

L'AFERESI NEL TRAPIANTO DI RENE ABO-INCOMPATIBILE

Enzo Capocasale¹, Maurizio Iaria¹, Maria Sassi², Maria Patrizia Mazzoni¹, Massimo Franchini²

¹U.O. Clinica Chirurgica e dei Trapianti d'Organo, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma, Parma

²U.O. Immunoematologia e Medicina TrASFusionale, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma, Parma

Apheresis in ABO-incompatible kidney transplant

Living donor kidney transplantation is the preferred therapeutic option for patients with end stage renal disease. Unfortunately, about 20-30% of potential living kidney donors are rejected because of incompatible immunological barriers such as ABO incompatibility. The newest desensitization protocols based on therapeutic apheresis and perioperative immunosuppressive drugs have allowed to overcome antibody barriers. The aim of these protocols is to wash out and suppress as many anti-A or anti-B antibodies as possible and to prevent rebound phenomena after transplantation. Standard plasmapheresis, double-filtration plasmapheresis, and selective immunoadsorption are among the most common apheresis modalities applied in ABO-incompatible transplantation. Selective immunoadsorption appears to be much safer and to have markedly increased efficacy compared with plasmapheresis, as it eliminates almost exclusively blood-group antibodies, thus avoiding plasma and coagulation abnormalities. According to the literature, long-term patient and graft survival rates are similar to those achieved with ABO-compatible kidney transplants. We have used selective immunoadsorption in two ABO-incompatible kidney transplants performed at our institution. No acute rejection was observed at 12 and 32 months' follow-up and both grafts are functioning well. Despite the widespread use of ABO-incompatible kidney transplant, however, the mechanisms of accommodation, the best desensitization protocol, the upper baseline and perioperative isoagglutinin titer limit, and the most accurate isoagglutinin measurement assay are still to be defined.

Conflict of interest: None

KEY WORDS:

Therapeutic apheresis, Immunoadsorption, ABO-incompatible, Kidney transplantation

PAROLE CHIAVE:

Aferesi terapeutica, Immunoadsorbi-mento, Incompatibilità ABO, Trapianto renale

Indirizzo degli Autori:

Dr. Enzo Capocasale
Via Bizzozzero 7
43100 Parma
e-mail: ecapocasale@ao.pr.it

INTRODUZIONE

Il trapianto da vivente, pur essendo considerato l'opzione terapeutica ideale nel paziente con insufficienza renale cronica terminale (1), non può essere effettuato nel 20-30% dei casi per un'incompatibilità di gruppo tra donatore e ricevente. Il superamento di tale barriera immunologica può essere conseguito o con il trapianto di rene con modalità crociata (*cross-over*) o mediante l'utilizzo di protocolli di desensibilizzazione per rimuovere e inibire la produzione degli anticorpi

gruppo specifici presenti nel ricevente.

I primi trapianti di rene ABO-incompatibili furono eseguiti negli anni 60-70 con risultati deludenti per la frequente insorgenza di rigetto iperacuto con conseguente perdita dell'organo (sopravvivenza <15% a 1 anno). Nel 1987 Alexandre, sottoponendo il ricevente a splenectomia, trasfusioni di piastrine donatore-specifiche e a sedute di plasmaferesi riportò risultati incoraggianti (75% di sopravvivenza dell'organo a 1 anno). In seguito, con l'introduzione nella pratica clinica di farmaci immunodepressori sempre più efficaci

(tacrolimus, micofenolato mofetile, rituximab, ecc.) e con l'affinamento delle tecniche di afèresi, i risultati del trapianto ABO-incompatibile sono ulteriormente migliorati. Infatti, nell'esperienza cumulativa di 60 centri giapponesi comprendente 441 casi di trapianto incompatibile e 1055 di trapianto compatibile, la sopravvivenza dell'organo (53% vs 56%) e del paziente (81% vs 87%) è risultata sovrapponibile a 10 anni (2).

PROTOCOLLI DI DESENSIBILIZZAZIONE

Tutti i protocolli di desensibilizzazione si basano sul principio di rimuovere e inibire la produzione degli anticorpi presenti nel ricevente.

Sino a qualche anno fa per inibire la produzione di anticorpi, i pazienti erano sottoposti a splenectomia al trapianto. Successivamente, tale procedura è stata quasi completamente abbandonata considerando i rischi legati all'intervento, la maggiore suscettibilità alle infezioni nei pazienti splenectomizzati e la disponibilità di un nuovo anticorpo monoclonale anti-CD20 (Rituximab) (3) in grado di eliminare le cellule B nel sangue periferico e di inibirne la proliferazione (splenectomia farmacologica).

Le tecniche aferetiche più comunemente in uso per rimuovere gli anticorpi anti-A o anti-B e per prevenire il loro *rebound* dopo trapianto sono la plasmafèresi *standard*, la plasmafèresi a doppia filtrazione e l'immunoassorbimento selettivo.

La plasmafèresi *standard*, pur eliminando efficacemente gli anticorpi (20% ogni sessione), ha il principale svantaggio di essere una metodica scarsamente selettiva poiché determina la contemporanea rimozione dei fattori della coagulazione, di immunoglobuline "protettive" e di albumina.

Nella plasmafèresi a doppia filtrazione vengono eliminate selettivamente le frazioni plasmatiche ad alto peso molecolare (immunoglobuline, fibrinogeno), mentre le sostanze a basso peso molecolare (p. es., albumina) sono in gran parte restituite al paziente.

L'immunoassorbimento selettivo (Glicosorb ABO system) rimuove quasi esclusivamente gli anticorpi anti-A o anti-B. Tale metodica si basa sull'uso di colonne costituite da una matrice di safaroso e ligandi trisaccaridici simili agli antigeni A o B a cui si legano selettivamente gli anticorpi gruppo specifici. Durante ciascuna sessione sono processati 2 volumi plasmatici con la riduzione del titolo anticorpale da 2 a 4 volte.

Il maggiore vantaggio dell'immunoassorbimento selettivo è rappresentato da una maggiore efficienza (il 30-40% di anticorpi gruppo specifici è rimosso ad ogni sessione) e dalla restituzione in toto del volume plasmatico, per cui non si associano evidenti turbe

della coagulazione e perdite di albumina. Possono, però, comparire transitorie alterazioni elettrolitiche (calcio, potassio) e dell'equilibrio acido-base (alcalosi metabolica).

Qualunque sia la tecnica aferetica impiegata, la maggior parte dei centri associa la somministrazione di immunoglobuline sia per reintegrarne le perdite che per sfruttare il loro benefico e potente effetto immunomodulante.

I livelli anticorpali devono essere accuratamente monitorati sia durante la desensibilizzazione pre-trapianto che nell'immediato post-operatorio. Si procede al trapianto quando si raggiunge un titolo anticorpale ritenuto accettabile per ciascun centro.

I protocolli di desensibilizzazione più diffusi sono quelli che utilizzano la plasmafèresi a doppia filtrazione (Giappone), la plasmafèresi *standard* (Stati Uniti) e l'immunoassorbimento selettivo (Europa).

Il protocollo giapponese (4) prevede, nei giorni che precedono il trapianto, 3-4 sedute di plasmafèresi a doppia filtrazione in base al titolo anticorpale iniziale, la somministrazione di Tacrolimus (TAC), micofenolato mofetile (MMF), steroidi dal giorno -7 e Rituximab immediatamente prima del trapianto. L'induzione viene effettuata con Basiliximab, mentre il mantenimento si effettua con TAC, MMF e steroidi. Nel post-operatorio non è prevista alcuna sessione di plasmafèresi, tranne nei casi in cui vi siano un aumento del titolo anticorpale e/o un rigetto acuto anticorpo-mediato. Il rigetto acuto si è verificato nel 15% dei casi e la sopravvivenza dell'organo e del paziente è stata, rispettivamente, del 95.8% e del 97.6% a distanza di 3 anni.

Negli Stati Uniti sono fondamentalmente 2 i centri (Johns Hopkins Hospital, Mayo Clinic) che hanno sviluppato il programma di trapianto ABO-incompatibile.

Nel protocollo del Johns Hopkins Hospital (5) sono previste, in funzione del titolo anticorpale basale, da 2 a 10 plasmafèresi *standard* seguite da infusione di CMVlg (100 mg/kg). TAC e MMF sono somministrati all'inizio delle sessioni di plasmafèresi, il Rituximab (375 mg/m²) è somministrato il giorno -1 ed esclusivamente nei pazienti ad alto rischio immunologico (elevato titolo anticorpale iniziale, secondo trapianto, *rebounds* anticorpali durante il ciclo di plasmafèresi). Il titolo anticorpale pre-trapianto considerato accettabile è <1:16. L'induzione è effettuata con Daclizumab e il mantenimento si effettua con TAC, MMF e steroidi. Nel post-operatorio sono previste 2-6 plasmafèresi/CMVlg in relazione con il titolo anticorpale iniziale e con la presenza di fattori di rischio immunologico. L'incidenza di rigetto acuto è stata del 15% (severo nel 2%). I risultati ottenuti hanno evidenziato il 92.9% di sopravvivenza dell'organo e il 96.3% del paziente a 3 anni.

Alla Mayo Clinic (6) vengono effettuate 4-5 plasma-

feresi *standard* seguite dalla somministrazione di IVIg (100 mg/kg), Rituximab (375 mg/m²) il giorno -7 e MMF dal giorno -5 (*target* <1:8). L'induzione è basata sulla somministrazione di Timoglobuline e sul mantenimento con TAC, MMF e steroidi. Nel post-operatorio sono previste sessioni di plasmateresi e IVIg nei giorni 1 e 3. Qualora il titolo anticorpale sia >1:8 nella prima settimana e >1:16 nella seconda si programmano plasmateresi aggiuntive. Gli episodi di rigetto acuto si sono verificati nel 24% dei casi e la sopravvivenza dell'organo e del paziente è stata, rispettivamente, dell'84% e del 95% a 2 anni.

In Europa, il protocollo più frequentemente utilizzato è l'immunoassorbimento selettivo (7).

Questo protocollo consiste nella somministrazione di una singola dose di Rituximab (375 mg/m²) 2-4 settimane prima del trapianto e di TAC, MMF e steroidi dal giorno -10. Il giorno -6, -5, -2 e -1 e nel post-operatorio (giorni +2, +5, +8) sono programmate le sedute di immunoassorbimento. Il giorno antecedente al trapianto si somministrano IVIg (500 mg/kg). Qualora non si raggiunga il *target* pre-operatorio <1:8 si effettuano altre 4 sessioni di immunoassorbimento. Nel post-operatorio, se il titolo aumenta di 2 volte o se il titolo è >1:8 nella prima settimana o >1:16 nella seconda, si sottopone il paziente a sessioni di immunoassorbimento suppletive.

Tale protocollo, utilizzato in 60 pazienti appartenenti a centri diversi, ha dimostrato una sopravvivenza dell'organo e del paziente, rispettivamente, del 97% e del 98% a un *follow-up* medio di 17.5 mesi (*range* 2-61 mesi). Non si sono riscontrati episodi di rigetto acuto.

Nel 2007 il gruppo di Friburgo (8) ha apportato alcune modifiche a questo protocollo, effettuando l'immunoassorbimento solo se il titolo anticorpale era >1:8 nella prima settimana o >1:16 nella seconda settimana dopo il trapianto (*on demand strategy*). L'immunoassorbimento si è reso necessario nel 32% dei casi, prevalentemente nei pazienti con alto titolo anticorpale iniziale e minore età dialitica.

Nei pazienti di gruppo A2 che, come è noto, sono meno immunogenici sia dal punto di vista qualitativo che quantitativo, il protocollo di desensibilizzazione si applica solo nei riceventi il cui titolo anticorpale iniziale risulta essere >1:16.

Presso il nostro centro abbiamo eseguito 2 trapianti ABO-incompatibili, utilizzando il protocollo europeo. A distanza, rispettivamente, di 12 e 32 mesi, entrambi i reni mantengono un'ottima funzionalità in assenza di episodi di rigetto acuto e con un titolo anticorpale <1:4. Dobbiamo segnalare che in un paziente il cui titolo anticorpale iniziale era di 1:512 si è reso necessario effettuare ulteriori 4 sessioni di immunoassorbimento per raggiungere il *target* pre-operatorio <1:8.

ACCOMODATION

Nel trapianto ABO incompatibile è stato osservato (9) l'instaurarsi di una sorta di adattamento immunologico definito "*accomodation*" che permette la sopravvivenza dell'organo e l'assenza di rigetto anticorpo mediato, nonostante siano presenti antigeni del donatore sull'endotelio del *graft* e dei corrispondenti anticorpi specifici nel ricevente.

Pur non essendo ancora completamente definiti i meccanismi attraverso i quali si instaura l'*accomodation*, si ritiene che essa sia legata alla comparsa di modifiche funzionali e strutturali degli anticorpi nel ricevente, a una diminuita antigenicità del *graft* e alla sostituzione nell'organo trapiantato di cellule endoteliali del donatore con quelle del ricevente (9). È stata, inoltre, ipotizzata un'aumentata resistenza dell'organo ai danni da anticorpi e da complemento per una *up-regulation* di geni antiapoptotici e antinfiammatori (Bcl-xL, bcl-2, HO-1) e per una *down-regulation* di geni apoptotici e di geni favorevoli la proliferazione e l'adesione cellulare (SMAD, PTK, TNF). Essendo necessari circa 7-15 giorni dopo il trapianto affinché si instauri l'*accomodation*, in questa fase è indispensabile uno stretto monitoraggio immunologico per diagnosticare precocemente gli episodi di rigetto acuto anticorpo-mediato.

COSTI AGGIUNTIVI

Il trapianto ABO-incompatibile ha un costo aggiuntivo di circa 20000-36000 euro (in funzione del protocollo di desensibilizzazione utilizzato) rispetto al trapianto ABO-compatibile. Il maggior costo è da porre in relazione alle sessioni di aferesi, a un prolungato ricovero del paziente, alla titolazione degli anticorpi e alla terapia immunodepressiva necessaria anche nella fase pre-operatoria. Tenendo presente che il costo medio di un paziente in dialisi è di circa 30000-40000 euro all'anno, si deduce che le spese aggiuntive di un trapianto ABO-incompatibile possano essere ammortizzate in circa 2 anni.

ASPETTI CONTROVERSI

Nonostante il trapianto ABO-incompatibile sia una realtà clinica ormai consolidata, rimane tuttora dibattuto quale sia il protocollo di desensibilizzazione più efficace e quale sia il limite superiore accettabile del titolo anticorpale di base e al trapianto. A tale riguardo, sembra che, con gli attuali protocolli, un alto titolo anticorpale iniziale e un titolo pre-trapianto sino a 1:32 non abbiano effetti negativi sulla sopravvivenza dell'organo.

L'esatta misurazione del titolo anticorpale è di fondamentale importanza poiché influisce in modo decisivo sulla possibilità di effettuare il trapianto e di eseguire una desensibilizzazione mirata nel singolo paziente. Attualmente, sono utilizzate diverse metodiche di titolazione anticorpale (*Tube Technique*, *DiaMed Micro Tping System*, *Flow cytometry*, ecc.). La *Tube Technique* ha dimostrato un'ampia variabilità di risultati e una scarsa accuratezza e riproducibilità. La *DiaMed Micro Tping System* è di esecuzione più rapida e fornisce risultati più attendibili e con minore variabilità; tuttavia, la *Flow cytometry* sembra essere la metodica più affidabile e riproducibile ed è, pertanto, auspicabile che venga considerata il *gold standard* per la titolazione degli anticorpi (10).

L'esperienza giapponese e del gruppo di Friburgo (*on demand strategy*) pone il problema se sia indispensabile eseguire sessioni di afèresi nei pazienti in cui non vi sia un significativo *rebound* anticorpale nell'immediato post-operatorio.

Rimane, infine, da definire quali siano la dose e il *timing* ottimale di somministrazione del Rituximab e se sia indicata la sua somministrazione nei pazienti con basso titolo anticorpale iniziale (<1:128).

RIASSUNTO

Nei pazienti affetti da insufficienza renale cronica terminale il trapianto da vivente, pur essendo considerato l'opzione terapeutica ideale, non può essere effettuato nel 20-30% dei casi per un'incompatibilità di gruppo tra donatore e ricevente.

Le metodiche di desensibilizzazione, basate su alcune tecniche aferetiche e sull'utilizzo di nuovi farmaci immu-

nosoppressori (tacrolimus, rituximab, micofenolato mofetile), hanno consentito la diffusione del trapianto ABO-incompatibile. Le tecniche aferetiche più comunemente in uso per rimuovere gli anticorpi anti-A o anti-B e per prevenire il loro rebound dopo il trapianto sono la plasmafèresi standard, la plasmafèresi a doppia filtrazione e l'immunoassorbimento selettivo.

In particolare, l'immunoassorbimento selettivo appare più efficiente e sicuro rispetto alla plasmafèresi poiché rimuove quasi esclusivamente gli anticorpi gruppo-specifici prevenendo, quindi, i disturbi coagulativi e le alterazioni plasmatiche. I dati della letteratura indicano che la sopravvivenza a lungo termine dell'organo e del paziente è sovrapponibile a quella ottenuta nel trapianto ABO-compatibile.

Presso il nostro centro abbiamo effettuato 2 trapianti di rene da donatore vivente ABO-incompatibile utilizzando l'immunoassorbimento selettivo. A distanza di 12 e 32 mesi entrambi gli organi mostrano un'ottima funzionalità, in assenza di episodi di rigetto acuto.

Nonostante il trapianto ABO-incompatibile sia una realtà clinica consolidata, rimane tuttora da definire quali siano il reale meccanismo che permette l'instaurarsi dell'accomodation, il protocollo di desensibilizzazione più efficace, il limite superiore accettabile del titolo anticorpale basale e al trapianto e la metodica di titolazione anticorpale più accurata.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

BIBLIOGRAFIA

1. Meier-Krische HU, Kaplan B. Waiting time on dialysis as the strongest modifiable risk factor for renal transplant outcomes: A Paired Donor Kidney Analysis. *Transplantation* 2002; 74: 1377-81.
2. Takahashi K, Saito K, Takahara S, et al. Excellent long-term outcome of ABO-incompatible living donor kidney transplantation in Japan. *Am J Transplant* 2004; 4: 1089-96.
3. Genberg H, Hansson A, Wernerson A, Wennberg L, Tyden G. Pharmacodynamics of rituximab in kidney allotransplantation. *Am J Transplant* 2006; 6: 2418-28.
4. Tanabe K, Ishida H, Shimizu T, Omoto K, Shirakawa H, Tokumoto T. Evaluation of two different preconditioning regimens for ABO-incompatible living kidney donor transplantation. A comparison of splenectomy vs. rituximab-treated non-splenectomy preconditioning regimens. *Contrib Nephrol* 2009; 162: 61-74.
5. Montgomery RA, Locke JE, King KE, et al. ABO-incompatible renal transplantation: a paradigm ready for broad implementation. *Transplantation* 2009; 87: 1246-55.
6. Gloor JM, Lager DJ, Fidler ME, et al. A comparison of splenectomy versus intensive post-transplant antidonor blood group antibody monitoring without splenectomy in ABO-incompatible kidney transplantation. *Transplantation* 2005; 80: 1572-7.
7. Tyden G, Kumlien G, Genberg H, Sandberg J, Lundgren T, Fehrman I. ABO incompatible kidney transplantations without splenectomy, using antigen-specific immunoabsorption and rituximab. *Am J Transplant* 2005; 5: 145-8.
8. Wilpert J, Geyer M, Pisarki P, et al. On-demand strategy as an alternative to conventionally scheduled post-transplant immunoabsorptions after ABO-incompatible kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 3048-51.
9. Lynch RJ, Platt JL. Accomodation in organ transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2008; 13: 165-70.
10. Tanabe K. Interinstitutional variation in the measurement of Anti-A/B antibodies: the Japanese ABO-incompatible transplantation committee survey. *Transplantation* 2007; 84: S13-6.