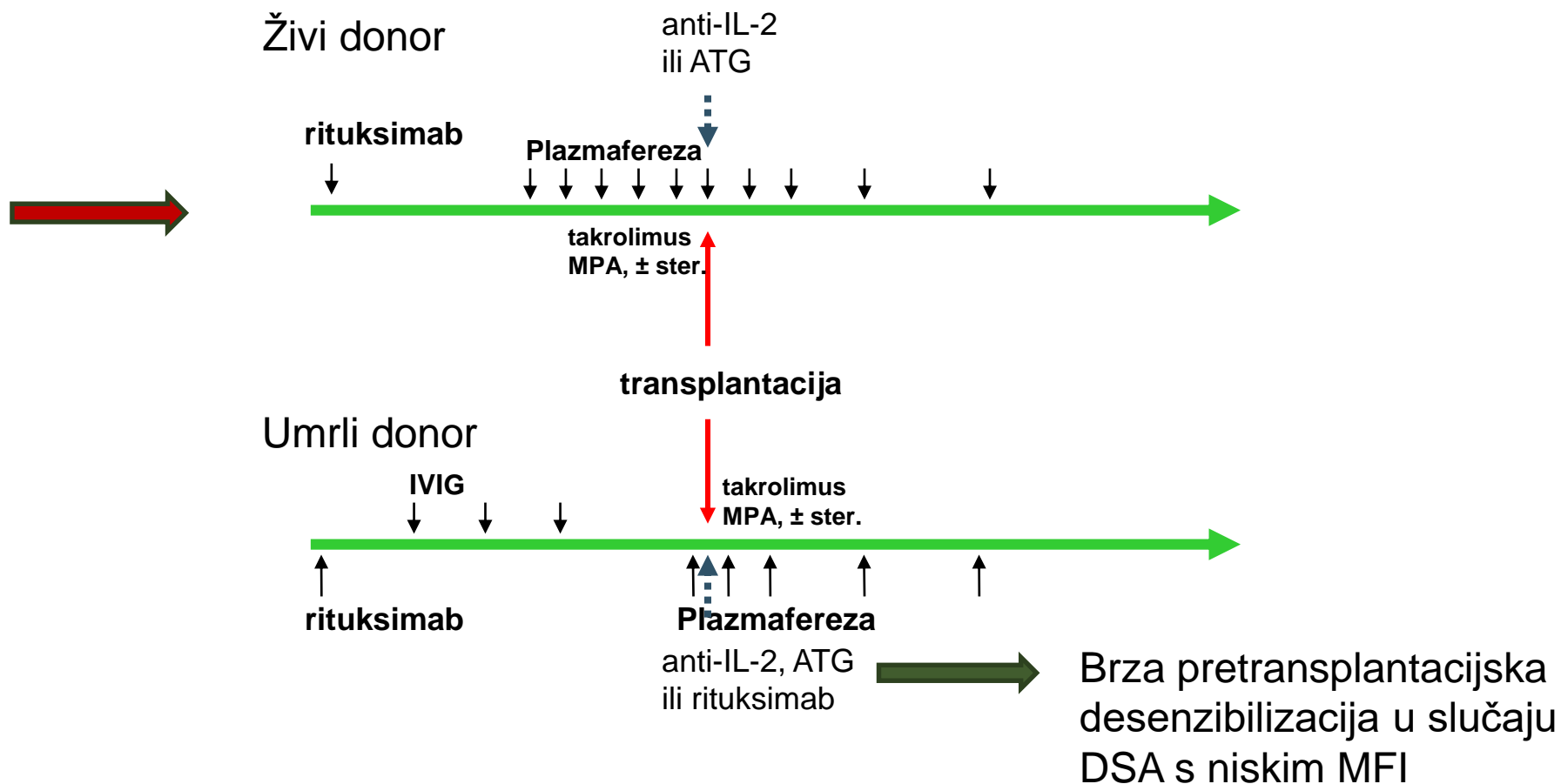
DP3 – MFI 400

- MM ABDR 222 MM ABCDRDQ 22222
- CDC CROSSMATCH - NEGATIVAN

R.M.- TRANSPLANTACIJA

- Desenzibilizacija za transplantaciju sa živog donora
- Transplantacija 18. 6. 2016.
- Indukacija imunosupresije: basiliksimab, kortikosteroidi
- Plazmafereze
- Održavanje imunosupresije: takrolimus, mikofenolat, steroidi

Protokoli za DSA+ transplantaciju (Mercur)



R.M. – POSTTRANSPLANTACIJSKO PRAĆENJE

- Spora funkcija bubrega
- Biopsija 8 dana nakon tx: i3, t3, v0, g0, ptc0, C4d0-TCMR IB
- Liječenje: metilprednizolon- izostanak odgovora antitimocitni imunoglobulin

Bx 11 dana post tx, 30 dana posttx, 60 dana posttx: i2, t2, ptc0-1, g0, cg0

Bx 90 dana post tx: i1, t1, ptc0, g0, cg0- sumnja na BKVAN; decoy st. neg.; BKV DNA u krvi i urinu neg.

R.M. – POSTTRANSPLANTACIJSKO PRAĆENJE

- 12. 2017.- indikacijska biopsija: i2, t3, g1, ptc2, v0, cg0- akutno odbacivanje posredovano protutijelima + akutno odbacivanje posredovano stanicama IB
 - Liječenje: bolusi metilprednizolona, plazmafereze, bortezomib
 - Kontrolna biopsija 1. mj. 2018.: i0, t3, ptc0, g0, ct3, ci3, cg0, imunohistokemija na BKV neg.
-

R.M. – POSTTRANSPLANTACIJSKO PRAĆENJE

CDC

LUMINEX

10.10.2016.	NEGATIVAN	NEGATIVAN
-------------	-----------	-----------

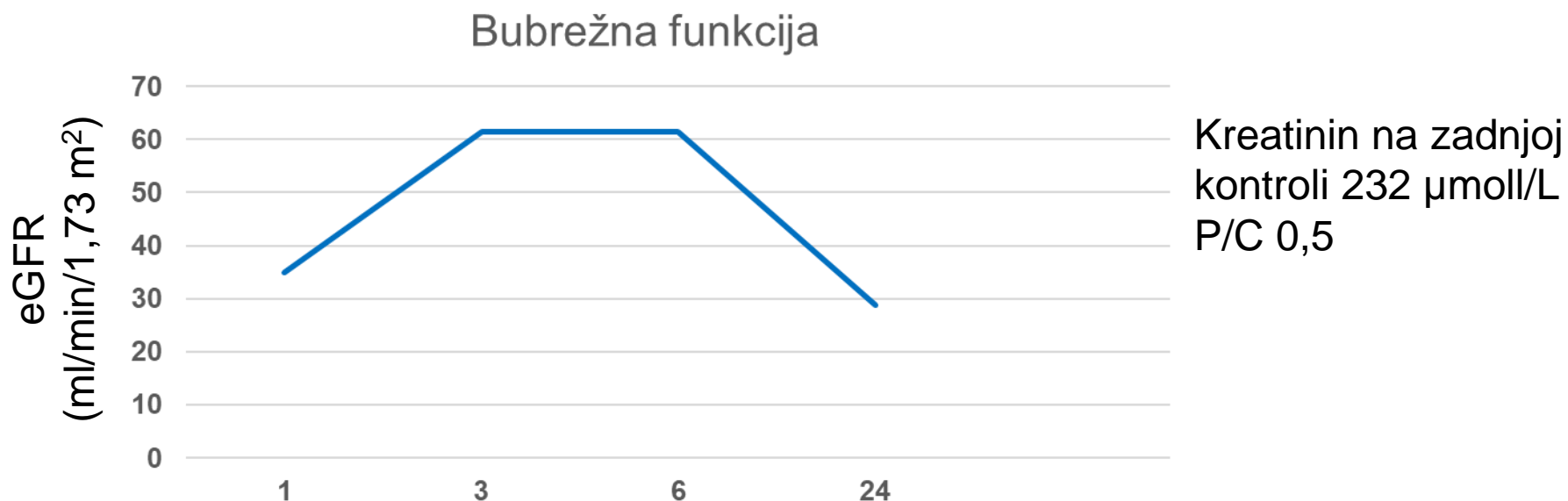
12.12.2017.	NEGATIVAN	POZITIVAN	DQ7	6800
		POZITIVAN	DP3	800
		POZITIVAN	DQ8,9	
		POZITIVAN	DQ4,5,6	

27.03.2018	NEGATIVAN	POZITIVAN	DQ7	2800
23.05.2018		NEGATIVAN	DP 3	
		POZITIVAN	DQ8,9	
		NEGATIVAN	DQ4,5,6,	

20.09.2018.	NEGATIVAN	POZITIVAN	DQ7	4200
		NEGATIVAN	DP 3	
		POZITIVAN	DQ8,9	
		NEGATIVAN	DQ4,5,6	

R.M. – POSTTRANSPLANTACIJSKO PRAĆENJE

- 5. 2018.: nadzorna biopsija: i0, t3, g0, ptc0, cg0; BKV neg.
- 9. 2018.: indikacijska biopsija: i3, t3, ptc2, g0, cg0, BKV poz.



Zaključci

- Tradicionalni imunološki parametar, tkivna podudarnost u 6 antigena, nije dovoljno precizan u predviđanju dugoročnog ishoda transplantacije bubrega, uz suvremeno imunosupresivno liječenje
- CDC PRA je nedovoljno osjetljiv pokazatelj HLA senzibilizacije
- Negativni CDC cross-match je preduvjet ulaska u transplantaciju, ali je nedovoljno osjetljiv pokazatelj odsutnosti imunološkog rizika

- Određivanje HLA protutijela Luminexom i praćenje DSA su neophodan preduvjet transplantacije u svih, a osobito u primatelja s povećanim imunološkim rizikom (predhodne transplantacije, trudnoća, transfuzije)
- Adekvatna primjena imunosupresije je bitna za ishod transplantacije bubrega
- Vjerojatno ne treba dugoročno smanjivati ciljnu koncentraciju takrolimusa na $<4-5$ i mikofenolata na $<2g$ dnevno, ako nema nuspojava