

RUOLO DEGLI ANTICORPI NEL TRAPIANTO DI RENE

Elena Ruffoni^{1, 2}, Michela Seveso¹, Piero Marson³, Tiziana Tison³, Emanuele Cozzi^{1, 2, 4}

¹CORIT (Consorzio per la Ricerca sul Trapianto di Organi), Padova

²U.O.S. di Immunologia Clinica e Sperimentale dei Trapianti, Azienda Ospedaliera-Università di Padova, Padova

³U.O.C. Immunotrasfusionale, Azienda Ospedaliera-Università di Padova, Padova

⁴Direzione Sanitaria, Azienda Ospedaliera-Università di Padova, Padova

Role of antibodies in kidney transplant

Rejection is one of the most frequent causes of graft loss after a kidney transplant. In this context, in the last few years the essential role of antibodies in the anti-graft immune response has become more evident. Antibody-mediated damage has been classified into four histological patterns: hyperacute rejection, caused by the presence of pre-existing donor-specific antibodies directed against HLA or non-HLA antigens; acute antibody-mediated rejection, usually due to antibodies elicited following transplantation; chronic antibody-mediated rejection, which can develop months or years after the first appearance of circulating antibodies; and Cd4 deposition without morphologic evidence of active rejection, previously described as "accommodation."

In recent years, thanks to the development of specific desensitization protocols, it has become possible to transplant patients sensitized to donor HLA antigens. Recently, besides consolidated protocols which include immunoglobulin administration associated or not with plasmapheresis, novel approaches of therapeutic apheresis with specific removal of antibodies and bortezomib, an agent that can efficiently decrease donor-specific antibody levels, have been developed.

As far as the treatment of antibody-mediated rejection is concerned, different immunosuppressive strategies have been used. These include the combination of immunoglobulin administration and plasmapheresis with or without the use of an anti-CD20 monoclonal antibody. More recently, an innovative therapy with eculizumab has proved to be very effective against acute antibody-mediated rejection.

The debate regarding the cause-effect relationship between the development of an early post-transplant humoral immune response in patients with stable graft function and premature graft loss remains open to discussion. Clinical studies are underway to provide an adequate answer to this question.

In conclusion, comprehension of the fundamental role of antibodies and the consolidation of desensitization techniques together with early treatment of antibody-mediated rejection remain important objectives to improve long-term allograft survival.

Conflict of interest: None

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

Ethics Committee approval: The ethics committee of Padua approved the clinical study "Role of donor-specific antibodies in chronic graft rejection" during its session of 16 October 2006.

KEY WORDS:

HLA antibodies, Desensitization, Immunoglobulin, Plasmapheresis, Antibody-mediated rejection, Renal transplantation

PAROLE CHIAVE:

Anticorpi anti-HLA, Desensibilizzazione, Immunoglobuline, Plasmaferesi, Rigetto anticorpo-mediato, Trapianto di rene

Indirizzo degli Autori:

Dr. Emanuele Cozzi
Direzione Sanitaria
U.O.S. di Immunologia Clinica e Sperimentale dei Trapianti
Azienda Ospedaliera-Università di Padova
Via Giustiniani 2
35128 Padova
e-mail: emanuele.cozzi@unipd.it

INTRODUZIONE

Il trapianto d'organo rimane il trattamento risolutivo e, in alcuni casi, l'unico possibile per tutti i pazienti con insufficienza o disfunzioni terminali d'organo. Tuttavia, la sopravvivenza dell'organo trapiantato è significativamente più breve rispetto all'atteso e il rigetto rappresenta una delle principali cause di perdita precoce dell'organo nel trapiantato di rene. In quest'ambito vi è un'evidenza crescente del ruolo dannoso giocato dalla presenza di anticorpi diretti contro l'organo trapiantato presenti prima del trapianto o prodotti come conseguenza del trapianto stesso. In questa relazione, verrà illustrato il ruolo dell'anticorpo nel rigetto del trapianto di rene, sottolineando l'importanza della plasmateresi nelle strategie sviluppate al fine di prevenire o trattare il danno mediato da anticorpi.

EVIDENZE DEL RUOLO DEGLI ANTICORPI NEL TRAPIANTO

Nonostante l'introduzione di farmaci immunosoppressori nuovi e più efficaci, negli ultimi anni la sopravvivenza a lungo termine degli organi trapiantati è migliorata solo marginalmente (1). Questo fenomeno è probabilmente legato al fatto che la maggior parte dei nuovi farmaci immunosoppressori è prevalentemente efficace nell'attenuare la risposta cellulare dei linfociti T.

In realtà, nell'ambito del rigetto del trapianto, oltre ai linfociti T sono coinvolti numerosi altri effettori della risposta immunitaria. Essi comprendono le cellule NK, i neutrofili, i macrofagi e i linfociti B, con le plasmacellule da essi derivate, che daranno origine alla produzione di anticorpi. Infatti, riuscendo efficacemente a controllare la risposta dei linfociti T con farmaci immunosoppressori, come, per esempio, la ciclosporina, ci si è resi conto che la risposta umorale mediata dagli anticorpi e la conseguente attivazione della cascata del complemento possono costituire un ostacolo alla sopravvivenza a lungo termine dell'organo trapiantato.

Il ruolo fondamentale degli anticorpi nella risposta immunitaria diretta contro il trapianto è stato dimostrato sin dai primi studi condotti da Patel utilizzando saggi di citotossicità basati sull'incubazione di linfociti del donatore con il siero del ricevente (2). Questi saggi hanno dimostrato inequivocabilmente che anticorpi preformati diretti contro antigeni del sistema maggiore di istocompatibilità del donatore (anticorpi anti-HLA) erano associati ad un aumento significativo del rischio di rigetto e alla perdita precoce dell'organo trapiantato. Allo stesso modo, l'evidenza che una risposta umorale veicolata da anticorpi anti-HLA possa essere responsabile del rigetto acuto risale ormai a molti anni fa. Halloran e i suoi collaboratori furono i primi a riportare che tutti i pazienti che mostravano la compar-

sa *de novo* di anticorpi anti-HLA di classe I andavano successivamente incontro a episodi di rigetto acuto, rispetto al 41% dei pazienti che non presentavano questo tipo di anticorpi (3). Inoltre, molti degli episodi di rigetto acuto osservati in questo gruppo di pazienti erano classificati come severi e la perdita dell'organo era significativamente più alta rispetto al gruppo che non presentava tali anticorpi. Infine, le biopsie eseguite al momento della comparsa di anticorpi anti-HLA di classe I spesso dimostravano danno endoteliale, infiltrazione di neutrofili nei glomeruli o nei capillari peritubulari (PTC) e deposizione di fibrina nei vasi sanguigni, tutte condizioni riconducibili a un rigetto umorale acuto in corso.

Negli ultimi anni, è stato, inoltre, chiarito che anticorpi presentanti specificità diverse e, cioè, diretti sia contro antigeni HLA che contro antigeni non-HLA presenti sull'organo trapiantato possono essere responsabili di episodi di rigetto anticorpo-mediato osservati durante il periodo post-trapianto (4).

FORME DI RIGETTO MEDIATO DA ANTICORPI

Indipendentemente dalla specificità degli anticorpi coinvolti, dopo il trapianto si osservano diverse tipologie di danno anticorpo-mediato che possono essere ricondotte, nel caso del trapianto di rene, ai seguenti quadri istologici: il rigetto iperacuto, il rigetto acuto anticorpo-mediato, il rigetto cronico anticorpo-mediato e la presenza di deposito di C4d senza evidenze morfologiche di rigetto (5).

Rigetto iperacuto

Il rigetto iperacuto è tipicamente un'occlusione trombotica dei vasi del rene trapiantato e si sviluppa dopo alcuni minuti o poche ore dalla rivascularizzazione. Esso è causato dalla presenza, nel sangue del ricevente, di anticorpi preformati che riconoscono antigeni presenti sull'endotelio del rene trapiantato, provocando l'attivazione del complemento e, conseguentemente, il danno endoteliale. A livello degli endoteli dell'organo hanno luogo un'adesione e un'aggregazione piastriniche che scatenano una trombosi nei capillari glomerulari. Come conseguenza, il rene va incontro a necrosi emorragica corticale e a trombosi vascolare, che portano alla perdita irreversibile dell'organo.

Studi immunologici hanno chiarito che gli anticorpi preformati, già esistenti al momento del trapianto e responsabili di questa forma di rigetto, sono, di solito, diretti contro alloantigeni quali le molecole di istocompatibilità HLA oppure gli antigeni del sistema ABO. Nel caso degli anticorpi anti-HLA, la loro presenza è generalmente secondaria a eventi sensibilizzanti

quali precedenti trapianti, gravidanze e/o trasfusioni che abbiano comportato l'esposizione ad alloantigeni. Per questo motivo, la presenza di anticorpi anti-HLA donatore-specifici (DSA) associata alla lisi, *in vitro*, dei linfociti del donatore dopo l'incubazione con il siero del ricevente (*crossmatch* positivo) rappresenta una controindicazione al trapianto. Mentre gli anticorpi anti-HLA espressi ad alto titolo prima del trapianto sono ormai un fattore di rischio accertato per l'insorgenza del rigetto iperacuto, dati recenti della letteratura indicano che questo rigetto può insorgere anche come conseguenza della presenza di anticorpi rivolti contro molecole non-HLA e non necessariamente espresse sui linfociti del donatore (pertanto non rilevabili con i saggi di citotossicità utilizzati routinariamente), bensì presenti sulle cellule endoteliali dell'organo trapiantato (6).

Rigetto acuto anticorpo-mediato (AMAR)

Il rigetto acuto, che per anni è stato considerato un processo unicamente mediato dai linfociti T, in realtà può essere provocato anche dagli anticorpi sia esistenti a basso titolo prima del trapianto che neoformati dal ricevente in seguito all'intervento (7).

Secondo la classificazione di Banff, le condizioni necessarie per definire il rigetto acuto anticorpo-mediato (AMAR) sono tre (8). La prima è l'evidenza di un insulto tissutale acuto nell'organo, che si può presentare, di solito, come una lesione compatibile con un danno tubulare acuto o come un'infiltrazione di neutrofili o cellule mononucleate nei capillari peritubulari (PTC). La seconda condizione è l'evidenza di un coinvolgimento anticorpale, riscontrabile come deposito di C4d oppure come presenza di anticorpi nell'area necrotica o, più raramente, nei PTC. La terza condizione è la presenza di anticorpi circolanti diretti contro gli antigeni HLA del donatore o contro altri antigeni endoteliali.

L'AMAR si sviluppa tipicamente tra la prima e la terza settimana post-trapianto, ma può presentarsi in qualsiasi altro momento, spesso in coincidenza con un aggiustamento della terapia immunosoppressiva. Questa forma di rigetto è spesso associata a valori di creatinina particolarmente elevati e non mostra una risposta clinica significativa ai trattamenti, quali gli steroidi, che risultano, invece, efficaci nei casi di episodi di rigetto acuto cellulomediato. È stato osservato che, nel 60% dei casi, l'AMAR è associato a un rigetto cellulomediato (9). Fortunatamente, l'AMAR non è molto frequente nella popolazione dei soggetti trapiantati, anche se è più facilmente riscontrabile nel malato già immunizzato, dove gli episodi di AMAR sono spesso ripetuti nel tempo. Nonostante, negli ultimi anni, siano stati sviluppati dei trattamenti specifici ed efficaci, nei

soggetti con AMAR la sopravvivenza dell'organo a lungo termine è significativamente ridotta rispetto a quella osservata in pazienti che non sviluppano tale rigetto (9).

Il rigetto cronico anticorpo-mediato (CAMR)

Mentre l'attenta allocazione degli organi e una terapia immunosoppressiva adeguata hanno permesso di eliminare quasi del tutto l'incidenza del rigetto iperacuto e di ridurre in maniera consistente quella dell'AMAR, per quanto riguarda il rigetto cronico i progressi fatti per prevenire questa importante causa di perdita prematura del rene trapiantato sono ancora pochi. I meccanismi che portano al rigetto cronico rimangono, infatti, ancora incerti, anche se è noto che fattori sia immunologici che non immunologici ne siano responsabili.

Per affermare che un organo presenta segni di CAMR sono necessarie tre condizioni (10). La prima è l'evidenza di un danno cronico tissutale con ispessimento della membrana basale glomerulare, fibrosi interstiziale con atrofia tubulare, l'ispessimento dell'intima delle arterie o della membrana basale nei capillari peritubulari. La seconda è l'evidenza istologica dell'azione degli anticorpi data dal deposito di C4d o, più raramente, da quello delle stesse immunoglobuline nei PTC. La terza condizione è la presenza di anticorpi circolanti diretti contro molecole anti-HLA oppure contro altre molecole endoteliali specifiche del donatore come MICA e MICB.

Recenti pubblicazioni hanno dimostrato che la presenza di anticorpi anti-HLA allospecifici in soggetti con funzionalità renale normale può essere associata a un danno tissutale e funzionale e a una perdita prematura dell'organo trapiantato (11). Terasaki e i suoi collaboratori hanno avvalorato questa tesi con più studi, uno dei quali coinvolgeva 2231 pazienti trapiantati con buona funzionalità renale, che sono stati monitorati durante il *follow-up* successivo al trapianto. In questo studio, il 20% dei pazienti risultava positivo per la presenza di anticorpi anti-HLA, nonostante la buona funzionalità renale (12). Lo studio ha anche dimostrato che, in molti casi, la presenza di anticorpi anti-HLA precedeva la perdita dell'organo avvenuta durante i due anni successivi di *follow-up*. In un aggiornamento di questo studio veniva mostrato che l'81% dei pazienti che non avevano sviluppato anticorpi manteneva intatta la funzionalità del trapianto per i 4 anni successivi. Al contrario, solo il 58% dei pazienti che avevano sviluppato anticorpi anti-HLA aveva una buona funzionalità renale dopo 4 anni di *follow-up* (13). Numerosi altri studi concordano nell'osservare che la presenza di anticorpi anti-HLA non è necessaria-

mente associata a una perdita di funzionalità (almeno per la durata del *follow-up* considerato). Gli anticorpi, in questo caso, potrebbero contribuire a un lento e progressivo deterioramento intimale della parete dei vasi che, solo in una fase successiva, sfocerà in un'insufficienza d'organo conclamata. Questa ipotesi spiega l'osservazione che lo sviluppo *de novo* di anticorpi anti-HLA è generalmente evidenziato mesi o anni prima dell'inizio della manifestazione clinica di deterioramento della funzionalità renale.

Deposito di C4d senza evidenze morfologiche di rigetto

A oggi, è ancora incerto il significato del deposito a lungo termine di C4d nell'organo trapiantato con funzionalità normale, frequentemente osservato nei trapianti ABO-incompatibili (10). È necessario, però, sottolineare che, in molti casi, la presenza di anticorpi circolanti non è associata a un deterioramento della funzionalità renale, almeno a breve termine. In ogni caso, anche se l'esito a lungo termine potrebbe non essere favorevole, questa specifica condizione precedentemente definita come *accommodation* è stata recentemente classificata come "*Deposito di C4d senza evidenze morfologiche di rigetto*" (14).

Gli studi *in vitro* suggeriscono che il ruolo degli anticorpi anti-HLA presenti in circolo durante il periodo post-trapianto varia in base alla loro concentrazione. In particolare, mentre a elevate concentrazioni gli anticorpi si legano all'organo e ne promuovono il deterioramento della funzione, a basse concentrazioni possono promuovere cambiamenti nell'organo trapiantato che lo rendono meno suscettibile ai danni immunologici causati dall'attivazione del complemento e dall'azione da parte dei DSA. In queste condizioni, gli anticorpi non sembrano essere dannosi ma, al contrario, inducono l'espressione da parte delle cellule endoteliali di geni protettivi come emeossigenasi-1 (HO-1), A20 e Bcl-xL, che rendono le cellule più resistenti all'aggressione immunologica (15). A questo punto, al fine di identificare specifiche strategie in grado di provocare questa condizione anche nei pazienti trapiantati, appare di fondamentale importanza comprendere i meccanismi molecolari e immunologici che inducono un'aumentata espressione di queste molecole protettive nell'organo trapiantato.

In conclusione, gli anticorpi anti-HLA circolanti vanno considerati marcatori di rigetto anticorpo-mediato solo nel caso in cui essi siano individuati contemporaneamente all'evidenza di deposito di C4d e di cambiamenti patologici compatibili con un danno tissutale acuto o cronico nell'organo trapiantato.

PRODUZIONE DE NOVO DI ANTICORPI ANTI-HLA E SOPRAVVIVENZA DELL'ORGANO

È stato più volte dimostrato che soggetti che presentano anticorpi anti-HLA al momento del trapianto (pazienti cosiddetti PRA positivi, cioè con anticorpi diretti contro un pannello di antigeni HLA rappresentativo della popolazione) hanno una sopravvivenza a lungo termine dell'organo trapiantato significativamente ridotta rispetto ai soggetti che non presentano tali anticorpi (pazienti PRA negativi). Dati recenti pubblicati da Lachmann hanno sorprendentemente dimostrato che, rispetto a coloro che rimangono PRA negativi, anche soggetti PRA negativi che sieroconvertono dopo il trapianto sono destinati ad avere una sopravvivenza peggiore, paragonabile a quella osservata nei soggetti PRA positivi già prima del trapianto (16).

A questo proposito, gli anticorpi anti-HLA neoformati possono essere sia donatori-specifici (DSA) che non donatori-specifici (NDSA) e possono essere riscontrati subito dopo il trapianto o a distanza di mesi o anni. Piazza e i suoi collaboratori hanno osservato una diminuzione della sopravvivenza dell'organo sia in pazienti con anticorpi anti-HLA DSA che NDSA. Tuttavia, la sopravvivenza dell'organo a distanza di tempo era peggiore nei soggetti con DSA rispetto ai soggetti con NDSA (17). In ogni caso, è importante sottolineare che l'intervallo tra la comparsa di anticorpi e la perdita di funzionalità dell'organo varia da paziente a paziente e può arrivare, in alcuni casi, anche a molti anni, a prescindere dal protocollo immunosoppressivo utilizzato (18).

Mentre la correlazione tra la comparsa *de novo* di anticorpi anti-HLA e la perdita precoce dell'organo trapiantato è convincente, a oggi manca ancora l'evidenza che gli anticorpi neoformati abbiano di fatto un effetto patogenetico nella perdita prematura del rene trapiantato (19). Al fine di verificare l'eventuale nesso di causalità tra lo sviluppo di una risposta anticorpale post-trapianto e il rigetto precoce dell'organo, il nostro gruppo ha recentemente avviato uno studio clinico prospettico multicentrico. Questo studio, infatti, si propone di chiarire, in soggetti con funzionalità renale normale, il ruolo degli anticorpi anti-HLA prodotti *de novo* nel deterioramento a lungo termine (insorgenza del CAMR). A oggi, sono stati inseriti nello studio più di 150 malati non sensibilizzati nei confronti degli antigeni HLA al momento del trapianto (PRA negativi) e sottoposti al loro primo trapianto di rene.

Il monitoraggio della comparsa *de novo* di anticorpi anti-HLA nel *follow-up* post-trapianto è stato eseguito mediante metodiche ad alta sensibilità con cadenza trimestrale. In totale, 14 dei 46 pazienti arruolati a Padova sino a oggi (circa il 30%) hanno sviluppato anticorpi anti-HLA durante il *follow-up* a distanza di 1-30 mesi dal trapianto (10 pazienti entro il primo anno

post-trapianto, 3 durante il secondo anno e solo 1 al trentesimo mese). Il 28.6% dei pazienti ha sviluppato anticorpi diretti solo contro antigeni HLA di classe I, il 50% contro antigeni di classe II e il 21.4% contro entrambi. Per quanto riguarda le specificità anticorpali, nessuno dei pazienti che hanno sviluppato anticorpi mostrava la sola presenza di DSA, mentre il 50% di essi presentava solo NDSA e il 50% sia DSA che NDSA. Questi risultati preliminari indicano che una percentuale elevata di pazienti con funzionalità renale stabile dopo il trapianto sviluppava precocemente una risposta anticorpale *de novo* diretta contro antigeni HLA di tipo DSA e/o NDSA. Tuttavia, deve ancora essere chiarito se vi sia l'esistenza di un rapporto di causa-effetto tra comparsa *de novo* di anticorpi anti-HLA in soggetti con trapianto di rene normofunzionante e perdita precoce dell'organo trapiantato.

APPROCCIO AL MALATO CON ANTICORPI ANTI-HLA

Trattamenti di desensibilizzazione per permettere l'accesso al trapianto dei malati iperimmunizzati

Fino a oggi vi sono state poche possibilità di trapianto per i pazienti iperimmunizzati nei confronti degli antigeni HLA, con PRA superiore all'80%. Infatti, per questi pazienti, l'accesso a un trapianto era reso difficile per il rischio elevato di rigetto iperacuto. Solo recentemente è diventato possibile trapiantare questi malati grazie allo sviluppo e all'applicazione di protocolli di desensibilizzazione volti a superare la barriera anticorpale al momento del trapianto. A questo proposito, i protocolli correntemente utilizzati prevedono l'impiego prima (ed eventualmente dopo) del trapianto di immunoglobuline associate o meno a sedute di plasmateresi.

In un recente lavoro, Vo et al. hanno dimostrato che l'infusione endovenosa di immunoglobuline ad alte dosi (IVIg) associata alla somministrazione di un anticorpo anti-CD20 (rituximab) può ridurre i livelli di anticorpi anti-HLA circolanti e/o aumentare così la probabilità di trapianto (20). È degno di nota, infatti, che il trattamento effettuato in questo studio portava a una significativa riduzione degli anticorpi anti-HLA preesistenti, permettendo all'80% dei pazienti di ricevere un organo che risultava essere ancora perfettamente funzionante a 12 mesi dal trapianto in tutti i malati. Questo dato suggerisce che la combinazione di IVIg endovena e rituximab rappresenta una strategia di desensibilizzazione efficace per molti pazienti immunizzati nei confronti degli antigeni HLA e in attesa di un trapianto, sia esso da donatore cadaverico o da vivente.

Analogamente, studi effettuati da Montgomery, utilizzando un protocollo alternativo, hanno permesso anche a malati altamente sensibilizzati di accedere al

trapianto grazie a uno specifico processo di desensibilizzazione associato a un costante monitoraggio del livello di anticorpi circolanti. Tale trattamento prevede delle sedute di plasmateresi prima e dopo il trapianto, seguite dalla somministrazione di dosi ridotte di immunoglobuline specifiche contro il virus citomegalico. Recentemente, Montgomery ha dimostrato che, nei pazienti con presenza di anticorpi anti-HLA donatorispecifici che seguivano questo protocollo di desensibilizzazione, la sopravvivenza dell'organo trapiantato era paragonabile a quella di trapianti con ricevente non immunizzato nei confronti degli antigeni HLA del donatore (21). Grazie a questi risultati raggiunti, è possibile, perciò, affermare che un *crossmatch* positivo su siero storico non viene più considerato una barriera insormontabile al trapianto per quei pazienti che hanno eseguito con successo il trattamento di desensibilizzazione.

Tra gli approcci più recentemente proposti per permettere l'accesso al trapianto dei soggetti iperimmunizzati troviamo le tecniche di aferesi terapeutica che prevedono la rimozione specifica dal plasma dei soli anticorpi, compresi quelli anti-HLA. È stato anche introdotto l'uso del bortezomib, un inibitore selettivo dell'attività del proteasoma 26S largamente usato nel trattamento del mieloma multiplo. È noto infatti che, in alcuni casi, il trattamento di desensibilizzazione con il rituximab, le plasmateresi e la somministrazione di IVIg può essere inefficace nel controllo della produzione di anticorpi diretti contro il donatore. In parecchi di questi casi, il bortezomib è stato descritto come un agente capace di abbassare efficacemente il livello di DSA (22). Tuttavia, nonostante le evidenze incoraggianti dei dati preliminari, una valutazione conclusiva sugli aspetti di biosicurezza e sull'efficacia del bortezomib nei protocolli di desensibilizzazione nei malati iperimmunizzati più resistenti è ancora da determinare (23).

Trattamento nel caso di rigetto anticorpo-mediato

Per quanto riguarda, invece, il trattamento del rigetto anticorpo-mediato sono state testate diverse strategie immunosoppressive che comprendono l'impiego di immunoglobuline secondo vari schemi di somministrazione, che si avvicinano molto ai protocolli di desensibilizzazione appena descritti. In questo contesto, Lefaucheur et al. hanno saggiato l'efficacia di un trattamento combinato plasmateresi/IVIg/anti-CD20 *versus* un trattamento con alte dosi di IVIg in due diversi gruppi di pazienti. La sopravvivenza dell'organo a 36 mesi dal trapianto era del 91.7% per i pazienti che avevano ricevuto le plasmateresi combinate alle IVIg e all'anti-CD20, mentre era del 50% nel gruppo trattato con sole IVIg a dosi elevate, dimostrando che la

rimozione delle immunoglobuline e l'impiego dell'anti-CD20 rappresentano un aiuto importante che potenzia l'effetto immunomodulante delle IVIg (24). Lefaucheur ha anche dimostrato che, nei soggetti con buona funzionalità renale, la persistenza di livelli elevati di anticorpi DSA dopo il trattamento era più frequentemente associata a una perdita precoce dell'organo trapiantato rispetto ai malati nei quali vi era stata una completa rimozione di tali anticorpi.

In un recente lavoro di Lonze e Montgomery, viene descritto l'utilizzo di una terapia immunologica innovativa con eculizumab nel trattamento del rigetto anticorpo-mediato. Come descritto precedentemente, in molti casi di AMAR, la strategia più efficace è quella del trattamento con cicli di plasmateresi volti ad abbassare il livello di anticorpi anti-HLA, associati o meno alla somministrazione di IVIg e anti-CD20. Nel caso in cui queste terapie siano inefficaci o non praticabili, la somministrazione di eculizumab, un inibitore della frazione C5 del complemento, ha portato a ottimi risultati, proteggendo l'organo trapiantato dal danno provocato dal rigetto anticorpo-mediato (25). Malgrado ciò, è indispensabile che altri studi vengano condotti al fine di confermare l'efficacia dell'eculizumab nei casi di AMAR resistenti alle terapie convenzionali.

CONCLUSIONI

In conclusione, l'analisi dei dati della letteratura suggerisce che la presenza di anticorpi nei confronti dell'organo trapiantato è solitamente correlata a un incremento del rischio di perdita prematura dell'organo trapiantato. Questa risposta anticorpale può essere sia preesistente che successiva al trapianto. Nel caso di DSA preesistenti, essi costituiscono una barriera al trapianto che può essere superata solamente mediante tecniche di desensibilizzazione, le quali comprendono molto spesso l'uso di plasmateresi o di immunoadferesi. Analogamente, la produzione *de novo* di DSA anti-HLA dopo il trapianto, responsabile di un AMAR, viene prevalentemente controllata con l'impiego di strategie immunomodulanti che prevedono la rimozione degli anticorpi mediante plasmateresi (24). Al contrario, il ruolo dei NDSA osservati prima o dopo il trapianto rimane incerto.

Alla luce dell'emergente ruolo cruciale giocato dall'anticorpo nel trapianto, gli Autori auspicano un'interazione sempre più stretta tra le diverse discipline coinvolte nella medicina del trapianto e nella gestione dei pazienti trapiantati: chirurghi e nefrologi ma anche immunologi del trapianto, anatomo-patologi ed esperti di aferesi terapeutica. L'attenta valutazione globale del malato e dell'organo trapiantato comprendente aspetti clinici, immunologici e immuno-patologici, in

associazione a interventi mirati e personalizzati, sarà in grado, in un prossimo futuro, di portare a un tangibile miglioramento della sopravvivenza a lungo termine dell'organo trapiantato.

RIASSUNTO

Nel malato trapiantato di rene, il rigetto rappresenta una delle cause principali di perdita precoce dell'organo. In questo contesto, negli ultimi anni, è diventato sempre più evidente il ruolo fondamentale degli anticorpi nella risposta immunitaria diretta contro l'organo trapiantato. Il danno anticorpo-mediato è stato classificato in quattro distinti quadri istologici: rigetto iperacuto, causato dalla presenza di anticorpi donatore-specifici diretti contro antigeni HLA e non-HLA esistenti prima del trapianto, rigetto acuto anticorpo-mediato, solitamente provocato da anticorpi che si sono sviluppati a seguito del trapianto, rigetto cronico anticorpo-mediato, che può anche manifestarsi a distanza di mesi o anni dalla comparsa di anticorpi circolanti e, infine, deposito di C4d senza evidenze morfologiche di rigetto, precedentemente definito come "accommodation".

Negli ultimi anni, grazie allo sviluppo di specifici protocolli cosiddetti di "desensibilizzazione", è diventato possibile trapiantare anche pazienti immunizzati che presentano anticorpi nei confronti di antigeni HLA del donatore. A protocolli consolidati che prevedono l'impiego di immunoglobuline associate o meno a sedute di plasmateresi, si sono recentemente aggiunti nuovi approcci di aferesi terapeutica che prevedono la rimozione specifica dei soli anticorpi e il bortezomib, un agente capace di abbassare efficacemente il livello di anticorpi donatore-specifici.

Per quanto riguarda il trattamento del rigetto anticorpo-mediato, sono state utilizzate diverse strategie immunosoppressive che comprendono l'impiego di immunoglobuline associate a plasmateresi e/o un anticorpo monoclonale anti-CD20. Recentemente, anche una terapia innovativa con eculizumab è risultata essere una strategia molto efficace contro il rigetto acuto anticorpo-mediato.

Rimane ancora aperto il dibattito sull'effettivo nesso causa-effetto tra lo sviluppo di una risposta anticorpale precoce post-trapianto in soggetti con funzionalità renale normale e la perdita prematura dell'organo dopo il trapianto. Studi clinici sono in corso per dare una risposta esauriente a tale quesito.

La comprensione del ruolo determinante degli anticorpi e il consolidamento delle tecniche di desensibilizzazione insieme al trattamento precoce dei rigetti anticorpo-mediati rimangono gli obiettivi principali al fine di garantire un miglioramento nella sopravvivenza a lungo termine dell'organo trapiantato.

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 e per lo svolgimento dello studio.

APPROVAZIONE COMITATO ETICO

Il Comitato Etico di Padova ha espresso parere favorevole sulla sperimentazione clinica "Ruolo degli anticorpi donatore-specifici nell'insorgenza del rigetto cronico" nella seduta del 16 Ottobre 2006.

BIBLIOGRAFIA

1. Meier-Kriesche HU, Schold JD, Srinivas TR, Kaplan B. Lack of improvement in renal allograft survival despite a marked decrease in acute rejection rates over the most recent era. *Am J Transplant* 2004; 4 (3): 378-83.
2. Patel R, Terasaki PI. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. *N Engl J Med* 1969; 280 (14): 735-9.
3. Halloran PF, Schlaut J, Solez K, Srinivasa NS. The significance of the anti-class I response. II. Clinical and pathologic features of renal transplants with anti-class I-like antibody. *Transplantation* 1992; 53 (3): 550-5.
4. Zachary AA, Griffin J, Lucas DP, Hart JM, Leffell MS. Evaluation of HLA antibodies with the PRA-STAT test. An ELISA test using soluble HLA class I molecules. *Transplantation* 1995; 60 (12): 1600-6.
5. Sis B, Mengel M, Haas M, et al. Banff '09 meeting report: antibody mediated graft deterioration and implementation of Banff working groups. *Am J Transplant* 2010; 10 (3): 464-71.
6. Carter V, Shenton BK, Jaques B, et al. Vimentin antibodies: a non-HLA antibody as a potential risk factor in renal transplantation. *Transplant Proc* 2005; 37 (2): 654-7.
7. Bohmig G, Regele H. Diagnosis and treatment of antibody-mediated kidney allograft rejection. *Transpl Int* 2003; 16 (11): 773-87.
8. 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 (6): 708-14.
9. Maiyyedi S, Colvin RB. Humoral rejection in kidney transplantation: new concepts in diagnosis and treatment. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2002; 11 (6): 609-18.
10. Colvin RB. Antibody-mediated renal allograft rejection: diagnosis and pathogenesis. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18 (4): 1046-56.
11. Mizutani K, Terasaki P, Rosen A, et al. Serial ten-year follow-up of HLA and MICA antibody production prior to kidney graft failure. *Am J Transplant* 2005; 5 (9): 2265-72.
12. Terasaki PI, Ozawa M. Predictive value of HLA antibodies and serum creatinine in chronic rejection: results of a 2-year prospective trial. *Transplantation* 2005; 80 (9): 1194-7.
13. Terasaki PI, Ozawa M, Castro R. Four-year follow-up of a prospective trial of HLA and MICA antibodies on kidney graft survival. *Am J Transplant* 2007; 7 (2): 408-15.
14. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant* 2008; 8 (4): 753-60.
15. Koch CA, Khalpey ZI, Platt JL. Accommodation: preventing injury in transplantation and disease. *J Immunol* 2004; 172 (9): 5143-8.
16. Lachmann N, Terasaki P, Schönemann C. Donor-specific HLA antibodies in chronic renal allograft rejection: a prospective trial with a four-year follow-up. *Clin Transpl* 2006; 171-99.
17. Piazza A, Poggi E, Ozzella G, et al. Post-transplant donor-specific antibody production and graft outcome in kidney transplantation: results of sixteen-year monitoring by flow cytometry. *Clin Transpl* 2006; 323-36.
18. Terasaki PI, Ozawa M. Predicting kidney graft failure by HLA antibodies: a prospective trial. *Am J Transplant* 2004; 4 (3): 438-43.
19. Seveso M, Bosio E, Ancona E, Cozzi E. De novo anti-HLA antibody responses after renal transplantation: detection and clinical impact. *Contrib Nephrol* 2009; 162: 87-98.
20. Vo AA, Lukovsky M, Toyoda M, et al. Rituximab and intravenous immune globulin for desensitization during renal transplantation. *N Engl J Med* 2008; 359 (3): 242-51.
21. Montgomery RA, Zachary AA. Transplanting patients with a positive donor-specific crossmatch: a single center's perspective. *Pediatr Transplant* 2004; 8 (6): 535-42.
22. Lemy A, Toungouz M, Abramowicz D. Bortezomib: a new player in pre- and post-transplant desensitization? *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25 (11): 3480-9.
23. Everly MJ, Everly JJ, Susskind B, et al. Bortezomib provides effective therapy for antibody- and cell-mediated acute rejection. *Transplantation* 2008; 86 (12): 1754-61.
24. 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 (5): 1099-107.
25. Lonze BE, Dagher NN, Simpkins CE, et al. Eculizumab, bortezomib and kidney paired donation facilitate transplantation of a highly sensitized patient without vascular access. *Am J Transplant* 2010; 10 (9): 2154-60.