

Rola receptorów dla endoteliny w odpowiedzi immunologicznej biorców nerki przeszczepionej.

Lek. Katarzyna Nowańska-Furman

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Mirosław Banasik

Streszczenie w języku polskim

Wstęp

Transplantacja nerki jest najlepszą metodą leczenia nerkozastępczego u chorych ze schyłkową niewydolnością nerek. Znacząco wpływa na wydłużenie przeżycia w tej grupie pacjentów oraz umożliwia uzyskanie jakości życia zbliżonej do osób zdrowych. Obecnie jedną z głównych przyczyn utraty czynności nerki przeszczepionej jest odrzucanie zależne od przeciwciał. Rola przeciwciał anty-HLA w procesie ostrego lub przewlekłego odrzucania jest dobrze poznana. W ostatnim czasie krótsze przeżycie przeszczepu zauważono również u pacjentów, u których stwierdzono obecność przeciwciał non-HLA. Przeciwciała non-HLA skierowane są przeciwko różnym determinantom antygenowym na śródbłonku naczyń, w tym przeciw receptorowi A dla endoteliny II (anty-ETAR). Znaczenie tych przeciwciał oraz ich receptorów zarówno w ostrym odrzucaniu jak i w przewlekłej dysfunkcji przeszczepionego narządu nie zostało dokładnie poznane.

Cel główny:

Ocena występowania oraz znaczenia ekspresji receptorów A dla endoteliny II w bioptatach nerek przeszczepionych.

Cele szczegółowe pracy:

1. Ocena ekspresji receptorów A dla endoteliny II (ETAR) w poszczególnych kompartmentach bioptatu nerki przeszczepionej u pacjentów z pogorszeniem funkcji graftu.
2. Analiza ekspresji ETAR w bioptacie nerek przeszczepionych na występowanie ostrego odrzucania przeszczepu.

3. Ocena ekspresji ETAR w biopacie nerek przeszczepionych na pogorszenie funkcji nerki przeszczepionej.

Material i metody:

W pracy "Endothelin A Receptors Expressed in Renal Blood Vessels of Renal Transplant Patients Are Connected With Acute Tubular Necrosis or Antibody-Mediated Rejection" przeprowadzono analizę 162 bioptatów nerek przeszczepionych uzyskanych od 154 pacjentów, którzy mieli wykonaną biopsję z uwagi na pogorszenie funkcji przeszczepu. Mikroskopową ocenę ekspresji ETAR przeprowadzono na skrawkach parafinowych o grubości 4 μm osadzonych na szkiełkach podstawowych. Immunohistochemiczną ocenę ekspresji receptorów ETAR przeprowadzono przy użyciu poliklonalnego przeciwciała króliczego (numer katalogowy: G094 (P25101); rozcieńczenie: 1:100; Assay Biotechnology Company, Fremont, USA). Ekspresja ETAR była analizowana w małych i średnich tętniczkach nerki przeszczepionej. Analiza opierała się na trzystopniowej skali (0- brak ekspresji ETAR; 1- obecność ekspresji ETAR - łagodna do średniej immunoreaktywności; 2- wysoka ekspresja ETAR). Pacjenci zostali podzieleni na dwie grupy w zależności od obecności lub braku ekspresji ETAR w naczyniach krwionośnych. Ocena histopatologiczna bioptatów oraz rozpoznanie ostrego odrzucania była stawiana na podstawie klasyfikacji Banff.

W pracy "Endothelin A Receptors Expressed in Glomeruli of Renal Transplant Patients May Be Associated with Antibody-Mediated Rejection" przeprowadzono analizę 149 bioptatów nerek przeszczepionych uzyskanych od pacjentów, którzy mieli wykonaną biopsję z uwagi na pogorszenie funkcji przeszczepu. Mikroskopową ocenę ekspresji ETAR przeprowadzono na skrawkach parafinowych o grubości 4 μm osadzonych na szkiełkach podstawowych. Immunohistochemiczną ocenę ekspresji receptorów ETAR przeprowadzono przy użyciu poliklonalnego przeciwciała króliczego (numer katalogowy: G094 (P25101); rozcieńczenie: 1:100; Assay Biotechnology Company, Fremont, USA). Ekspresja ETAR była analizowana w kłębuszkach bioptatu nerki przeszczepionej. Analiza opierała się na dwustopniowej skali (0- brak ekspresji ETAR; 1-obecność ekspresji ETAR - łagodna do średniej immunoreaktywności, 2- wysoka ekspresja ETAR). Pacjenci zostali podzieleni na dwie grupy w zależności od obecności lub braku ekspresji ETAR w naczyniach krwionośnych. Ocena histopatologiczna bioptatów oraz rozpoznanie ostrego odrzucania była stawiana na podstawie klasyfikacji Banff.

Wyniki:

W pracy “Endothelin A Receptors Expressed in Renal Blood Vessels of Renal Transplant Patients Are Connected With Acute Tubular Necrosis or Antibody-Mediated Rejection” analizowano biopaty nerek przeszczepionych uzyskanych od 154 pacjentów. Biopsja nerki przeszczepionej była przeprowadzana z uwagi na pogorszenie funkcji przeszczepu. Biopsje były przeprowadzane pomiędzy 6 dni a 24 lata po transplantacji (mediana 597 dni). Wykazano obecność ETAR w tętniczkach małego i średniego kalibru u 9 pacjentów. W tej grupie 4 pacjentów miało wykonaną biopsję we wczesnym okresie po transplantacji (<3 miesiące) i u wszystkich wykazano ostrą martwicę cewek nerkowych. 1 pacjent z tej grupy rozwinął ostre odrzucanie zależne od przeciwciał. Kolejnych 4 pacjentów miało przeprowadzoną biopsję w późnym okresie po przeszczepieniu (1-8 lat) i u wszystkich wykazano odrzucanie humoralne. U ostatniego pacjentka, u którego biopsję nerki przeszczepionej wykonano 4 miesiące po transplantacji, w biopsji wykazano obecność niespecyficzných zmian histopatologicznych. Utrata nerki przeszczepionej rok po transplantacji była wyższa w grupie pacjentów ETAR+.

W pracy “Endothelin A Receptors Expressed in Glomeruli of Renal Transplant Patients May Be Associated with Antibody-Mediated Rejection” przeprowadzono analizę 149 biopłatów nerek przeszczepionych uzyskanych od pacjentów, którzy mieli wykonaną biopsję z uwagi na pogorszenie funkcji przeszczepu. Wykazano obecność ETAR w kłębuszkach nerkowych u 13 pacjentów (8,7%). U 5 pacjentów (38,5%) z tej grupy wykazano odrzucanie zależne od przeciwciał. W grupie kontrolnej ETAR- obecność odrzucania humoralnego wykazano u 13/136 pacjentów (9,5%) - $p = 0.0022$.

Utrata nerki przeszczepionej rok po transplantacji w grupie ETAR+ została wykazana u 4 z 5 (80%) pacjentów z odrzucaniem humoralnym. W tym samym okresie, w grupie ETAR- utratę funkcji nerki przeszczepionej wykazano jedynie u 2 pacjentów z 13 (15%) z rozpoznaniem odrzucaniem zależnym od przeciwciał ($p = 0.009$).

Praca “The role of endothelin II type A receptor (ETAR) in transplant injury” jest pracą przeglądową, w której przedstawiono dotychczasową wiedzę na temat roli przeciwciał anty-ETAR w uszkodzeniu i przeżyciu narządów po przeszczepieniu. W pracy tej uwzględniono własne badania.

Wnioski:

1. Ekspresja receptorów ETA w małych i średnich naczyniach nerki przeszczepionej może być istotna w diagnostyce ostrej martwicy cewek nerkowych oraz odrzucania zależnego od przeciwciał.
2. Ekspresja receptorów ETA w kłębuszkach nerkowych nerki przeszczepionej wydaje się być potencjalnie interesującą cechą w diagnostyce uszkodzenia podczas odrzucania zależnego od przeciwciał.
3. Badanie receptorów ETA w biopsjach nerek przeszczepionych u chorych z pogorszeniem funkcji graftu, może pomóc w identyfikacji pacjentów z podwyższonym ryzykiem odrzucania lub uszkodzenia alloprzeszczepu.
4. Receptory dla endoteliny mogą odgrywać rolę w patofizjologii po przeszczepieniu narządów mięsaszowych.
5. Ekspresja ETAR wykryta w biopsji przeszczepu może stać się dodatkowym narzędziem służącym do lepszego zrozumienia aktywności humoralnej.

The role of endothelin receptors in the immune response of transplant kidney recipients

Summary

Kidney transplantation is the best method of renal replacement therapy in patients with end-stage renal disease. It significantly contributes to the prolongation of survival in this group of patients and enables obtaining a quality of life similar to healthy people. One of the significant causes of loss of function in a transplanted kidney is antibody-mediated rejection. The role of anti-HLA antibodies in the process of acute or chronic rejection is well understood. Recently, shorter graft survival has also been noticed in patients with non-HLA antibodies. The non-HLA antibodies are directed against various antigenic determinants on the vascular endothelium, including the endothelin II type A receptor (anti-ETAR). The role of these antibodies and their receptors in both acute rejection and chronic organ transplant dysfunction is not fully understood.

The main goal:

To evaluate the presence and importance of endothelin II type A receptor (ETAR) expression in transplanted kidney biopsies.

Particular goals:

1. Assessment of ETAR expression in particular compartments of transplanted kidney biopsies in patients with deterioration of the graft function.
2. Analysis of ETAR expression in transplanted kidney biopsies for the occurrence of acute transplant rejection.
3. Evaluation of ETAR expression in transplanted kidney biopsies for the deterioration of graft function.

Methods:

The study "Endothelin A Receptors Expressed in Renal Blood Vessels of Renal Transplant Patients Are Connected With Acute Tubular Necrosis or Antibody-Mediated Rejection" performed an analysis of 162 transplanted kidney biopsies obtained from 154 patients who had a biopsy due to deterioration of the transplant function. The microscopic evaluation of ETAR expression used 4 μm thick paraffin sections mounted on glass slides. Immunohistochemical evaluation of ETAR expression was performed using a rabbit polyclonal antibody (catalog number: G094 (P25101); dilution: 1: 100; Assay Biotechnology Company, Fremont, USA). ETAR expression was analyzed in small and medium arteries of the transplanted kidney. The analysis was based on a three-point scale (0- no ETAR expression; 1- the presence of ETAR expression - mild to moderate immunoreactivity; 2- high ETAR expression). Patients were divided into two groups depending on the presence or absence of ETAR expression in the blood vessels. The histopathological evaluation of biopsies and the diagnosis of acute rejection were made based on the Banff classification.

In the study "Endothelin A Receptors Expressed in Glomeruli of Renal Transplant Patients May Be Associated with Antibody-Mediated Rejection", an analysis of 149 transplanted kidney biopsies obtained from patients who had had a biopsy due to the deterioration of the graft function was carried out. The microscopic evaluation of ETAR expression was performed on 4 μm thick paraffin sections mounted on glass slides. Immunohistochemical evaluation of ETAR expression was performed using a rabbit polyclonal antibody (catalog number: G094 (P25101); dilution: 1: 100; Assay Biotechnology Company, Fremont, USA). ETAR expression was analyzed in the glomerulus of the transplanted kidney biopsy. The analysis was based on a two-step scale (0-no ETAR expression; 1-presence of ETAR expression - mild to moderate immunoreactivity, 2- high ETAR expression). Patients were divided into two groups depending on the presence or absence of ETAR expression in the blood vessels. The histopathological evaluation of biopsies and the diagnosis of acute rejection were made based on the Banff classification.

Results:

In the study "Endothelin A Receptors Expressed in Renal Blood Vessels of Renal Transplant Patients Are Connected With Acute Tubular Necrosis or Antibody-Mediated Rejection", biopsy samples of transplanted kidneys obtained from 154 patients were analyzed. The transplanted

kidney biopsy was performed due to the deterioration of the graft function. Biopsies were performed between 6 days and 24 years after transplantation (median 597 days). The presence of ETAR in small and medium caliber arteries was demonstrated in 9 patients. In this group, four patients had a biopsy in the early post-transplant period (<3 months), and all showed acute tubular necrosis. One patient in this group developed acute antibody-mediated rejection. Another four patients had a late post-transplant biopsy (1-8 years), and all showed humoral rejection. In the last patient who had a biopsy of the transplanted kidney performed four months after transplantation, the biopsy showed non-specific histopathological changes.

One year after transplantation, the loss of a transplanted kidney was higher in the ETAR + group of patients.

In the study "Endothelin A Receptors Expressed in Glomeruli of Renal Transplant Patients May Be Associated with Antibody-Mediated Rejection", an analysis of 149 transplanted kidney biopsies obtained from patients who had had a biopsy due to the deterioration of the graft function was carried out. Glomerular ETAR was found in 13 patients (8.7%). In 5 patients (38.5%) of this group, antibody-mediated rejection was demonstrated. In the control group ETAR - the presence of humoral rejection was demonstrated in 13/136 patients (9.5%) - $p = 0.0022$.

One year after transplantation, the loss of the transplanted kidney in the ETAR + group was shown in 4 out of 5 (80%) patients with humoral rejection. During the same period, in the ETAR- group, only 2 out of 13 (15%) patients with diagnosed antibody-dependent rejection ($p = 0.009$) showed loss of transplant kidney function.

The paper "The role of endothelin II type A receptor (ETAR) in transplant injury" is a review that presents the current understanding of the role of anti-ETAR antibodies in organ damage and survival after transplantation. This work includes my research.

Conclusions:

1. The expression of endothelin receptors in renal blood vessels (small and intermediate arteries) seems to be important in the diagnosis of damage during acute tubular necrosis and antibody-mediated rejection.

2. The expression of ETA receptors in transplanted kidney glomeruli seems to be a potentially interesting feature in the diagnosis of injury during antibody-mediated rejection.
3. Examining ETA receptors in transplanted kidney biopsies, which were performed due to graft function deterioration may help to identify patients at a higher risk of allograft rejection or injury.
4. Receptors for endothelin may play a role in pathophysiology after solid organ transplantation.
5. The expression of ETAR detected in a biopsy of transplant could become an additional tool used to better understand the humoral activity.