

Streszczenie w języku polskim

Mechanizmy wpływające na odrzucanie nerki przeszczepionej pozostają przedmiotem badań i analiz. Odrzucanie zależne od przeciwciał jest obecnie główną przyczyną utraty nerki przeszczepionej. Rola przeciwciał anty-HLA jest znana i udokumentowana. W patomechanizmie odrzucania przeszczepu coraz większą wagę przypisuje się ostatnio również przeciwciałom non-HLA skierowanym przeciw antygenom obecnym na komórkach nabłonka, śródbłonka oraz komórkach układu odpornościowego. Przeciwciała przeciwko receptorowi typu 1 dla angiotensyny II (anty-AT1R), należące do grupy przeciwciał non-HLA okazują się istotne w odrzucaniu nerki przeszczepionej, co zostało udowodnione i opisane w wielu pracach, natomiast ocena ekspresji receptorów typu 1 dla angiotensyny II (receptorów AT1) i znaczenie tej ekspresji w uszkodzeniu immunologicznym nerki przeszczepionej nie było jak dotąd badane.

Cel główny:

Ocena występowania oraz znaczenia ekspresji receptorów typu 1 dla angiotensyny II w bioptatach ze wskazań u chorych po przeszczepieniu nerki.

Cele szczegółowe pracy:

1. Ocena ekspresji receptorów typu 1 dla angiotensyny II w poszczególnych kompartmentach nerki przeszczepionej u pacjentów po przeszczepieniu nerki, którzy mieli wykonaną biopsję z powodu pogorszenia jej funkcji.
2. Ocena współwystępowania ekspresji receptorów AT1 w bioptatach nerek przeszczepionych oraz przeciwciał anty-AT1R w surowicy biorców.
3. Analiza obecności receptorów AT1 w nabłonku cewkowym oraz ocena ich związku z utratą nerki przeszczepionej.
4. Analiza obecności receptorów AT1 w bioptatach przeszczepów oraz przeciwciał anty-AT1R w surowicy w powiązaniu z oceną utraty nerki przeszczepionej.

Material i metody:

W pracy „Histopathological Relevance of Angiotensin II Type 1 Receptor in Renal Transplant Biopsy” badaniem objęto 118 biorców przeszczepu. Immunohistochemiczną ocenę ekspresji receptorów typu 1 dla angiotensyny II przeprowadzono na skrawkach parafinowych o grubości 4 µm osadzonych na szkiełkach podstawowych. Mikroskopową ocenę ekspresji

receptorów AT1 przeprowadzono przy użyciu monoklonalnego przeciwciała mysiego (sc-81671). Ekspresję receptorów AT1 analizowano w pięciu kompartmentach nerki przeszczepionej: 1. kłębuszkach nerkowych (g), 2. nerkowych naczyniach krwionośnych (małe i średnie tętnice) (v), 3. kapilarach okołocewkowych (ptc), 4. nabłonku cewkowym (t) i 5. śródmiąszu (i) opierając się na 3-stopniowej skali (0 – brak ekspresji, 1 – niska immunoreaktywność, 2 – wysoka immunoreaktywność).

W pracy „Angiotensin II Type 1 Receptor Expression in Renal Transplant Biopsies and Anti-AT1R Antibodies in Serum Indicates the Risk of Transplant Loss” badaniem objęto 156 biorców przeszczepu. Poza oceną ekspresji receptorów typu 1 dla angiotensyny II w bioptatach, badano również obecność przeciwciał anty-AT1R w surowicy krwi żyłnej przy użyciu metody ELISA. Przeciwciała wykrywano przy ich stężeniu $>2,5$ U/ml. Poziom ≥ 10 U/ml uznawano za dodatni, natomiast <10 U/ml za ujemny.

Diagnoza histopatologiczna stawiana była na podstawie klasyfikacji Banff.

Wyniki:

W pracy „Histopathological Relevance of Angiotensin II Type 1 Receptor in Renal Transplant Biopsy”, analizowano obecność receptorów typu 1 dla angiotensyny II (receptory AT1) u 118 chorych po przeszczepieniu nerki, którzy mieli wykonywaną biopsję z powodu pogorszenia funkcji graftu. Biopsja wykonywana była między 6 dniem a 24 latami po przeszczepieniu (mediana 719 dni). Obecność receptorów AT1 stwierdzono w nabłonku cewkowym (t) u 26,3% (42/118) biorców. W pozostałych kompartmentach: kłębuszkach (g), kapilarach okołocewkowych (ptc), śródmiąszu (i) i naczyniach krwionośnych (v) występowanie ekspresji stwierdzono w pojedynczych przypadkach. U 7 chorych odnotowano ekspresję receptorów w nabłonku cewkowym określoną w trzystopniowej skali jako 2 (wysoka immunoreaktywność), u 35 jako 1 (niska immunoreaktywność). Utrata nerki przeszczepionej w ciągu rocznej obserwacji po biopsji u chorych z obecnością ekspresji receptorów AT1 w nabłonku cewkowym wyniosła 35,7% (15/42) w porównaniu do 14,5% (11/76) biorców bez ekspresji receptorów AT1 ($p=0,008$).

W pracy „Angiotensin II Type 1 Receptor Expression in Renal Transplant Biopsies and Anti-AT1R Antibodies in Serum Indicates the Risk of Transplant Loss” dokonano analizy obecności receptorów AT1 w bioptatach nerek przeszczepionych oraz przeciwciał anty-AT1R

oznaczonych w surowicy krwi żyłnej u chorych, którzy mieli wykonaną biopsję z powodu pogorszenia funkcji. Biopsja wykonywana była między 6 dniami a 24 latami od przeszczepienia (mediana 551 dni). Ekspresję receptorów najczęściej stwierdzano w nabłonku cewkowym (t) (67 biorców), u 5 biorców dodatkowo odnotowano ekspresję w kłębuszkach (g), w tym u 1 również w kapilarach okołocewkowych (ptc).

Spośród 67/156 biorców, u których stwierdzono obecność ekspresji receptorów (R+), 16 wykazywało dodatkowo obecność przeciwciał anti-AT1R (grupa R+Ab+). Utrata funkcji przeszczepionej nerki po roku od biopsji w grupie R+Ab+ wynosiła 37% (6/16) w porównaniu do 10% (7/69) w grupie bez obecnej ekspresji receptorów AT1 w biopatach nerek przeszczepionych i bez przeciwciał anti-AT1R (grupa R-Ab-) ($p=0.006$).

Utratę przeszczepu po 2 latach stwierdzono odpowiednio u 43% (7/16; grupa R+Ab+) vs 17% (12/69; grupa R-Ab-) ($p=0.02$), natomiast po 3 latach u 50% (8/16; R+Ab+) vs 21% (15/69; R-Ab-) ($p=0.02$). U 6 biorców stwierdzono obecność receptorów w mikrokrazeniu – kłębuszkach nerkowych (g) i kapilarach okołocewkowych (ptc), co wiązało się z występowaniem odrzucania zależnego od przeciwciał (AMR). U 3 z nich w ciągu 48 miesięcy od biopsji doszło do utraty przeszczepionej nerki pomimo intensywnego leczenia: dożylnymi immunoglobulinami (IVIG), plazmaferezami (Ph), rituksimabem czy bortezomibem.

Praca „The Significance of Angiotensin II Type 1 Receptor (AT1 Receptor) in Renal Transplant Injury” ma charakter pracy przeglądowej i podsumowuje dotychczasową wiedzę na temat receptora dla angiotensyny II typu 1 w immunologicznym uszkodzeniu przeszczepu z uwzględnieniem badań własnych.

Wnioski:

1. Ekspresję receptorów w nabłonku cewkowym obserwowano u 26,3% (42/118) biorców nerki przeszczepionej.
2. Ekspresję receptorów w biopatach wraz z obecnością przeciwciał w surowicy stwierdzono u 10,3% (16/156) biorców.
3. Ekspresja receptorów typu 1 dla angiotensyny II w nabłonku cewkowym biopsji ze wskazań była związana z większą utratą narządów przeszczepionych.

4. Ekspresja receptorów AT1 w biopsjach nerek oraz obecność przeciwciał anti-AT1R w surowicy biorców wiązała się z istotnie wyższą utratą przeszczepów w pierwszym, drugim oraz trzecim roku obserwacji.
5. Wysoki odsetek utrat nerek przeszczepionych obserwowano u chorych z ekspresją receptorów AT1 w mikrokrążeniu, co wiązało się z obecnością odrzucania zależnego od przeciwciał.
6. Analiza ekspresji receptora AT1 w biopsji wraz z obecnością przeciwciał anti-AT1R w surowicy powinna pozwolić na dokładniejszą ocenę ryzyka immunologicznego przeszczepu.

Summary

The mechanisms involved in graft rejection remain the subject of research and analysis. Antibody mediated rejection (AMR) is currently the main cause of kidney transplant loss. The role of anti-HLA antibodies is already known and well documented. Recently, non-HLA antibodies directed against antigens present on epithelial, endothelial and circulating immune cells have also been increasingly attributed to transplant rejection. Antibodies against angiotensin II type 1 receptor (anti-AT1R) belonging to the group of non-HLA antibodies seems to be important in kidney transplant rejection, which has been proven and described in many works. However, the assessment of the expression of angiotensin II type 1 receptors (AT1 receptors) and its significance in the immunological damage of the transplanted kidney has not been studied yet.

The main aim:

The assessment of the occurrence and significance of angiotensin II type 1 receptors (AT1 receptors) expression in biopsies for cause from patients after kidney transplantation.

The particular aims:

1. The assessment of angiotensin II type 1 receptor (AT1 receptor) expression in specific compartments in renal transplant biopsies in patients who had a biopsy due to deterioration of its function.
2. Assessment of the occurrence of AT1 receptor expression in renal transplant biopsies and together with the presence of anti-AT1R antibodies in recipient serum.

3. The analysis of the presence of AT1 receptors in the tubular epithelium and the assessment of their association with the kidney transplant loss.
4. The analysis of the presence of AT1 receptors in transplant biopsies and anti-AT1R antibodies in the serum in connection with the assessment of kidney transplant loss.

Methods

In the paper "Histopathological Relevance of Angiotensin II Type 1 Receptor in Renal Transplant Biopsy" 118 renal transplant recipients were included in the study. Immunohistochemical evaluation of angiotensin II type 1 receptors (AT1 receptors) was performed on 4 µm-thick paraffin sections mounted on silanized slides. Microscopic evaluation of the expression of AT1 receptors was made by using a mouse monoclonal antibody (sc-81671). The expression of AT1 receptors was analyzed in five compartments in renal transplant biopsies: 1. glomeruli (g), 2. renal blood vessels (small and intermediate arteries) (v), 3. peritubular capillaries (ptc), 4. tubular epithelium (t) and 5 interstitium (i) based on a 3-step scale (0 – lack of expression, 1 - low immunoreactivity, 2 - high expression).

In the paper "Angiotensin II Type 1 Receptor Expression in Renal Transplant Biopsies and Anti-AT1R Antibodies in Serum Indicates the Risk of Transplant Loss" 156 renal transplant recipients were involved in the study. In addition to assessing the expression of angiotensin II type 1 receptors in biopsies, the presence of anti-AT1R antibodies in venous blood serum was also evaluating using an ELISA method. Antibodies were detected at > 2.5 U/ml. The positive value was ≥ 10 U/ml, and the negative value was <10 U/ml.

The histopathological diagnosis was based on Banff criteria.

Results

In the paper "Histopathological Relevance of Angiotensin II Type 1 Receptor in Renal Transplant Biopsy", the expression of angiotensin II type 1 receptors (AT1 receptors) was analyzed in 118 kidney transplant patients who had a biopsy due to the deterioration of graft function (biopsy for cause). The biopsy was performed between 6 days and 24 years after transplantation (median 719 days).

The presence of AT1 receptors was found in the tubular epithelium (t) in 26.3% (42/118) of the recipients. In the remaining compartments: glomeruli (g), peritubular capillaries (ptc), interstitium (i) and renal blood vessels (v) expression was found in isolated cases. In 7 patients,

receptors were expressed in tubular epithelium as 2 based on a three-point scale (high immunoreactivity) and 35 as 1 (low immunoreactivity). One-year post biopsy graft loss in patients with AT1 receptor expression in the tubular epithelium was 35.7% (15/42) compared to 14.5% (11/76) recipients without AT1 receptor expression ($p = 0.008$).

In the paper "Angiotensin II Type 1 Receptor Expression in Renal Transplant Biopsies and Anti-AT1R Antibodies in Serum Indicates the Risk of Transplant Loss" the expression of AT1 receptors in biopsies of transplanted kidneys and anti-AT1R antibodies determined in venous blood serum was analyzed, in patients, who had a biopsy due to a deterioration of graft function (biopsy for cause). The biopsy was performed between 6 days and 24 years after transplantation (median 551 days). Receptor expression was most often found in the tubular epithelium (t) (67 recipients), 5 recipients had additionally an expression in glomeruli (g), and 1 of them had also an expression in the peritubular capillaries (ptc).

67/156 recipients had the presence receptor expression (R +), 16 of them additionally presented anti-AT1R antibody (R+ Ab+). One year post biopsy graft loss in the R+Ab+ group was 37% (6/16) compared to 10% (7/69) in the group with no AT1 receptor expression in renal transplant biopsies and without anti-AT1R antibodies (group R-Ab-) ($p = 0.006$).

Transplant loss after 2 years was found in 43% (7/16; group R + Ab +) vs 17% (12/69; group R-Ab-) respectively ($p = 0.02$), and after 3 years in 50% (8/16; R + Ab +) vs 21% (15/69; R-Ab-) ($p = 0.02$). Moreover, 6 recipients had positive staining of AT1 receptors in microcirculation - glomeruli and peritubular capillaries (g+ptc) which was associated with antibody-dependent rejection (AMR). 3 of them within 48 months after biopsy lost their transplant in spite of intensive treatment: intravenous immunoglobulins (IVIg), plasmapheresis (Ph), rituximab or bortezomib.

"The Significance of Angiotensin II Type 1 Receptor (AT1 Receptor) in Renal Transplant Injury" is a review paper and summarizes the knowledge about the receptor for angiotensin II type 1 in immune transplant damage, including own research.

Conclusions

1. AT1 receptors expression in the tubular epithelium was observed in 26.3% (42/118) of transplanted kidney recipients.

2. The expression of AT1 receptors in biopsies together with the presence of antibodies in serum was found in 10.3% (16/156) of recipients.
3. The expression of AT1 receptors for in tubular epithelium in biopsy for cause was associated with higher graft loss.
4. The expression of AT1 receptors in renal transplant biopsies and the presence of anti-AT1R antibodies in recipient serum was associated with significantly higher graft loss in the first, second and third year of follow-up.
5. A high percentage of graft loss was observed in patients with the expression of AT1 receptor in microcirculation, which was associated with antibody mediated rejection (AMR).
6. The relevance of AT1 receptor expression in biopsy analyzed together with the presence of anti-AT1R antibodies in serum should allow for better evaluation of transplant immunologic risk assessment.