

INDICAZIONI ALL'AFERESI NEL TRAPIANTO DI RENE: AFERESI NEL PAZIENTE IPERIMMUNE

Ghil Busnach, Laura Di Leo

S.C. Nefrologia, A.O. Niguarda Ca' Granda, Milano

Indications for apheresis in kidney transplant recipients: apheresis in the hyperimmune patient

Patients who are sensitized through pregnancy, previous blood transfusions, or organ transplantation produce donor-specific anti-HLA antibodies (DSA) that can result in an important obstacle in kidney transplantation. Sensitized patients wait longer on the cadaver donor transplant list, may not receive a transplant, and may have greater morbidity and mortality. Sensitized patients may have living donor candidates but transplantation cannot be performed because of cross-match positivity.

Kidney transplant recipients with DSA are at higher risk of developing early acute antibody-mediated rejection (AMR) despite negative complement-dependent cytotoxicity (CDC) T-cell cross-match, and thus require desensitization. Desensitization protocols using the combination of apheresis (PE) or immunoadsorption to remove DSA and/or intravenous Ig (Iv-Ig) and rituximab to downregulate antibody-mediated immune responses have made kidney transplantation feasible by abrogating CDC T-cell cross-match positivity.

All sensitized patients should be studied for DSA by sensitive methods and followed over time. The presence of DSA should be documented, and also the strength or titers of the alloantibodies should be determined to decide on the type of desensitization protocol. High-dosage Iv-Ig alone does not prevent AMR in patients with strong DSA, and the addition of peritransplantation PE as unselective plasma exchange, semiselective double filtration, or selective immunoadsorption significantly decreases the incidence of AMR. The effect of addition of monoclonal antibodies such as rituximab to desensitization protocols or of PE to patients with strong anti-HLA-II DSA on allograft outcomes requires further prospective studies.

Conflict of interest: None

Financial support: The authors have received no financial support for the preparation of this article.

KEY WORDS:

Therapeutic apheresis, Anti-HLA antibodies, Donor-specific anti-HLA antibodies (DSA), Immunoadsorption, Desensitization protocols, Antibody-mediated rejection (AMR)

PAROLE CHIAVE:

Aferesi terapeutica, Anticorpi anti-HLA, Anticorpi donatore-specifici, Immunoadsorbimento, Protocolli di desensibilizzazione, Rigetto anticorpo-mediato

Indirizzo degli Autori:

Dr. Ghil Busnach
Piazza Umanitaria 2
20122 Milano
e-mail: omnibus@fiscali.it

IL RICEVENTE IPERIMMUNE

Il successo di un trapianto dipende, tra i molteplici fattori che ne determinano la riuscita a distanza, dalla risposta del ricevente nei confronti degli antigeni HLA del donatore, dalla possibilità di modificare queste risposte, dal tipo e dall'intensità della risposta dipendenti da meccanismi effettori cellulari e anticorpo-mediati e, infine, dalla prevenzione del danno da rigetto.

Per molti pazienti in attesa di un trapianto renale, la

presenza di anticorpi per avvenuta sensibilizzazione ad antigeni HLA restringe in maniera critica l'accesso al *pool* di donatori. Il problema dell'iperimmunizzazione riguarda pazienti in lista d'attesa per un trapianto da donatore cadavere, pazienti con un potenziale donatore vivente, ma incompatibile per anticorpi anti-HLA donatore specifici (DSA) e pazienti con incompatibilità per il sistema ABO (1, 2).

Un terzo dei pazienti in attesa di un trapianto possiede degli anticorpi anti-HLA e circa il 15% di questi

pazienti ha un elevato grado di sensibilizzazione ai potenziali organi disponibili. La presenza di alloanticorpi contro antigeni HLA di classe I (A, B, C) e di classe II (Dr, Dq, Dp) definisce i livelli di immunizzazione: essi hanno un impatto negativo sull'*outcome* del trapianto per aumentata incidenza di rigetti acuti (cellulari e anticorpo-mediati) e cronici.

Gli anticorpi anti-HLA sono il risultato dell'esposizione a pregressi eventi immunizzanti quali precedenti trapianti, trasfusioni o gravidanze. Durante la permanenza in lista d'attesa, si può anche assistere a una persistenza ad alto titolo di anticorpi anti-HLA, senza nuovi stimoli antigenici e con il risultato di una prova di compatibilità (*cross-match*) sempre positiva, ma anche alla possibilità che questi anticorpi non siano più riscontrabili in circolo, pur mantenendosi una memoria specifica B che ne facilita la ricomparsa dopo il *boost* antigenico. Gli anticorpi anti-HLA-I e II possono essere diretti contro epitopi "privati" con una o più singole specificità antigeniche oppure contro epitopi "pubblici" reattivi contro antigeni dello stesso *cluster* di antigeni CREG (*cross reactive groups*), nonché contro più gruppi CREG e con PRA verso antigeni HLA-I e II del 90-100%.

Prendendo in considerazione i due principali *tests* di *screening* per anticorpi anti-HLA, citotossicità complemento-mediata (CDC) e citofluorimetria (CFM), è possibile stabilire una gerarchia di rischio in base alla specificità degli anticorpi anti-HLA e al titolo anti-HLA DSA: il rischio è significativo per tutte le classi di anticorpi in presenza di CFM+ e CDC- o CDC+ fino a 1:32, mentre è decisamente elevato con CDC+ fino a 1:64 – 1:128 per anticorpi anti-HLA contro AgHLA-I e con CDC+ fino a 1:256 e oltre anche per anti-HLA contro AgHLA-II con specificità da Dr1 a Dr10 (3).

Dal momento che l'esaurimento funzionale o il fallimento di un trapianto sono oggi tra le cause più comuni di perdite dell'organo trapiantato, bisognerà attendersi un progressivo incremento della popolazione di pazienti iperimmuni. Già nel 1992, Halloran documentava come tutti i pazienti che avessero sviluppato anticorpi anti-HLA-I *de novo* avevano presentato un rigetto, contro il 41% dei riceventi senza anticorpi (4).

Il progressivo incremento di pazienti immunizzati con elevati livelli di *panel reactive antibody* (PRA) è documentato da due diversi rapporti, in USA e in Italia, da cui risulta come, pur con politiche di trapianto diverse, il problema dei riceventi iperimmuni rappresenta un consistente ostacolo alla distribuzione equa delle risorse disponibili di organi.

Nell'*UNOS Annual Report* del 2006, si osservava che, nel 2003, in USA, il 32% dei pazienti in lista d'attesa per trapianto aveva PRA positivo e il 13.7% di questi un PRA $\geq 80\%$: il trapianto era stato effettuato

nel 6.5% dei pazienti con PRA elevato. Il nostro Centro Nazionale Trapianti riporta, invece, che, nel 2007, in Italia un livello di PRA $\geq 80\%$ era documentato nel 38.6% dei pazienti in lista d'attesa da più di 10 anni, costituendo pertanto, di per sé, un fattore di rischio aggiuntivo da lunga permanenza in lista (5, 6).

RIGETTI ANTICORPO-MEDIATI

Negli ultimi 25-30 anni si è assistito a un significativo incremento della sopravvivenza sia dell'organo che del paziente nel breve termine, ma non vi è stato un incremento parallelo nella sopravvivenza a lungo termine, e la capacità di prevenzione e di trattamento del rigetto è migliorata per rigetti acuti cellulari T-mediati, mentre è, tuttora, meno efficace per rigetti sostenuti da risposte cellulari B, anticorpo-mediate (AMR: *antibody mediated rejection*), il cui bersaglio è costituito principalmente dall'endotelio di arteriole e capillari, da antigeni HLA-I e II, da antigeni dei gruppi sanguigni A e B e da altri antigeni endoteliali (7).

Negli ultimi anni, grazie allo sviluppo di tecniche sempre più sensibili di ricerca di anticorpi e di *markers* di danno anticorpale (come, per esempio, la ricerca della frazione C4d del complemento su preparati istologici), è stato approfondito il ruolo degli alloanticorpi anti-HLA e non-HLA come effettori del danno immune acuto e cronico all'organo trapiantato, responsabili, quindi, del rigetto da anticorpi circolanti preformati.

Il rigetto anticorpo-mediato (AMR) definisce tutti i rigetti causati da anticorpi diretti contro molecole HLA donatore-specifiche, isoagglutinine anti-antigeni ABO o antigeni di cellule endoteliali: è, quindi, più frequente da osservare nei trapianti ABO incompatibili, nei trapianti con *cross-match* positivo e in trapianti di riceventi iperimmunizzati. Un rigetto anticorpo-mediato può essere un processo progressivo e resistente alle terapie e comporta una prognosi severa.

I protocolli di trattamento per AMR prevedono un approccio combinato che include 1) la soppressione della risposta anticorpale T-dipendente, 2) la rimozione dell'anticorpo reattivo contro il donatore, 3) il blocco di un'attività residua alloanticorpale e 4) la deplezione di B-linfociti, di cellule sia "naive" che dotate di memoria (8).

Dopo un trapianto con *cross-match* positivo, si osserva un aumento di anticorpi anti-HLA donatore-specifici (DSA), che rappresenta una barriera al successo di un trapianto. L'aumentata produzione di DSA è da attribuire alla presenza di plasmacellule preesistenti già condizionate (*committed*) e alla conversione di B-linfociti in nuove plasmacellule (8).

PROTOCOLLI DI DESENSIBILIZZAZIONE

La presenza di DSA aumenta l'incidenza di AMR, perciò il monitoraggio dei DSA affiancato da tecniche sensibili di *cross-match* consente di attuare strategie di miglioramento, quali l'individuazione di donatori compatibili, la creazione di circuiti di *organ sharing*, l'identificazione di pazienti iperimmunizzati per trattamenti di desensibilizzazione e l'attuazione di protocolli di desensibilizzazione per rimuovere DSA, spegnere la risposta immune anticorpo-mediata e abolire la positività del *cross-match*. I pazienti con DSA non possono ricevere un trapianto con una terapia immunosoppressiva tradizionale anti-T, ma richiedono anche un approccio con agenti modulanti la risposta immune anticorpo-mediata, mediante protocolli di desensibilizzazione.

Le tecniche di desensibilizzazione prevedono un'immunomodulazione o "down-regolazione" con Iv-Ig, MoAb anti-CD20, anticorpi policlonali antilinfocitari, splenectomia, fotoafèresi o una rimozione mediante plasmafèresi "standard" (PE), plasmafèresi a cascata o doppia filtrazione (PPDF), immunoadsorbimento su colonne di Proteina A, o immunoadsorbimento su colonne con antigeni specifici (anti-A, B) (9).

AFERESI TERAPEUTICA

Plasma exchange (PE) e immunoadsorbimento (IA) sono tecniche di aferesi usate entrambe per rimuovere alloanticorpi in riceventi immunizzati. PE è un trattamento non specifico e rimuove, come è noto, tutte le proteine plasmatiche, rendendo necessaria una reinfusione con albumina e/o plasma fresco o frazioni plasmatiche. PPDF consente di trattare quantità maggiori di plasma, ma la rimozione è di tipo semiselettivo, dipendente dalle dimensioni e dal peso molecolare delle sostanze circolanti.

IA, utilizzando una immunocolonna a elevata affinità per IgG, offre almeno tre vantaggi rispetto a PE: specificità, una maggiore rimozione di anticorpo e la non necessità di una reinfusione esogena (immunoadsorbimento selettivo). La metodica prevede il trattamento di più volumi plasmatici attraverso un'immunocolonna: le immunoglobuline vengono rimosse con il passaggio di plasma su colonne rigenerabili con matrice di affinità contenente proteina A-sefariosio o Ig-sefariosio. Da 3 a 6 procedure di PE o di IA (con quest'ultimo, lavorando con colonne rigenerabili, si possono trattare più volumi plasmatici durante una procedura) sono sufficienti per indurre una riduzione superiore al 90% delle IgG circolanti; tuttavia, il titolo anticorpale anti-HLA è soggetto a *rebound* e ritorna ai livelli preafèresi nel giro di poche settimane dalla fine del ciclo di aferesi (9-11).

In condizioni di elevata sensibilizzazione, il trapianto

renale è stato reso possibile, abolendo la positività del *cross-match*, con diversi protocolli di desensibilizzazione che hanno usato una combinazione di PE (o IA) per rimuovere anticorpi donatore-specifici anti-HLA (DSA) in concomitanza con l'infusione di immunoglobuline (Iv-Ig) e/o rituximab (anti-CD20), per indurre una riduzione delle risposte immuni anticorpo-mediate (12, 13).

Vi è una sinergia tra IA e anticorpi anti-CD20: l'infusione di rituximab non riduce la produzione degli anticorpi, perché non è efficace in maniera diretta sulle plasmacellule, ma induce una deplezione di linfociti B, il cui massimo effetto è osservabile da 3 a 6 settimane, ma si mantiene a lungo nel tempo, mentre le procedure di IA riducono acutamente la quota anticorpale circolante (14).

Una forma particolare di IA è quella che impiega delle colonne antigene-specifiche (immunoadsorbimento specifico), contenenti antigeni purificati per rimuovere DSA: è una tecnica difficile da attuare per la rimozione di anticorpi anti-HLA, ma più agevole, invece, per il trattamento dell'incompatibilità ABO, in cui vengono usate colonne con antigeni gruppo-ematici legati a Sefariosio. Si tratta di colonne biocompatibili a bassa saturabilità che permettono trattamenti ripetibili fino a 150 mL plasma/kg di peso corporeo. Le maggiori esperienze di trattamenti desensibilizzanti sono state riportate dal gruppo dell'Istituto Karolinska di Stoccolma e da quello della Johns Hopkins di Baltimora (15-17).

Nonostante buoni risultati iniziali in termini di sopravvivenza del paziente e dell'organo, le reazioni AMR rappresentano ancora una barriera importante, osservata nel 20-30% dei pazienti che ricevono dei trattamenti desensibilizzanti. Non vi è, inoltre, identità di opinioni su quale protocollo (Iv-Ig ad alte dosi, PE + Iv-Ig a basse dosi) e su quale tipo di terapia di induzione (ATG, anti-IL2R o alemtuzumab) sia più efficace o se l'aggiunta di rituximab rappresenti la strategia più opportuna per prevenire un AMR acuto precoce (18, 19).

In confronto con il trattamento della forma acuta di AMR, in cui si hanno una massiva attivazione del complemento e un danno endoteliale dell'organo trapiantato, quello della forma cronica (CAMR) non è altrettanto ben caratterizzato. Nelle forme di CAMR, l'attivazione del complemento induce danno endoteliale a livelli subclinici. Sebbene questo tipo di danno conduca all'insufficienza cronica del trapianto, la sua lenta progressione è probabilmente più suscettibile all'aumento della terapia immunosoppressiva, senza la necessità di una terapia con rimozione di anticorpi reattivi contro il donatore con aferesi terapeutica (20, 21).

CONCLUSIONI E PROSPETTIVE

In conclusione, il presente delle tecniche di desensibilizzazione consente oggi di offrire un trapianto

a pazienti sensibilizzati mediante l'uso combinato di aferesi, Iv-Ig, anti-CD20 o altri anticorpi monoclonali e induzione con globulina antilinfocitaria. Le esperienze pubblicate indicano che si tratta di procedure affrontabili, che richiedono, tuttavia, protocolli terapeutici complessi e con risultati allo stato attuale definibili come subottimali, per ridotta sopravvivenza dell'organo trapiantato, per un notevole impiego di risorse e per una più elevata incidenza di rigetti (22).

Il futuro delle tecniche di desensibilizzazione potrebbe essere rappresentato da nuove terapie e strategie di intervento, quali l'impiego di nuovi anticorpi monoclonali: eculizumab per l'inibizione dell'attivazione della cascata terminale del complemento (C5-C9) e bortezomib per indurre la deplezione di plasmacellule con l'inibitore del proteosoma.

RIASSUNTO

Pazienti uremici che siano sensibilizzati da trasfusioni, gravidanze o pregressi trapianti possono produrre anticorpi anti-HLA donatore-specifici (DSA), che rappresentano un importante ostacolo a un trapianto renale. I pazienti sensibilizzati rimangono più a lungo in lista d'attesa, possono non trovare mai un donatore compatibile e possono avere una maggiore morbilità e mortalità. Alcuni pazienti sensibilizzati possono avere un candidato donatore vivente disponibile, ma non utilizzabile per la presenza di una prova di compatibilità (cross-match) positiva.

I riceventi di trapianto con DSA sono a più alto rischio di rigetto anticorpo-mediato (AMR), anche in

assenza di una prova di compatibilità negativa in citotossicità complemento-mediata (CDC), e necessitano, pertanto, di una terapia desensibilizzante. Il trapianto renale è, di fatto, stato reso possibile dall'introduzione di protocolli di desensibilizzazione in grado di abolire la positività del cross-match con CDC, con l'impiego di una combinazione di aferesi terapeutica per rimuovere DSA e/o l'aggiunta di Ig ev (Iv-Ig) e rituximab.

In tutti i pazienti iperimmunizzati, i DSA devono essere studiati e monitorati nel tempo, in maniera da proporre il protocollo di desensibilizzazione più adatto. Il trattamento con Iv-Ig ad alte dosi non è in grado di prevenire da solo l'insorgenza di AMR in presenza di elevati titoli di DSA. L'aggiunta di aferesi, sia non selettiva, come il plasma exchange, che semiselettiva, con filtrazione a cascata, che altamente selettiva, come l'immunoassorbimento, è in grado di ridurre significativamente l'incidenza di AMR. Saranno necessari studi prospettici per valutare l'efficacia del trattamento combinato con aferesi e anticorpi monoclonali come il rituximab.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

CONTRIBUTI ECONOMICI AGLI AUTORI

Gli Autori non hanno ricevuto sponsorizzazioni economiche per la preparazione dell'articolo.

BIBLIOGRAFIA

1. Stegall MD, Dean PG, Gloor J. Mechanisms of alloantibody production in sensitized renal allograft recipients. *Am J Transpl* 2009; 9: 998-1005.
2. Grafals M, Chandraker A. New approaches for desensitization strategies prior to kidney transplantation. *Am J Kidney Dis* 2009; 53: 370-2.
3. Nocera A. Protocolli di desensibilizzazione in riceventi immunizzati nel trapianto di rene da donatore vivente. [Desensitization protocols in immunized living donor kidney transplant recipients]. *G Ital Nefrol* 2009; 26: 499-515.
4. Halloran PF, Schlaut J, Solez K, et al. The significance of the anti-class I response. *Il. Transplantation* 1992; 53: 550-5.
5. UNOS Annual Report 2006. <http://oph.transplant.htsa.gov/data/annualreport.asp>
6. CNT. Valutazione di qualità dell'attività del trapianto di rene 2000-2007. <http://www.trapianti.salute.gov.it>
7. Akalin E. Posttransplant immunosuppression in highly sensitized patients. *Contrib Nephrol Basel, Karger*, 2009, 162, 27-34.
8. 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 Transpl* 2009; 9: 567-77.
9. Akalin E, Dinavahi R, Friedlander R, et al. Addition of plasmapheresis decreases the incidence of acute antibody-mediated rejection in sensitized patients with strong donor-specific antibodies. *J Am Soc Nephrol* 2008; 3: 1160-7.
10. Brown CM, Abraham KA, O'Kelly P, et al. Long-term experience of plasmapheresis in antibody-mediated rejection in renal transplantation. *Transplant Proc* 2009; 41: 3690-2.
11. Sivakumaran P, Vo AA, Villicana R, et al. Therapeutic plasma exchange for desensitization prior to transplantation in ABO-incompatible renal allografts. *J Clin Apher* 2009; 24: 155-60.
12. Vo AA, Lukovsky M, Toyoda M, et al. Rituximab and intravenous immune globulin for desensitization during renal transplantation. *N Engl J Med* 2008; 359: 242-51.
13. Lefaucheur 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: 1099-107.

14. Genberg H, Kumlien G, Wennberg L, et al. ABO-incompatible kidney transplantation using antigen-specific immunoadsorption and rituximab: a 3-year follow-up. *Transplantation* 2008; 85: 1745-54.
15. Tyden G. The European experience. *Transplantation* 2007; 84 (12 Suppl.): S2-3.
16. Montgomery RA, Locke JE, King KE, et al. ABO incompatible renal transplantation: a paradigm ready for broad implementation. *Transplantation* 2009; 87: 1246-55.
17. Gloor JM, Cosio FG, Rea DJ, et al. Histologic findings one year after positive crossmatch or ABO blood group incompatible living donor kidney transplantation. *Am J Transplant* 2006; 6: 1841-7.
18. Jordan SC, Peng A, Vo AA. Therapeutic strategies in management of the highly HLA-sensitized and ABO-incompatible transplant recipients. *Contrib Nephrol*, 2009; 162, 13-26.
19. Singh N, Pirsch J, Samaniego M. Antibody-mediated rejection: treatment alternatives and outcomes. *Transplant Rev* 2009; 23: 34-46.
20. Doxiadis IIN, Claas HJ. Transplantation of highly sensitized patients via the acceptable mismatch program or desensitization? We need both. *Curr Opin Transplant* 2009; 14: 410-3.
21. Padmanabhan A, Ratner LE, Jhang JS, et al. Comparative outcome analysis of ABO-incompatible and positive crossmatch renal transplantation: a single-center experience. *Transplantation* 2009; 87: 1889-96.
22. Stegall MD, Gloor JM. Deciphering antibody-mediated rejection: new insight into mechanisms and treatment. *Curr Opin Transplant* 2010; 15: 8-10.