

ROLUL ANTICORPILOR DONOR SPECIFICI ÎN TRANSPLANTUL HEPATIC: LECȚII ÎNVĂȚATE ȘI NOI PERSPECTIVE

Diana BUGA¹ – doctorand

¹Departamentul Medicină Internă, Disciplina gastroenterologie,
IP USMF "Nicolae Testemițanu"

tel.: 079615610, dianagudima3@gmail.com

Rezumat. Mai mult de zece ani după descrierea inițială a teoriei umorale a transplantului de către Dr. Paul I. Terasaki, rolul imunității umorale în transplantul hepatic nu a fost încă definită în mod clar. La etapa actuală sunt în derulare mai multe studii care evaluează cauzele rejecției acute și cronice mediate imun, patogenitatea anticorpilor donor specifici preexistenți și influența acestora asupra rezultatelor transplantului hepatic. Prezența unui nivel ridicat de anticorpi donor specifici Clasa II preexistenți sau *de novo* a fost asociată cu respingerea și supraviețuirea joasă atât a grefei cât și a recipientului. Studiile recente evidențiază că incompatibilitatea dintre antigenele leucocitare umane se asociază cu rezultatele nefaste a evoluției recipientilor ce au primit ficat de la donator viu. Scopul acestei lucrări a fost de a scoate în evidență efectele clinico-patologice ale anticorpilor donor specifici asupra rezultatelor transplantului hepatic.

Cuvinte-cheie: anticorpi donor specifici, imunitate umorală, transplant hepatic.

Summary. The role of donor specific antibodies in liver transplantation: Lessons learned and new perspectives.

More than ten years after the initial description of the humoral theory of transplantation by Dr. Paul I. Terasaki, the role of humoral immunity in liver transplantation has not yet been clearly defined. Several studies are currently underway to evaluate the causes of acute and chronic immune-mediated rejection, the pathogenicity of pre-existing donor-specific antibodies and their influence on liver transplantation results. The presence of a high level of preexisting or *de novo* class II DSA has been associated with rejection and low survival of both the graft and the recipient. Recent studies show that the incompatibility between human leukocyte antigen (HLA) is associated with bad results in the evolution of recipients receiving liver from the living donor. The purpose of this article was to highlight the clinical-pathological effects of donor specific antibodies on the results of liver transplantation.

Key-words: donor specific antibodies, humoral immunity, liver transplantation.

Резюме. Роль антилейкоцитарных донор-специфических антител при трансплантации печени: изученные уроки и новые перспективы.

Спустя более десяти лет после первоначального описания доктором Полом И. Терасаки гуморальной теории трансплантации, роль гуморального иммунитета в трансплантации печени еще не была четко определена. В настоящее время проводится несколько исследований для оценки причин острого и хронического иммуноопосредованного отторжения, патогенности уже существующих специфических донорских антител и их влияния на результаты трансплантации печени. Наличие высокого уровня предсуществующих и *de novo* антидонорских антител класса II было связано с низким отторжением и выживаемостью как трансплантата, так и реципиента. Недавние исследования подчеркивают несовместимость человеческих антигенов лейкоцитов с неблагоприятными результатами эволюции реципиентов, которые получали печень от живого донора. Целью данной работы было осветить клинко-патологическое влияние специфических донорских антител на результаты трансплантации печени.

Ключевые слова: специфические донорские антитела, гуморальный иммунитет, трансплантация печени.

Introducere.

Un număr tot mai mare de dovezi au fost publicate în ultimii ani care sprijină teoria lui Paul I. Terasaki privind rolul imunității umorale în transplantul de organe [1]. În transplantul renal, prezența anticorpilor donor specifici (ADS) a fost asociat cu rejecția acută și cronic precum și cu insuficiența funcției grefei [2, 3]. Anticorpii donor specifici (ADS) cauzează vasculite cu respingerea ulterioară a grefei cardiace [4]. În transplantul pulmonar formarea ADS *de novo* a dus la dezvoltarea bronșiolitei obliterante și la supraviețuirea joasă a pacienților [5]. De asemenea prezența ADS a fost identificată ca un predictor esențial al dis-

funcției de greafă la pacienții cu transplant pancreatic [6]. Rolul imunității umorale în transplantul hepatic deocamdată rămâne neclar. O dată cu debutul transplantului hepatic, ficatul a fost considerat un organ imunologic privilegiat cu o rezistență relativă de rejecție [7]. Capacitatea de producere a toleranței imunologice a grefei hepatice nu se limitează doar la alo-imunitatea celulară, dar la fel se extinde asupra inflamației mediate de anticorpi. Proprietățile tolerogene a ficatului se exercită prin multiple mecanisme care acționează în unison pentru a evita respingerea imunologică a organului.[8]. Ficatul are o abilitate extraordinară de a absorbi sau neutraliza aloanticorpii îndreptați împo-

triva antigenilor HLA [10]. Aceste mecanisme, totuși, nu conferă protecție completă împotriva anticorpilor HLA alospecifici. La recipienții care dezvoltă ADS *de novo* se evidențiază o supraviețuirea joasă, în special atunci când ADS față de antigenii HLA clasa II [12-14] și subclasa IgG3 [15] sunt depistați în titruri mari. Alte studii au asociat prezența ADS cu respingere acută tardivă [16] și respingerea cronică ductopenică [17]. Un rezumat al studiilor care investighează efectele DSA *de novo* asupra rezultatelor transplantului hepatic (TH) este prezentat în tabelul 1.

Multe întrebări rămân totuși neexplicate în ceea ce privește efectele anticorpilor asupra alogrefelor hepatice. Anticorpii donor specifici sunt o cauză, sau o consecință a leziunilor hepatice? Care sunt caracteristicile histopatologice ale rejetului mediate de anticorpi (RMA) asupra grefei hepatice? Oare sunt toți anticorpii HLA patogeni și cum putem anticipa rejetul de greafă? În acest articol am studiat datele disponibile referitoare la rolul ADS în TH și am trasat

concluzii referitoare la susceptibilitatea mai joasă a grefei hepatice la leziunile mediate de ADS.

Efectele cunoscute ale ADS asupra alogrefei hepatice

Rejet acut mediat de anticorpi. Demetris și colab. au descris două fenotipuri histopatologice distincte care au fost asociate cu rejetul mediat de anticorpi (RMA) a grefei hepatice: rejetul acut și cronic mediat imun [20]. Rejet acut mediat de anticorpi este relativ rar, apărând în mai puțin de 1% din toate cazurile de TH și se limitează în perioada de primele săptămâni după transplant la pacienții cu o sensibilitate ridicată [9]. Procesul de ischemie-reperfuzie (IR) în perioada imediat post-transplant activează imunitatea înăscută, cât și alte mecanisme neimune, generând un mediu inflamator care predispune la respingerea alogrefei. Caracteristicile clinice ale rejetului acut mediat de anticorpi se aseamănă cu cele observate la pacienții transplantați cu incompatibilitate după ABO și includ

Tabelul 1.

Studii care investighează efectele ADS *de novo* asupra rezultatelor transplantului

Referința	Designul studiului	Numărul lotului de studiu	Prevalența DSA <i>de novo</i>	Rezultatele studiului
Kaneku și alții. (2013) [13]	Retrospectiv	749 adulți	8,1 % la 1 an de la TH	1) Prezența ADS asociată cu supraviețuirea inferioară a pacientului și a grefei 2) Majoritatea ADS <i>de novo</i> depistați au fost împotriva antigenelor HLA clasa II (DQ) 3) Riscul crescut a formării ADS <i>de novo</i> se datorează nivelurilor joase de inhibitori ai calcineurinei și utilizarea ciclosporinei
Grabhorn și alții (2015) [17]	Retrospectiv	43 copii	33% recipienți 68% rejet cronic	1) Un nivel înalt de ADS <i>de novo</i> printre recipienții de TH cu rejet cronic 2) Anticorpi împotriva antigenelor HLA clasa II
Levitsky și colab. (2016) [19]	Retrospectiv	195 adulți (129-donatori vii (DV) 66-donatorii moarte cerebrală(DMC))	5,4% - DV 6,1% - DMC	1) Nici o diferență în prevalența ADS <i>de novo</i> între loturile de studiu 2) Prezența ADS a fost factor independent de risc pentru disfuncția de greafă în loturile de studiu

disfuncția de alogrefă, persistența ADS, trombocitopenia refractară și hipocomplementemia. Histopatologic, RMA este caracterizat prin edem periportal, hipertrofie celulelor endoteliale și infiltrarea eozinofilică în zona triadei portale, balonizarea hepatocitelor, reacția ductală și coleastă [20].

Rejet mediat de imunitatea celulară și umorală. Spre deosebire de RMA, rejetul cronic cuprinde adesea caracteristici atât ale reactivității imune celulare cât și umorale. În cazurile moderate până la severe ale rejetului mediate de celulele T (RMCT), este posibil ca celulele T helper pot activa imunitatea umorală și stimula producerea de anticorpi aloreactivi. La rândul său ADS potențează în continuare răspunsul imun celular, crescând astfel severitatea respingerii de greafă. În comparație cu RMA care apare adesea la pacienții sensibilizați, respingerea grefei de tip mixt RMA/RMCT este mult mai frecventă în practica cotidiană.

Într-un studiu, 65 de recipienți care au prezentat date clinice de disfuncție acută de greafă au fost examinați serologic și histopatologic la momentul internării în staționar. Dintre cei 65 de recipienți la 48 a fost confirmat prin biopsie rejetul acut, și la 25 de recipienți (52%) au fost determinați ADS clasa I și/sau clasa II. Mai mult ca atât în majoritatea cazurilor nivelul seric al ADS a scăzut rapid în urma rezolvării episodului acut de respingere a grefei. În cazul pacienților cu rejet cronic nivelul seric ADS a rămas neschimbat. Constatări similare au fost raportate și de *Musat și colab.* care au revizuit rezultatele biopsiilor și datele serologice ale 43 recipienți ce au prezentat date de rejet de greafă. Autorii au raportat că depozitele de CD4 împreună cu ADS pozitivi în ser sunt factori predictor ai episoadelor de rejet a grefei cât și probabilitate rejetului rezistent la steroizi și a ductopeniei. Luate împreună, aceste observații sugerează că alo-reactivitatea umorală este strâns legată de mecanismele celulare în timpul rejetului acut de greafă. Aloanticorpii pot fi o consecință directă a imunității mediate celular cu intensificarea gradului de leziune tisulară.

Imunitatea umorală și rejetul cronic a grefei hepatice. O întrebare mai interesantă se referă la faptul dacă ADS generează inflamație insidioasă, fibroză și rejetul cronic a alogrefei hepatice. Abordarea acestei întrebări necesită colectarea prospectivă a biopsiilor și probelor serice pentru a documenta asocierea dintre DSA circulant și progresia histopatologică de la inflamație la fibroză. Până de curând, aceste date nu au fost disponibile deoarece biopsiile și testarea anticorpilor nu erau efectuate în mod obișnuit pentru beneficiarii de transplant și majoritatea studiilor din această zonă au fost retrospective. Într-un studiu pro-

spectiv de 89 de pacienți pediatrici, *Varma și colab.*, au efectuat biopsii și au analizat țesutul hepatic pentru a aprecia evoluția inflamației și a fibrozei. Autorii au descoperit o asociere între ADS de clasa II și inflamația portală, care în timp predispune la progresia fibrozei în zonele portale. Teoriile cu implicarea anticorpilor în transplantul hepatic sunt destul de complicate deoarece nu toți recipienții cu ADS vor dezvolta tablou clinico-morfologic a leziunii de greafă. ADS preformați se întâlnesc la cca 13-17% dintre recipienți [19], iar cca 8% vor dezvolta ADS *de novo* în primul an după transplant [13, 15]. Cu toate acestea, rejetul cronic a grefei este rar întâlnit, afectând doar 3-4% din pacienții adulți menținuți pe imunoterapie bazată pe tacrolimus [13].

Perspective asupra rezistenței alogrefelor hepatice la leziuni mediate de anticorpi

Incidența ADS după transplantul hepatic (TH). Una dintre explicațiile potențiale pentru frecvența relativă a respingerii de greafă mediată imun în TH este incidența mai mică a ADS observată în rândul beneficiarilor de TH. Cu toate că cca 25% dintre recipienții de TH pot fi sensibilizați în timpul intervenției de transplant, la marea majoritate ADS preformați dispar la patru luni de la TH [11]. Incidența ADS *de novo* este de aproximativ 5-14% post TH [13, 15, 18, 19], în timp ce formarea ADS *de novo* a fost raportată la 28% dintre pacienți după transplantul renal [35]. Cauza incidenței mai mici a ADS *de novo* în TH nu este complet elucidată, dar îi pot fi atribuite aceleași mecanisme care conferă proprietăți tolerogenice ficatului, incluzând capacitatea de a absorbi sau neutraliza aloanticorpii [10], precum și mediul imunomodulator reprezentat de celulele hepatice nonparenchimale, incluzând celulele endoteliale sinusoidale, celulele Kupffer, celulele dendritice rezidente și celulele stelate [8].

Arhitectura celulară unică a ficatului. Ficatul are câteva caracteristici anatomice și imunologice unice, care îi conferă capacitatea de a preveni leziunile mediate de anticorpi. În primul rând ficatul primește o dublă alimentare cu sânge din două căi de circulație distincte, de la circulația sistemică prin artera hepatică și din sistemul mezenteric prin vena portă. La nivel microscopic, hepatocitele sunt aranjate în foi înconjurate de sinusoidale vasculare, care sunt capilare mărite, captușite de un endoteliu fenestrat fără o membrană bazală. Sângele colectat în aceste sinusoidale se scurge în vena centrală, care apoi returnează sângele în circulația sistemică. Leziunile patologice care indică RMA au fost clar definite în transplantul renal și sunt caracterizate prin leziuni ale celulelor endoteliale microvasculare, manifestate prin capilarită peritubulară,

glomerulită și duplicarea membranei bazale [3]. Morfologia distinctă a endoteliului hepatic sinusoidal, cu un diametru luminal mai mare, endoteliu fenestrat și lipsa unei membrane bazale poate conferi rezistență la apariția leziunilor microvasculare. În consecință, majoritatea dovezilor histopatologice ale RMA în ficat au fost observate în vasele mici cu endoteliu continuu, cum ar fi capilarele vaselor portale capilarele arterei hepatice și capilarele plexului peribiliar și nu în sinusoidale hepatice. Capilare plexului peribiliar este considerat a fi derivat din ramificațiile arteriale hepatice și sunt în mod excepțional susceptibile la ischemie și la agresiunile imunologice [1, 2]. Distrugerea plexului peribiliar prin ADS provoacă insuficiență arterială, care, la rândul său, provoacă apariția leziunilor epiteliului biliar și predispune la formarea structurilor ductului biliar [4]. Aceste mecanisme pot explica probabil atrofia ductului biliar și ductopenia care se observă de obicei în rejetul acut sau cronic tardiv de greață [3, 4]. Legătura dintre rejet, lezarea endoteliului celular și lezarea ducturilor biliare au fost descrise de *Matsumoto și colab.*, atât în rejetul acut, cât și cel cronic de greață a fost observată o reducere a structurilor microvasculare portale. Ei au demonstrat în continuare că componentele microvasculare au fost distruse înainte de dispariția conductelor biliare. Luate împreună, arhitectura celulară unică a ficatului joacă probabil un rol important în rezistența sa la inflamația mediată de anticorpi și la fibroză.

Proprietățile imunomodulatoare ale parenchimului hepatic. Circulația portală hepatică este în mod constant expusă produselor microbiene și antigenelor străine venite din intestin. În acest sens ficatul a dobândit o serie de mecanisme moleculare de adaptare la factorii de agresiune. Celulele endoteliale sinusoidale hepatice (CESH), împreună cu celulele Kupffer și celulele dendritice rezidente găsite în sinusoidale hepatice, joacă un rol esențial în menținerea toleranței imunologice. Ficatul are proprietatea de a secreta molecule HLA solubile de clasă I, care pot forma complexe Ag-Ac fiind eliminate ulterior de celule Kupffer în sinusoidale hepatice [4]. În plus, prezentarea antigenului prin CESH duce deseori la eliberarea citokinelor antiinflamatorii și la extinderea preferențială a subseturilor de celule T tolerogenice, creând un micromediu imunomodulator în ficat. Acest model de toleranță poate fi distrus de stimulii patogeni, cum ar fi microorganismele infecțioase și endotoxina, precum și de patternurile moleculare asociate leziunilor endogene. Ca urmare a răspunsului inflamator are loc activarea complexului major de histocompatibilitate (CMH) clasa II pe epiteliul celulelor biliare, endoteliul portal și al arterei hepatice ducând la formarea ADS cu stimularea imună ulterioară. Datorită

pragului ridicat de tolerogenitate în ficat, imunitatea umorală nu produce în mod obișnuit leziuni tisulare fără consecințe evidente. Acest lucru este cel mai bine ilustrat de biopsiile normale fără semne histologice de leziuni tisulare care pot fi obținute de la pacienții cu TH stabili din punct de vedere clinic cu ADS circulanți [11]. Pe baza acestor dovezi, *Kim și colab.*, au propus ipoteza „celor două lovituri”, în care este necesară o leziune care cauzează inflamația alogrefei pentru ca aloanticorpii să suporte disfuncții observabile [4, 8]. Suportul suplimentar pentru „ipoteza celor două lovituri” provine din studii epidemiologice privind rejetul cronic în rândul primitorilor TH [9]. Dintre pacienții cărora li se administrează imunoterapie bazată pe tacrolimus, riscul de respingere cronică este crescut în urma rejetului celular acut de greață, vârstei avansate a donatorilor, infecțiilor virale B și/sau C, colangita biliară primitivă și hepatită autoimună (afecțiuni care au necesitat TH). Fiecare dintre acești factori etiologici introduce o sursă alternativă de leziune a grefei, cum ar fi imunitate mediată de celulele T. Leziunile create duc la dezechilibrul imunitar delicat din ficat cu formarea unui mediu pro-inflamator și pot acționa în unison cu aloanticorpii pentru a promova fibroza și pierderea grefei.

Concluzii

În comparație cu alte transplanturi de organe solide, alogrefa ficatului apare în mod excepțional tolerantă la activitatea imună celulară și umorală. În timp ce proprietățile anatomice și funcționale unice ale ficatului contribuie cel puțin parțial la capacitățile sale tolerogenice. Protecția conferită de aceste atribute nu este complet elucidată. Inflamația mediată de anticorpi a grefei hepatice poate să apară, în special în prezența ADS de clasa II și împreună cu leziunile coexistente care, dacă sunt lăsate netratate, vor ajunge probabil la leziuni tisulare și deteriorări grave. În mod evident, sunt necesare mai multe eforturi de cercetare pentru a stabili legătura dintre căile imunitare umorale și trăsăturile histopatologice ale leziunii mediate de anticorpi în grefele hepatice.

Bibliografie

1. P. I. Terasaki. *Humoral theory of transplantation*. American Journal of Transplantation. 2003, 3(6), p. 665–673.
2. M. Mengel, B. Sis, M. Haas et al. *Banff 2011 meeting report: new concepts in antibody-mediated rejection*. American Journal of Transplantation. 2012, 12(3), p. 563–570.
3. M. Haas, B. Sis, L. C. Racusen et al. *Banff 2013 meeting report: inclusion of c4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions*.

- American Journal of Transplantation. 2014, 14(2), p. 272–283.
4. G. J. Berry, M. M. Burke, C. Andersen et al. *The 2013 international society for heart and lung transplantation working formulation for the standardization of nomenclature in the pathologic diagnosis of antibody-mediated rejection in heart transplantation*. Journal of Heart and Lung Transplantation. 2013, 32(12), p. 1147–1162.
5. M. R. Morrell, J. M. Pilewski, C. J. Gries et al. *De novo donor specific HLA antibodies are associated with early and high grade bronchiolitis obliterans syndrome and death after lung transplantation*. Journal of Heart and Lung Transplantation. 2014, 33(12), p. 1288–1294.
6. S. Mittal, S. L. Page, P. J. Friend, E. J. Sharples, S. V. Fuggle. *De novo donor-specific HLA antibodies: biomarkers of pancreas transplant failure*. American Journal of Transplantation. 2014, 14(7), p. 1664–1671.
7. R. Y. Calne, R. M. Binns, P. R. Millard et al. *Prolonged survival of liver transplants in the pig*. British Medical Journal. 1967, 4(5580), p. 645–648.
8. E. Y. Cheng, P. I. Terasaki. *Tolerogenic mechanisms in liver transplantation*. SOJ Immunology. 2015, 3(4), p. 1–13.
9. H. F. S. Davies, S. G. Pollard, R. Y. Calne. *Soluble-HLA antigens in the circulation of liver graft recipients*. Transplantation. 1989, 47(3), p. 524–527.
10. J. Gugenheim, L. Amorosa, M. Gigou et al. *Specific absorption of lymphocytotoxic alloantibodies by the liver in inbred rats*. Transplantation. 1990, 50(2), p. 309–313.
11. T. Taner, M. J. Gandhi, S. O. Sanderson et al. *Prevalence, course and impact of HLA donor-specific antibodies in liver transplantation in the first year*. American Journal of Transplantation. 2012, 12(6), p. 1504–1510.
12. J. G. O'Leary, A. J. Demetris, L. S. Friedman et al. *The role of donor-specific HLA alloantibodies in liver transplantation*. American Journal of Transplantation. 2014, 14(4), p. 779–787.
13. H. Kaneku, J. G. O'Leary, N. Banuelos et al. *De novo donor specific HLA antibodies decrease patient and graft survival in liver transplant recipients*. American Journal of Transplantation. 2013, 13(6), p. 1541–1548.
14. W. Dar, A. Agarwal, C. Watkins et al. *Donor-directed MHC class I antibody is preferentially cleared from sensitized recipients of combined liver/kidney transplants*. American Journal of Transplantation. 2011, 11(4), p. 841–847.
15. J. G. O'Leary, H. Kaneku, N. Banuelos, L. W. Jennings, G. B. Klintmalm, P. I. Terasaki. *Impact of IgG3 subclass and C1q-fixing donor-specific HLA alloantibodies on rejection and survival in liver transplantation*. American Journal of Transplantation. 2015, 15(4), p. 1003–1013.
16. L. J. Wozniak, M. J. Hickey, R. S. Venick et al. *Donor-specific HLA antibodies are associated with late allograft dysfunction after pediatric liver transplantation*. Transplantation. 2015, 99(7), p. 1416–1422.
17. E. Grabhorn, T. M. C. Binder, D. Obrecht et al. *Long-term clinical relevance of de novo donor-specific antibodies after pediatric liver transplantation*. Transplantation. 2015, 99(9), p. 1876–1881.
18. A. Del Bello, N. Congy-Jolivet, M. Danjoux et al. *De novo donor-specific anti-HLA antibodies mediated rejection in liver transplant patients*. Transplant International. 2015, 28(12), p. 1371–1382.
19. J. Levitsky, H. Kaneku, C. Jie, R. C. Walsh, M. Abecassis, A. R. Tambur. *Donor-specific HLA antibodies in living versus deceased donor liver transplant recipients*. American Journal of Transplantation. 2016, 16(8), p. 2437–2444.
20. A. J. Demetris, A. Zeevi, J. G. O'Leary. *ABO-compatible liver allograft antibody-mediated rejection*. Current Opinion in Organ Transplantation. 2015, 20(3), p. 314–324.