

Humoralno odbacivanje srčanog presatka

Rogina, Nikola

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:384174>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-16**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Nikola Rogina

**Humoralno odbacivanje srčanog
presatka**

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2017.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Nikola Rogina

**Humoralno odbacivanje srčanog
presatka**

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2017.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Koronarnoj jedinici Klinike za bolesti srca i krvnih žila Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Kliničkog bolničkog centra Zagreb, pod vodstvom doc. dr. sc. Boška Skorića i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2016/2017.

Mentor rada: doc. dr. sc. Boško Skorić

POPIS KRATICA

ACR – Akutno stanično odbacivanje (engl. *acute cellular rejection*)

AMR – Odbacivanje posredovano protutijelima (engl. *antibody mediated rejection*)

ATG – Antitimocitni globulin (engl. *antitymocyte globuline*)

CAV – Vaskulopatija srčanog presatka (engl. *cardiac allograft vasculopathy*)

CMV – Citomegalovirus (engl. *cytomegalovirus*)

DSA – Donor specifična antitijela (engl. *donor specific antibodies*)

EF - Ekstrakorporalna fotoforeza (engl. *extracorporeal photoforesis*)

EMB – Endomiokardni bioptat (engl. *endomyocardial biopsy*)

FGF – Faktor rasta fibroblasta (engl. *fibroblast growth factor*)

GEP – Profiliranje genske ekspresije (engl. *gene expression profiling*)

HLA – Humani leukocitni antigeni (engl. *human leukocyte antigen*)

IF – Imunofluorescencija (engl. *immunofluorescence*)

IHC – Imunohistokemija (engl. *immunohistochemistry*)

ISHLT – Međunarodno društvo za transplantaciju srca i pluća (engl. *International Society for Heart and Lung Transplantation*)

IVIG – Intravenski imunoglobulini (engl. *intravenous immunoglobulines*)

MAC – Kompleks napada na membranu (engl. *membrane attack complex*)

MMF – Mikofenolat mofetil (engl. *micofenolate mofetil*)

MR – Magnetna rezonanca (engl. *magnetic resonance*)

OKT3 - Muromonab-CD3 (engl. *Muromonab-CD3, Otrochlone OKT3*)

VAD – Uređaj za mehaničku cirkulacijsku potporu klijetke (engl. *ventricular assist device*)

SADRŽAJ

SAŽETAK	
SUMMARY	
1. UVOD	1
2. RIZIČNI FAKTORI	2
3. MEHANIZMI HUMORALNOG ODBACIVANJA SRCA	2
4. DONOR SPECIFIČNA ANTITIJELA (DSA)	3
5. DIJAGNOSTIKA HUMORALNOG ODBACIVANJA SRCA	4
5.1. Patohistološke karakteristike	5
5.2. Imunopatološke karakteristike	6
5.3. Klasifikacija humoralnog odbacivanja i smjernice za praćenje	7
6. MIJEŠANO ODBACIVANJE (AMR i ACR)	9
7. KLINIČKE OSOBITOSTI	10
7.1. Simptomatsko odbacivanje.....	10
7.2. Subkliničko odbacivanje	11
8. LIJEČENJE	11
8.1. Kortikosteroidi.....	13
8.2. Intravenski imunoglobulini (IVIG)	13
8.3. Plazmafereza	13
8.4. Ekstrakorporalna fotoferaza	14
8.5. Antilimfocitni globulini.....	14
8.6. Monoklonalna protutijela	15
8.6.1. Rituksimab	15
8.6.2. Bortezomib.....	16
8.6.3. Eculizumab	16
8.7. Mikofenolat mofetil.....	17
8.8. Ciklofosamid.....	17
9. KADA LIJEČITI AMR?	18
10. ZAKLJUČAK	20
11. LITERATURA	21
12. ZAHVALE	28
13. ŽIVOTOPIS	29

SAŽETAK

HUMORALNO ODBACIVANJE SRČANOG PRESATKA

Nikola Rogina

Humoralno odbacivanje srca, također poznato pod nazivima vaskularno te odbacivanje posredovano protutijelima (engl. AMR) jest donedavno bila slabo definirana dijagnoza. Ona je trenutno definirana kao histopatološka dijagnoza temeljena na kriterijima koje je donijelo *Internacionalno društvo za transplantaciju srca i pluća (ISHLT)* 2013. godine. Budući da humoralno odbacivanje dugo nije imalo usuglašene kriterije za dijagnozu, ostaje nepoznata točna incidencija (spominje se u rasponu od 3-85%) i prevalencija tog tipa odbacivanja.

Postoji više faktora rizika za razvoj humoralnog odbacivanja, poput prethodne transplantacije, trudnoće, senzitivizacije indukcijskom terapijom OKT3, CMV infekcija te korištenja VAD prethodno transplantaciji.

Dijagnoza se postavlja primarno na temelju histološke te imunohistološke analize srčanog bioptata, te se klasificira po pAMR stupnjevima (0-3). Dodatni pokazatelji AMR uključuju cirkulirajuća DSA, ehokardiografiju, kliničke znakove zatajenja srca, te u novije vrijeme mogućnosti genetskog testiranja uzorka periferne krvi.

Terapijske mogućnosti humoralnog odbacivanja su slabo definirane, bez konkretnih smjernica i preporuka za liječenje temeljenim na randomiziranim kliničkim studijama. Postoji široka paleta lijekova i postupaka koje je moguće primijeniti, no ne zna se koji od njih i / ili kombinacija kojih jest najbolji odabir za pacijenta. Sa ujednačenijim dijagnostičkim kriterijima stvara se stabilnija podloga za procjenu trenutnog stanja te bolje mogućnosti za evaluaciju, razvoj i standardizaciju terapije.

Ključne riječi: AMR, humoralno odbacivanje, transplantacija srca, donor specifična antitijela, liječenje AMR

SUMMARY

HUMORAL REJECTION OF THE CARDIAC TRANSPLANT

Nikola Rogina

Humoral cardiac rejection, also known as vascular and antibody mediated rejection (AMR) was, until recently, a poorly defined diagnosis. Currently, it is defined as a histopatologic diagnosis based on criteria assembled by *International Society for Heart and Lung Transplantation* (ISHLT) in year 2013. Since the diagnostic criteria weren't standardized for a long time, true incidence (it varies from 3-85%) and prevalence of humoral rejection remain unknown.

There are multiple risk factors for development of humoral rejection. They include previous transplantation, pregnancy, sensitization using OKT3 induction therapy, CMV infection and using VAD prior to transplantation.

Diagnosis is based primarily on the histologic and immunohistologic analysis of endomiocardial biopsy, and it is classified by pAMR categories (0-3). Additional supporting tests include circulating DSA, echocardiographic or/and clinical signs of heart failure and recently the possibility of genetic testing of peripheral blood.

Therapeutic options for humoral rejection are poorly defined, without specific treatment guidelines and recommendations based on randomized clinical trials. There is a wide pallette of drugs and procedures which can be applied, but which one or which combination is the best choice for patient remains unknown. Better defined and more uniform diagnostic criteria for humoral rejection will reduce variations in the diagnosis and provide a more stable platform for evaluation, development and standardization of therapy.

Keywords: antibody mediated rejection, AMR, humoral rejection, heart transplantation, donor specific antibodies, treatment of AMR

1. UVOD

Termin odbacivanje organa se odnosi na prepoznavanje transplantiranog organa kao nepoznatog, potencijalno opasnog objekta od strane imunskog sustava primatelja i posljedičnog odgovora putem mehanizama stanične i humoralne (posredovane protutijelima) imunosti. Rutinska biopsija endomiokarda jest jedini način za preciznu dijagnozu odbacivanja srca¹. Ovaj proces uključuje biopsiju endomiokarda desnog ventrikla i evaluaciju tkiva od strane patologa. Koncept odbacivanja naravno nije jedinstven i specifičan za transplantaciju srca te se pojavljuje, u različitim oblicima, u svim transplantacijama solidnih organa.

Odbacivanje srca se može manifestirati na tri načina: (1) akutno stanično odbacivanje (ACR), (2) odbacivanje posredovano protutijelima (humoralno, AMR) te kao (3) miješano odbacivanje – kombinacija ACR i AMR (engl. mixed rejection).

Akutno stanično odbacivanje jest primarno reakcija primateljevih limfocita T na antigene izražene na tkivu alografta. Humoralno odbacivanje se odnosi na oštećenje tkiva alografta uslijed stvaranja protutijela usmjerenih na antigene alografta mehanizmima ovisnim ili neovisnim o aktivaciji sustava komplementa². Humoralno odbacivanje odvija se mjesecima ili godinama nakon transplantacije, a rijetko dolazi do hiperakutnog odbacivanja do kojeg dolazi do 7 dana nakon transplantacije (ponekad u roku od nekoliko minuta ili sati). Vaskulopatija srčanog alografta (CAV) se odnosi na koncentrično suženje lumena epikardnih i intramuralnih koronarnih arterija, a dijelom se smatra posljedicom kroničnog humoralnog odbacivanja. Ovaj proces se obično javlja mjesecima ili godinama nakon transplantacije te je glavni limitirajući faktor dugoročnog preživljenja alografta.

Dijagnoza akutnog staničnog odbacivanja temelji se na histološkoj identifikaciji infiltrata limfocita u intersticiju sa varijabilnim znakovima oštećenja miocita. Navedene promjene su visokosenzitivne i visokospecifične te koreliraju sa disfunkcijom alografta. Štoviše, ovo imunopatološko i kliničko stanje dobro reagira na terapiju protiv staničnog odbacivanja kako sa kliničkim vidljivim poboljšanjem tako i sa rezolucijom histoloških karakteristika odbacivanja presatka.

Dijagnoza humoralnog odbacivanja jest dugo bila upitna te nerazjašnjena, te se vodila kao biopstat-negativno odbacivanje, tj. prisutnost znakova kardijalne disfunkcije nakon transplantacije no bez karakterističnih histopatoloških znakova staničnog odbacivanja. Prvi opis humoralnog odbacivanja jest uključen u ISHLT kriterije 1990. g. te je definiran

kao pozitivna imunofluorescencija, vaskulitis ili težak edem uz odsutnost staničnih infiltrata³. Napredcima u području imunofluorescencije, imunohistokemije te otkrićem specifičnih imunskih markera (C4d, C3d, CD68, CD31...) dolazi do boljeg definiranja humoralnog odbacivanja srca te usuglašenja kriterija za dijagnozu humoralnog odbacivanja i određivanja stupnjeva odbacivanja (pAMR klasifikacija).

2. RIZIČNI FAKTORI

Rizične faktore za AMR uključuju senzitivirajući događaji poput transfuzija krvi, prethodne transplantacije, trudnoća, senzitivacija indukcijom terapijom OKT3⁴ i korištenje uređaja za mehaničku cirkulacijsku potporu klijetci (VAD) prethodno transplantaciji. VAD povećava rizik dijelom zbog veće vjerojatnosti za transfuzijama krvi. Ranije jest čak do 2/3 pacijenata sa implantiranim VAD bilo izloženo riziku za alo-senzitivaciju⁵. Poboľšanjem izrade VAD uređaja taj rizik jest značajno smanjen (usporedbom Heartmate I i Heartmate II uređaja, rizik za alo-senzitivaciju jest smanjen sa 28% na 6%)⁶. Također kao rizičan faktor jest potrebno istaknuti preoperativnu seropozitivnost na CMV te postoperativnu infekciju CMV-om⁷.

3. MEHANIZMI HUMORALNOG ODBACIVANJA SRCA

Odbacivanje posredovano protutijelima jest posredovano drugačijim mehanizmima u odnosu na odbacivanje posredovano stanicama (ACR). Ovi se mehanizmi mogu podijeliti na one ovisne i neovisne o komplementu.

Protutijela induciraju odbacivanje putem kaskade komplementa, što rezultira oštećenjem tkiva i posljedično aktivacijom koagulacijskih mehanizama⁸. Komplement jest multifunkcionalni sustav receptora, regulatora i izvršnih molekula te jak pojačivač imunskog odgovora. Protutijela induciraju aktivaciju kaskade komplementa koja završava oštećenjem tkiva. Aktivacija komplementa jest ključni događaj u patogenezi humoralnog odbacivanja⁹.

Aktivacija kaskade komplementa stvara aktivne komponente komplementa koje nemaju izvršnu ulogu već modulatornu ulogu na imunski odgovor. Komponente poput C3a, C4a te C5a potiču vazoaktivni odgovor te su medijatori kemotaksije neutrofila, monocita i makrofaga. Također i same efektorske (terminalne) komponente komplementa (C5b-C9, MAC) uzrokuju proinflamatorne promjene na endotelnim stanicama i stanicama glatkih

mišića. Vaskularni odgovor na prisutnost C5a i MAC jest otpuštanje von Willebrandovog faktora, P-selektina te CD63 molekula iz Weibel-Palade granula. Interakcija trombocita sa endotelnim stanicama se odvija putem receptora za P-selektin te vaskularnih adhezijskih molekula izraženih na aktiviranim endotelnim stanicama. Interakcijom sa endotelom trombociti se aktiviraju, te posljedično dolazi do degranulacije oslobađajući proinflamatorne molekule poput citokina interleukin-1b te makrofagnog inflamatornog proteina-1 što dovodi do daljnjeg privlačenja leukocita te njihove aktivacije¹⁰.

U slučaju visokog titra anti-HLA protutijela dolazi do vezanja na HLA antigene endotela što potiče sintezu receptora za faktor rasta fibroblasta (FGF-R) te njegovu ekspresiju na endotelu. Vezanjem faktora rasta fibroblasta (FGF) na pripadajući receptor dolazi do daljnje proliferacije endotela te indirektno jače imunosne reakcije¹¹.

Aktivacijom endotelnih stanica dolazi do oslobađanja proupalnih citokina, infiltracije makrofazima, povećane vaskularne propusnosti te u konačnici do mikrovaskularnih tromboza. Klinički, navedene promjene se očituju kao disfunkcija alografta.

4. DONOR SPECIFIČNA ANTITIJELA (DSA)

Unatoč unaprijeđenju imunosupresivnih protokola, odbacivanje alografta ostaje najčešći uzrok smrti unutar prvih 5 godina nakon transplantacije. Kako stanično, tako su i humoralno posredovani imunosni procesi usmjereni primarno protiv humanih leukocitnih antigena (HLA). Antitijela protiv HLA (anti-HLA) su donor-specifična protutijela (DSA) se mogu pronaći prethodno transplantaciji uslijed ranijeg izlaganja stranim HLA tijekom transfuzija krvi, trudnoće, prethodnih transplantacija ili ugradnje uređaja za mehaničku cirkulacijsku potporu (VAD). Izloženost donorovim HLA molekulama također može potaknuti stvaranje *de novo* DSA¹². Prisutnost DSA sama po sebi se ne smatra kontraindikacijom, već rizičnim faktorom za uspješnu transplantaciju. Prag za prihvaćanje donora u prethodno senzitiviranog pacijenta varira, te ovisi o pacijentovom kliničkom statusu, razini DSA te protokolima dostupnim za uklanjanje DSA¹³. Procesom desenzitizacije (redukcije ili uklanjanja DSA) nastoji se djelovati na ključne elemente humoralne imunosti te se time povećava vjerojatnost uspješne transplantacije.

Kod niskih razina, smanjenje DSA se postiže plazmaferezom uz IVIG. U slučaju visokih razina DSA, dodatno se koriste lijekovi koji suprimiraju razvoj limfocita B (rituksimab) i lijekovi za smanjenje razina plazma stanica (bortezomib).

Uloga *de novo* DSA u preživljenju srčanog alografta jest opisana u nekoliko studija.

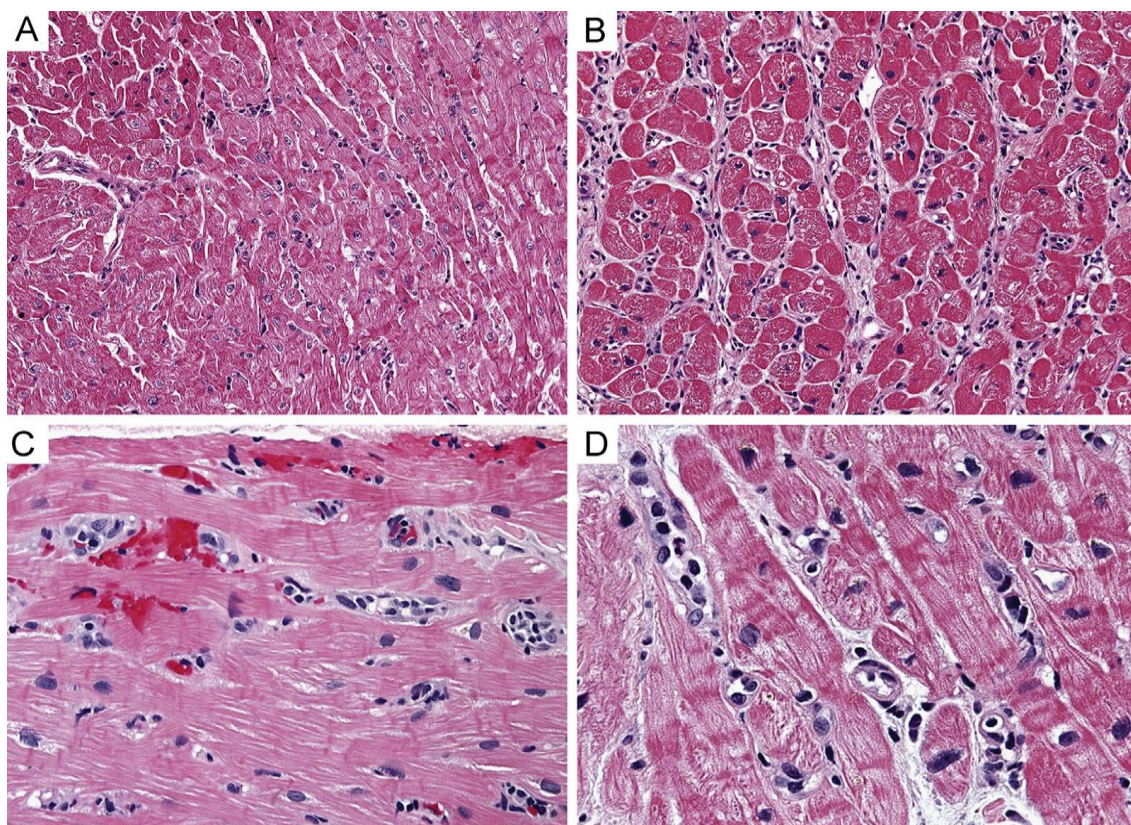
U retrospektivnoj kohorti, *de novo* DSA su povezana s niskim preživljenjem pacijenata, dok je kombinacija *de novo* DSA s prethodnom alosenzitizacijom pokazala najlošije preživljenje¹⁴. Slično, pacijenti sa kontinuiranim stvaranjem *de novo* DSA, uglavnom anti-HLA DQ su imali najgore preživljenje¹⁵. 15-godišnje preživljenje jest očekivano bilo više u pacijenata koji nisu razvili DSA u odnosu na one koji su razvili *de novo* DSA (70% naspram 47%). U pacijenata kod kojih su se DSA pojavili nakon više od godinu dana nakon transplantacije jest zabilježeno najlošije preživljenje¹⁶. DSA trenutno nisu dio dijagnostičkih kriterija za AMR, već služe kao podržavajući dokaz. Rutinsko mjerenje DSA bi se moglo pokazati kao dobar pokazatelj rizika od odbacivanja prilikom većeg smanjenja razine imunosupresije tj. za procjenu njene daljnje učinkovitosti¹⁷.

5. DIJAGNOSTIKA HUMORALNOG ODBACIVANJA SRCA

U literaturi su evaluirane različite neinvazivne metode otkrivanja srčanog odbacivanja, no većina istraživanja nije fokusirana isključivo na odbacivanje posredovano protutijelima. Dijastolička disfunkcija jest jedna od prvih manifestacija srčanog odbacivanja. Osjetljivost i specifičnost evaluacije dijastoličke funkcije Doppler ehokardiografijom kao prediktora AMR su se pokazali niskima¹⁸. Ustanovljeno jest da kvantifikacija vremena T2 relaksacije na MR srca najbolje korelira sa odbacivanjem dokazanim biopsijom, no potrebno jest dalje istražiti korelaciju u slučajevima isključivo humoralnog odbacivanja srca¹⁷. Također se u literaturi spominje i analiza profila genetske ekspresije (GEP, engl. gene expression profiling) kao metode neinvazivne dijagnostike praćenja srčanog odbacivanja. Ova metoda uključuje uzimanje uzoraka krvi iz kojih se mononuklearne stanice periferne krvi genetski analiziraju na česte genetske obrasce koji se povezuju sa različitim stupnjem akutnog odbacivanja. Prema studijama osjetljivost GEP jest 84%, no specifičnost jest samo 38%¹⁹. Potrebno jest provesti istraživanja koja bi direktno usporedila GEP metode sa biopsijom endomiokarda. Patološka analiza endomiokardnog bioptata se i dalje smatra zlatnim standardom za dijagnozu AMR.

5.1. Patohistološke karakteristike

Klasične patohistološke osobitosti AMR na preparatima bojenim hemalaun - eozinom uključuju oštećenje kapilara intersticija, edem stanica endotela te nalaz intravaskularnih makrofaga^{20,21}. Aktivirane endotelne stanice jest često teško razlikovati od makrofaga i limfocita na preparatu te se stoga opisuju kao „aktivirane mononuklearne stanice“. Kod AMR se često uočava da je intersticij miokarda značajno celularniji (Slika 1 – A i B). Nakupljanje intravaskularnih makrofaga uzrokuje širenje i ispunjenje vaskularnog lumena (Slika 1 – C i D). Omjer edema endotela i nakupina makrofaga varira, te je ponegdje više naglašen edem endotela u odnosu na količinu intravaskularnih makrofaga. Rjeđe se uočava formiranje intravaskularnih tromba, što obično ukazuje na teže manifestacije odbacivanja²². Budući da intravaskularne mononuklearne stanice mogu ukazivati i na druga patološka stanja poput ACR, infekcije, ishemije potrebno jest potvrditi da se radi o AMR putem imunohistokemije (IHC) ili imunofluorescencije (IF)²³.



Slika 1. Slika svjetlosnim mikroskopom prikazuje morfološke osobine AMR.

(A) Prikazano je blago povećanje celularnosti intersticija; u ovom slučaju vidi se povećan broj intravaskularnih makrofaga (HE bojanje, povećanje x200).

- (B) Ovaj primjer pokazuje tzv. aktivirane mononuklearne stanice sa jasno izraženim promjenama intersticija sa upadljivim endotelnim stanicama i intravaskularnim makrofazima (HE bojanje, povećanje x200).
- (C) Aktivirane mononuklearne stanice ispunjuju i proširuju intersticijsko žilje na poprečnom presjeku (HE bojanje, povećanje x400).
- (D) Slične promjene se također uočavaju u žilama intersticija na uzdužnom presjeku (HE bojanje, povećanje x400).

Preuzeto od Berry i sur.²³.

5.2. Imunopatološke karakteristike

Dijagnoza AMR se postavlja i na temelju pronalaska karakterističnih imunopatoloških znakova AMR. Također, pomoću imunologije se mogu i razjasniti histološke karakteristike bioptata, konkretno potvrda prisutnosti intravaskularnih makrofaga koji su karakteristična značajka AMR. U imunološkoj dijagnostici AMR definirani su obavezni (primarni) te neobavezni (sekundarni) kriteriji potrebni za dijagnozu. Kriteriji se razlikuju ovisno o metodi koja se koristi, imunohistokemija ili imunofluorescencija.

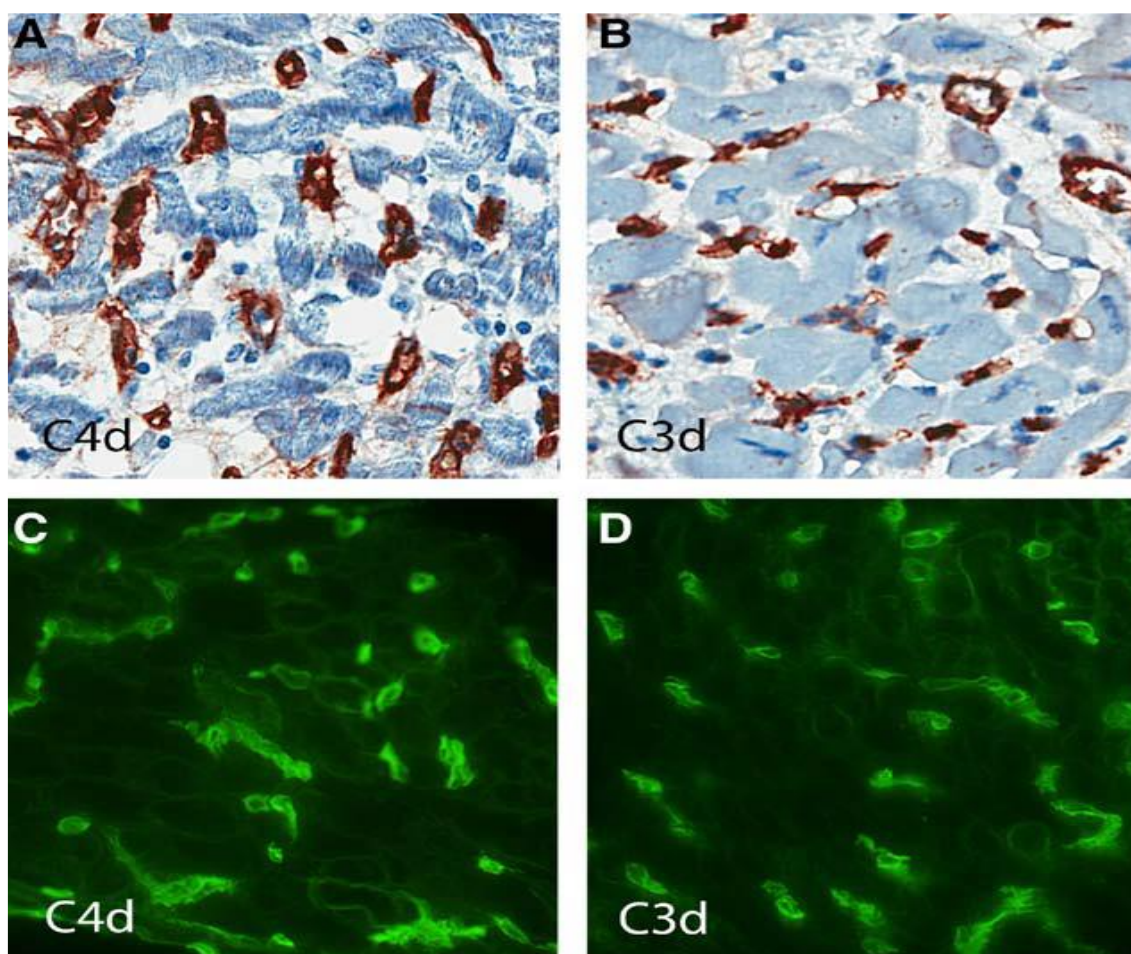
Kod imunohistokemije, kao primarni (obavezni) markeri koriste se protutijela na komponentu komplementa C4d te na molekulu karakterističnu za makrofage CD68.

Samo pozitivan kapilarni nalaz C4d se uzima u obzir, kao i isključivo intravaskularni nalaz CD68. Kao pozitivan imunohistokemijski nalaz definirano je multifokalno / difuzno bojanje C4d unutar >50% kapilara ili nalaz minimalno 10% CD68 intravaskularne distribucije (intravaskularni makrofazi). Imunohistokemijsko bojanje jest prikazano na Slici 2 – primjeri A i B.

U slučaju imunofluorescencije, primarni markeri su protutijela na komponente komplementa C3d i C4d te protutijela usmjerena na HLA-DR koja govore o očuvanosti integriteta endotela. Pozitivan nalaz na imunofluorescenciji jest multifokalno bojanje C3d i C4d unutar > 50% kapilara, te distribucija bojanja HLA-DR antigena minimalno 50%. Bojanje imunofluorescencijom jest prikazano na Slici 2 – primjeri C i D.

Neki centri koriste i druge (dodatne ili sekundarne) markere za dijagnozu AMR, poput CD3 (određivanje limfocita T), CD20 (određivanje limfocita B), CD31 / CD34 (markeri

endotela za razlikovanje makrofaga od stanica endotela), fibrina (ukazuje na težak AMR) i ostalih^{17,23}.



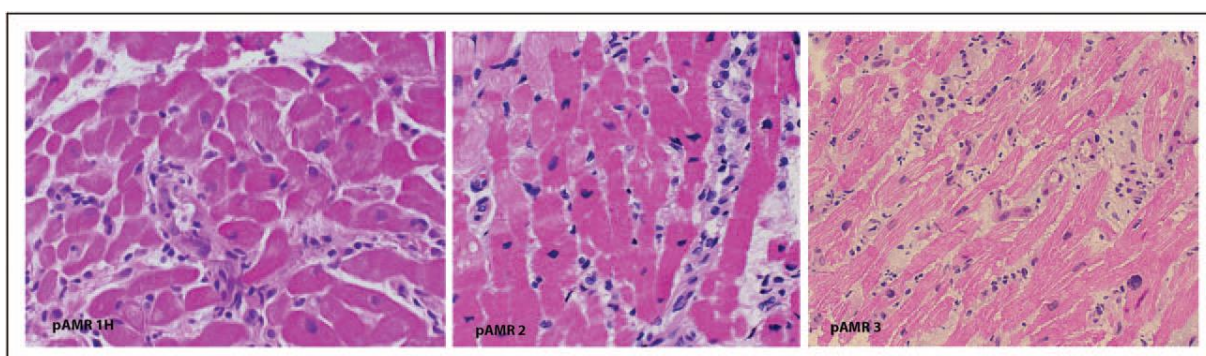
Slika 2. Prikaz IHC i IF metoda; C4d bojanje imunohistokemijom (A), imunofluorescencijom (C); C3d bojanje imunohistokemijom (B), imunofluorescencijom (D). Preuzeto od Colvin i sur.¹⁷.

5.3. Klasifikacija humoralnog odbacivanja i smjernice za praćenje

Prva službena klasifikacija AMR jest izdana 1990.g. od strane ISHLT kada se temeljila na pozivnoj IF na C4d, Cd68 te karakterističnom histološkom nalazu²³. U reviziji 2005.g. definirali su se detaljni histopatološki i imunopatološki kriteriji. Tada jest za definitivnu dijagnozu AMR-a bila potrebna prisutnost kliničkih znakova disfunkcije alografta i/ili prisutnost cirkulirajućih DSA uz karakteristična histopatološka i imunopatološka obilježja bioptata. Nakon izdavanja najnovijih smjernica od strane ISHLT-a 2013.g., prebačen je fokus sa AMR kao kliničke dijagnoze prema patološkoj dijagnozi (pAMR klasifikacija) – Tablica 1.

Prema navedenoj klasifikaciji, AMR se dijeli u tri stupnja (pAMR 0-3). Nulti stupanj (pAMR 0) označava nepostojanje znakova humoralnog odbacivanja. Prvi stupanj dijelimo na pAMR1(H+), koji nam označava isključivo histološki nalaz na EMB bez pozitivnog nalaza na imunofluorescenciji ili imunohistokemiji, te na pAMR1(I+) kod kojeg nema karakterističnog histološkog nalaza, no IF bojanje jest pozitivno na komponente C4d i/ili C3d, ili je bojanje IHC pozitivno na C4d i/ili CD68 biljeg. Drugi stupanj (pAMR 2) karakterizira istovremena prisutnost histoloških i imunopatoloških karakteristika AMR. Treći stupanj jest obilježen karakteristikama drugog stupnja uz nalaz intersticijskih hemoragija, fragmentacija kapilara, piknoze, upalnih infiltrata te naznačen intersticijski edem²³. Usporedba navedenih stupnjeva jest prikazana na Slici 3.

ISHLT smjernice predlažu IF/IHC bojanja bioptata u terminima 2 tjedna, 1., 3., 6., i 12. mjesec nakon transplantacije uz histološku evaluaciju prilikom svake biopsije, te pretragu na DSA u jednakim intervalima kao i za IF/IHC bojanja. Trenutna preporuka jest uzimanje minimalno 4-6 uzoraka biopsije zbog česte mjestimične, fokalne distribucije patoloških karakteristika²³.



Slika 3. Prikaz histoloških preparata EMB svjetlosnim mikroskopom. Prikazani su stadiji pAMR 1[H+], pAMR 2, pAMR 3 u navedenom redosljedju. U sva 3 slučaja, primjećuje se edem endotelnih stanica i prianjanje makrofaga. Ti slučajeви su, sa histološkog gledišta, identični. U primjeru pAMR3 također postoji značajan intersticijski edem i nekrotični debris, što ukazuje na prisustvo većeg kapilarnog oštećenja. Preuzeto od Hammond i Kfoury⁶⁹.

Tablica 1. ISHLT 2013 dijagnostički kriteriji za pAMR, modificirano prema Hammond i Kfoury⁶⁹

	Histopatološke karakteristike	IHC karakteristike	IF karakteristike	Napomene
pAMR 0	Bez sumnji	Bez nalaza	Bez nalaza	-
pAMR 1 (H+)	Edem kapilara endotela; intravaskularna akumulacija makrofaga ili neutrofila; intersticijski edem	Negativna	Negativna	Moguće su blage pozitivnosti bojenja na IHC ili IF no to se ne smatra pozitivnim
pAMR 1 (I+)	Bez karakterističnih obilježja navedeni iznad, mogući samo mjestimični nalazi	Difuzno ili multifokalno intenzivno bojanje kapilara na C4d i CD68	Difuzno ili multifokalno intenzivno bojanje na C4d ili C3d u kapilarama	Pozitivan nalaz na IHC ili IF se smatra dovoljnim
pAMR 2	Edem kapilara endotela; intravaskularna akumulacija makrofaga ili neutrofila; intersticijski edem	Difuzno ili multifokalno intenzivno bojanje kapilara na C4d i CD68	Difuzno ili multifokalno intenzivno bojanje na C4d ili C3d u kapilarama; intenzivno HLA bojanje kapilara	Pozitivan nalaz na IHC ili IF se smatra dovoljnim
pAMR 3	Edem kapilara endotela; intravaskularna akumulacija makrofaga ili neutrofila; intersticijski edem; intravaskularne tromboze; nekroza miocita bez znakova ACR; debris intersticijskog tkiva	Difuzno ili multifokalno intenzivno bojanje kapilara na C4d i CD68; CD31 i CD34 bojanje kapilara prikazuje oštećenje kapilarnog zida ili gubitak kapilara	Difuzno ili multifokalno intenzivno bojanje na C4d ili C3d u kapilarama; slabo ili isprekidano HLA bojanje kapilara; C4d ili C3d bojanje nekrotičnih miocita	Histološke karakteristike jest teško razlikovati od teškog odbacivanja (ISHLT 3R)

6. MIJEŠANO ODBACIVANJE (AMR I ACR)

Ovakav tip odbacivanja srčanog presatka se sve više spominje u literaturi, a definira se kao kombinacija staničnih infiltrata kao u ACR i histopatoloških i/ili imunopatoloških osobina kakve nalazimo kod AMR u bioptatu²³. Prevalencija tzv.

miješanog odbacivanja (engl. mixed rejection) jest nepoznata zbog velikih varijacija između istraživanja, te brojke koje susrećemo u literaturi variraju od 1 – 39%^{25,26,27}. U većem istraživanju Kfoury et al.²⁵ dobivena jest prevalencija miješanog odbacivanja 7.8% (većina biopsija uzetih u analizu su obavljene unutar 90 dana nakon transplantacije).

7. KLINIČKE OSOBITOSTI

7.1. Simptomatsko odbacivanje

Simptomi se najčešće očituju u vidu disfunkcije lijevog ventrikla, prezentiraju se kao dispneja pri naporu i/ili mirovanju, parkosizmalna noćna dispneja, ortopneja, palpitacije i sinkopa. Disfunkciju lijevog ventrikla možemo potvrditi ehokardiografijom kojom možemo uočiti akutni pad sistoličke funkcije ili pogoršanje dijastoličke funkcije srca²⁸. Prvi simptomi također mogu potjecati od strane gastrointestinalnog sustava prvenstveno zbog sekundarne hepatalne kongestije što dovodi do porasta centralnog venskog tlaka te posljedično do mogućeg odgađanja točne dijagnoze zbog traženja ostalih mogućih uzroka takvih simptoma. U slučaju ACR, većina pacijenata sa znakovima odbacivanja srčanog presatka se detektira prilikom rutinske, po protokolu određene biopsije, u vrijeme prije pojave prvih simptoma. Za razliku od ACR, kod AMR do 2013.g. nisu definirane smjernice za rutinske biopsije, te posljedično prava incidencija AMR nije poznata zbog dugog razdoblja neusuglašenosti dijagnostičkih kriterija te nedostatka rutinskih pretraga na AMR. Stoga prema istraživanjima incidencija varira od 3% - 85%^{17,29,30}. Pretpostavlja se da će se sa standardiziranim dijagnostičkim kriterijima i smjericama postransplantacijskog praćenja u daljnjim godinama moći točnije procijeniti prava incidencija AMR.

Prevalencija simptomatskog odbacivanja uzrokovana AMR varira od 10% - 15%, a ako uključimo i rezultate miješanog odbacivanja ta brojka raste i do 40%^{29,31}. Simptomi AMR se pojavljuju ranije u odnosu na ACR, a rizik ponovne pojave jest veći u primatelja koji su doživjeli 3 ili više epizoda AMR unutar prva 3 mjeseca od transplantacije (do ponovnih epizoda AMR dolazi ubrzo nakon prve epizode)^{32,33}. Kasno odbacivanje uzrokovano sa *de novo* DSA jest najčešće povezano sa lošijim ishodom. Većina epizoda AMR su blage težine. Za razliku od ACR, pacijenti sa AMR imaju veći rizik od disfunkcije alografta sa posljedičnom hemodinamskom ugroženošću ili zatajenjem srca³⁴.

7.2. Subkliničko odbacivanje

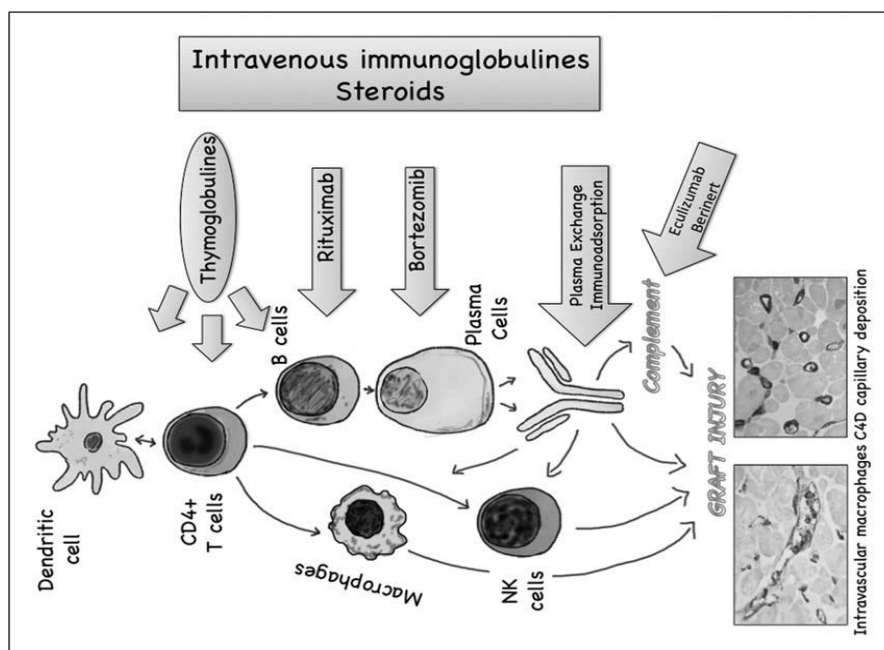
Prema prethodnim ISHLT preporukama dijagnoza AMR jest uključivala postojanje kliničkih simptoma uz na biopsiji prisutne histološke znakove oštećenja kapilara i imunopatološki dokaz pozitivnosti na C4d komponentu komplementa¹⁷. Budući da u više istraživanja pronalazimo izvješća o pronalasku depozita komplementa C4d bez znakova disfunkcije alografta (najviše vezano uz istraživanja u transplantaciji bubrega), uveo se termin subkliničkog AMR³⁵. Za asimptomatske epizode AMR i one koje se javljaju više od 12 mjeseci nakon transplantacije češće pokazuju poboljšanje kod budućih biopsija. Unatoč tome, subklinički AMR ima tendenciju ponavljanja i povezan je sa većim rizikom za CAV³⁶.

Na pitanje da li treba liječiti pacijente koji se prezentiraju subkliničkim AMR, tj. koji nemaju simptome je teško decidirano odgovoriti zbog nedostatka istraživanja. U istraživanju Wu et al³⁷, uspoređene su 3 skupine pacijenata: asimptomatski AMR, simptomatski AMR i kontrolna grupa. Cilj jest bio odgovoriti na pitanje o potrebi liječenja subkliničkog (asimptomatskog) AMR. Rezultati 5-godišnjih preživljenja po skupinama su iznosili 86% za subklinički AMR, 68% za liječeni AMR te 79% za kontrolnu skupinu i nisu bili statistički značajno različiti. No pokazalo se da je kod subkliničkog AMR bio najveći rizik od razvijanja CAV. Također usporedbom mortaliteta između AMR, ACR i miješanog odbacivanja jest utvrđeno da je mortalitet subkliničkog AMR 9% veći od samog ACR te blizak mortalitetu kod miješanog odbacivanja³⁸. Zbog malog broja istraživanja jest teško utvrditi da li jest zaista potrebno liječiti pacijente kod kojih je utvrđen subklinički AMR, no treba i uzeti u obzir da je subklinički AMR povezan sa lošijim ishodom.

8. LIJEČENJE

Dokazi o djelotvornosti liječenja AMR su oskudni te se većina metoda liječenja svodi na iskustva i saznanja iz transplantacija bubrega³⁹. Liječenje se svodi na zaustavljanje imunosno posredovanih oštećenja (uklanjanje cirkulirajućih DSA, supresija T i B limfocita, inhibicija komplementa) i liječenja hemodinamskih problema uzrokovanih srčanom disfunkcijom. Većina korištenih metoda liječenja su prvotno predviđene za liječenje hematoloških bolesti, malignoma te autoimunih bolesti. Koriste se različiti modaliteti liječenja sa svrhom pogađanja određenog stadija patogenetskog

ciklusa AMR (Slika 4.). Za razliku od ACR, optimalna terapija nije striktno definirana, a samim time i razlike terapija između skupina pacijenata sa različitim pAMR stupnjem također nisu definirane. Također, nije provedena ni jedna velika randomizirana studija koja bi evaluirala i usporedila pojedine modalitete liječenja. AMR je često teže liječiti nego ACR, osobito ukoliko se prezentira unutar 6 mjeseci od transplantacije⁴⁰. Standardni immunosupresivni režim za većinu pacijenata nakon transplantacije uključuje inhibitor kalcineurina (ciklosporin ili takrolimus), antiproliferativni lijek (MMF, sirolimus ili everolimus) te oralne kortikosteroide⁴¹. U istraživanju Kobashigawa et al⁴² uspoređen je utjecaj 3 modaliteta liječenja na ishode i incidenciju za bilo koji tip odbacivanja srca. Uspoređene su kombinacije ciklosporina, MMF i steroida u odnosu na kombinaciju takrolimus, MMF, steroidi te kombinaciju takrolimus, sirolimus, steroidi. Istraživanje je obuhvatilo 334 pacijenata. Ustanovljena je najniža incidencija odbacivanja srca uz najbolje ishode u skupini liječenoj kombinacijom sirolimusa i takrolimusa. Zasad nije provedeno istraživanje koje bi usporedilo djelotvornost različitih modaliteta liječenja u slučajevima isključivo humoralnog odbacivanja srca.



Slika 4 – Prikaz pojedinačnih lijekova / postupaka dijelove patogenetskog ciklusa AMR. Preuzeto od Manfrenidi i sur.⁷⁰.

8.1. Kortikosteroidi

Iako mehanizam djelovanja kortikosteroida nije u potpunosti razjašnjen, kortikosteroidi induciraju sintezu I κ B α , a proteina koji zaustavlja transkripciju slobodnog nuklearnog faktora k α B, aktivatora citokinskih gena i medijatora proinflamatorne akcije faktora tumorske nekroze⁴³. Pulsna terapija kortikosteroida se koristi za liječenje staničnog odbacivanja te se tako nastavila koristiti u slučajevima AMR. Koriste se metilprednizolon ili prednizon u svakodnevnoj terapiji u trajanju od tri dana. Budući da sve studije uključuju kortikosteroide kao terapiju nije moguće procijeniti korisnost kortikosteroida te njihov zaseban učinak u odnosu na druge postupke ili lijekove.

8.2. Intravenski imunoglobulini (IVIG)

Intravenski imunoglobulini djeluju tako da blokiraju Fc fragment aloreaktivnih protutijela, inhibiraju komplement, neutraliziraju citokine te smanjenjem broja citokinskih receptora i B-staničnih receptora¹⁷. Iako je samo jedno istraživanje potvrdilo efikasnost IVIG kao terapije za AMR, rutinski se koriste za liječenje AMR. Pet pacijenata sa utvrđenim humoralnim odbacivanjem srca su liječeni kombinacijom plazmafereze i IVIG. U početku jest došlo do poboljšanja hemodinamskih pokazatelja u svih 5 pacijenata, no kasnije je bilo potrebno uvesti rituksimab u terapiju dvoje pacijenata⁴⁴. IVIG se najčešće koriste za liječenje presenzitiziranih pacijenata koji čekaju transplantaciju iako nema provedenih većih randomiziranih istraživanja za procjenu korisnosti IVIG nakon transplantacije za smanjenje incidencije AMR.

8.3. Plazmafereza

Terapijskom plazmaferezom se iz krvi uklanjaju sastojci plazme. Stanični separator odvaja plazmu, a eritrocite, leukocite i trombocite vraća u zamjensku otopinu (svježe smrznuta plazma ili 5% otopina albumina). Plazmaferezom se neselektivno uklanjaju cirkulirajuća antitijela, proteini te citokini. Plazmafereza se koristi kao standardna terapija za AMR iako ne postoje randomizirane studije koje bi potvrđivale njenu djelotvornost¹⁷. Budući da plazmafereza nije dovoljno efikasna u odstranjenju svih citotoksičnih antitijela, mora se koristiti u kombinaciji sa ostalom adjuvantnom imunoterapijom. U istraživanjima vezanim uz transplantaciju bubrega, imunoadsorpcijska plazmafereza se pokazala učinkovitom u uklanjanju anti-HLA

protutijela te se pokazala kao učinkovita monoterapija⁴⁵. Plazmafereza se može koristiti u senzitiviranih pacijenata na transplantacijskoj listi kako bi se smanjila razina DSA povećavajući šanse za pronalazak odgovarajućeg donora. Nedostatak ovog pristupa jest ponovna pojava protutijela ubrzo nakon liječenja povlačeći potrebu za adjuvantnom terapijom. Postoje različiti protokoli za plazmaferezu koji se razlikuju u trajanju i učestalosti primjene. Trajanje liječenja plazmaferezom tako varira od 3 dana do 4 tjedna uz učestalost od dnevne do tjedne primjene²⁹.

8.4. Ekstrakorporalna fotofereza

Ekstrakorporalna fotofereza (EF) jest imunomodulatorna terapija koja se rabi u liječenju kronične reakcije transplantata protiv primatelja. Tijekom postupka, leukaferozom se iz krvi izdvajaju mononuklearne stanice, *ex vivo* im se dodaje 8-metoksipsoralen, stanice se ozrače UVA-zrakama i potom reinfundiraju bolesniku⁶². Mehanizam djelovanja nije potpuno razjašnjen, no smatra se da fotofereza primarno djeluje inhibicijom T limfocita te imunoregulacijom T regulatornih stanica. Za razliku od ostalih imunosupresivnih lijekova, fotofereza ne uzrokuje generaliziranu imunosupresiju¹⁷. Najveća analiza efikasnosti fotofereze jest provedena u istraživanju Barr et al⁴⁶ na uzorku od 60 pacijenata koji su podvrgnuti standardnoj trojnoj imunosupresivnoj terapiji (ciklosporin, azatioprin, prednizon) u kombinaciji sa 24 tretmana fotoferezom. Nakon 6 mjeseci, broj epizoda akutnog odbacivanja srca jest bio značajno niži u odnosu na skupinu kod koje nije korištena fotofereza, bez značajnih razlika u preživljenju u 6. i 12. mjesecu. U navedenom istraživanju pacijenti nisu razvrstani u skupine prema humoralnom i/ili staničnom odbacivanju. Općenito, u literaturi se fotofereza spominje u kontekstu liječenja ACR⁴⁷ te nema istraživanja u kojima se ovaj postupak koristio u liječenju isključivo AMR.

8.5. Antilimfocitni globulini

Antilimfocitni globulini su antitijela sa djelovanjem usmjerenim na limfocite T i timocite. Razlikujemo monoklonalna antitijela čiji je predstavnik muromonab-CD3 te poliklonalna antitijela – antitimocitni globulin (ATG). Anti-CD3 monoklonalno protutijelo (muromonab, OKT3) je mišje monoklonsko protutijelo razreda IgG_{2a}, koje se veže na epsilon-lanac CD3 receptora, uzrokujući modulaciju i imunološku inaktivaciju T

limfocita te njihovu apoptozu. Antitimocitni globulin postoji u 2 formulacije – zečji ATG te konjski ATG. Njihovo korištenje u AMR jest preuzeto iz iskustva u liječenju i/ili profilaksi staničnog odbacivanja⁴⁸. Efikasnost antitimocitnih globulina (ATG) jest proučena u pet istraživanja. Istraživanje Renlund et al⁴⁹ jest usporedilo korištenje OKT3 u odnosu na ATG u 51 pacijenta. U skupini liječenoj sa OKT3 jest bilo manje epizoda srčanog odbacivanja nakon 6 mjeseci. Suprotno, u istraživanju Ladowski et al⁵⁰ na uzorku od 34 pacijenata, manje epizoda odbacivanja jest bilo u skupini liječenoj sa ATG. Macdonald et al⁵¹ su prilikom usporedbe ATG i OKT3 zaključili da nema razlike između korištenja OKT3 i ATG, uz napomenu manjeg broj infekcija i drugih morbiditeta u ATG skupini. Dva istraživanja su usporedila različite forme ATG kao primarnu terapiju. Schnetzler et al⁵² i DeSanto⁵³ u studijama provedenim na 50 te 40 pacijenata nisu utvrdili razliku u incidencijama između terapija zečjim ili konjskim ATGom. Također treba napomenuti da jest postoji zabrinutost da korištenje muromonab-CD3 kao profilakse uzrokuje senzitivizaciju te posljedično AMR u nesenzitiviziranih pacijenata¹⁷. Zaključno, zbog slične djelotvornosti uz manje neželjenih učinaka, preferira se korištenje poliklonalnog zečjeg ATG (rATG).

8.6. Monoklonalna protutijela

8.6.1. Rituksimab

Rituksimab jest monoklonalno protutijelo dobiveno genetičkim inženjeringom, a mehanizam djelovanja jest vezanje na CD20 molekulu limfocita B, čime se koči daljnji razvoj i diferencijacija stanice. Rituksimab jest prvenstveno namijenjen za liječenje B-staničnog ne-Hodgkinovog limfoma. O efikasnosti rituksimaba najviše govori istraživanje Garrett et al⁵⁴, gdje je rituksimab korišten kao monoterapija u 8 pacijenata sa dijagnozom AMR. Nakon 4 tjedna terapije rituksimabom došlo je do normalizacije funkcije lijevog ventrikla uz nestanak histoloških obilježja AMR. Slični rezultate također pokazuju izolirani prikazi slučaja liječenja AMR rituksimabom⁵⁵. U navedenim istraživanjima korišten je standardni režim liječenja rituksimabom, 375 mg/m²/tjedan u trajanju do 4 tjedna. Rituksimab se najčešće koristi u kombinaciji sa ostalim vrstama terapije uključujući kortikosteroide, antilimfocitne globuline, MMF, inhibitore kalcineurina, plazmaferezu te IVIG. Korištenja takvih multiplih režima onemogućava evaluaciju pojedinačne koristi rituksimaba^{17,39}.

8.6.2. Bortezomib

Bortezomib jest molekula koja djeluje kao proteomski inhibitor vezujući se na 26S podjedinicu te direktno djeluje inhibirajući zrele plazma stanice. Bortezomib jest prvenstveno namijenjen za liječenje multiplog mijeloma¹⁷. U literaturi postoji samo jedan prikaz slučaja korištenja bortezomiba kao primarne terapija u slučaju AMR srca. U navedenom slučaju korištena su 2 ciklusa bortezomiba nakon čega jest nastavljena ostala adjuvantna terapija (imunoadsorbcija, metilprednizolon, rituksimab). Nakon 2 ciklusa takve terapije došlo je do povlačenja kliničkih simptoma zatajenja srca, smanjenje razine DSA te nestanka histoloških osobitosti pri ponovnoj biopsiji. Nakon 12 mjeseci nije bilo ponovljene epizode AMR, a od nuspojava značajna jest jedino blaga hematotoksičnost⁵⁶. Nekoliko drugih primjera korištenja bortezomiba u liječenju AMR se odnose na druge organe, ponajviše u transplantaciji bubrega sa obećavajućim rezultatima^{17,57,58}. Također, bortezomib se pokazao učinkovitim u smanjenju razine DSA klase I u pacijenata sa AMR, za razliku od klase II sa značajno slabijim rezultatima⁵⁹.

8.6.3. Eculizumab

Eculizumab jest indiciran za liječenje paroksizmalne noćne hemoglobinurije te za atipični hemolitičko-uremični sindrom, no zbog mehanizma djelovanja je korišten kao terapija u AMR. Eculizumab je monoklono protutijelo koje se specifično veže na protein komplementa C5 visokim afinitetom, blokirajući cijepanje na podjedinice C5a i C5b podjedinice. Podjedinica C5b sudjeluje u formiranju MAC (engl. Membrane Attack Complex, C5b-C9) koji destruktivno djeluje na stanicu. C5a podjedinica jest potentan imunomodulator koji sudjeluje u kemotaksiji, produkciji citokina te oštećenjima vezanim uz ishemiju. Budući da djeluje na terminalne komponente, ranije komponente komplementa ostaju funkcionalne (posebice C3b komponenta) te antimikrobna opsonizacija ostaje očuvana^{17,60}. Eculizumab ima potencijal da efektivno inhibira oštećenja posredovana komplementom u AMR no bez supresije mogućnosti odgovora imunskog sustava na mikrobnu infekciju. Većina saznanja o djelovanju eculizumaba u liječenju AMR dolazi iz područja istraživanja u transplantaciji bubrega. Korišten u kombinaciji sa ostalim immunosupresivnim lijekovima, pokazao se kao efikasna terapija u liječenju AMR bubrega⁶¹. Dosad nije provedena ni jedna studija liječenja AMR srčanog

presatka eculizumabom te stoga nije moguće procijeniti stvarnu djelotvornost eculizumaba u liječenju AMR srca.

8.7. Mikofenolat mofetil

Mikofenolat mofetil (MMF) polusintetski je derivat mikolične kiseline izolirane iz plijesni *Penicillium glaucus*. MMF inhibira odgovor limocita T i B na stimulaciju antigenom ili u reakciji miješanih limfocita, inhibicijom *de novo* sinteze purina⁶². Koristi se u kombinaciji s drugim immunosupresivima (prednizon, ciklosporin ili takrolimus). Izraženi antiproliferativni učinak pomaže u prevenciji ili ublažavanju CAV nakon transplantacije srca. Mikofenolat mofetil jest pokazao prednost u pacijenata u odbacivanju srca u kojih je uveden kao zamjena za azatioprin⁶³. Multicentrična klinička analiza⁶⁴ uspoređujući efikasnost mikofenolat mofetila u odnosu na azatioprin (oba primjenjena u kombinaciji sa ciklosporinom te kortikosteroidima) na uzorku od 650 pacijenata sa srčanim presatkom jest ustvrdila da je nakon 12 mjeseci došlo do značajne redukcije mortaliteta (6.2% u odnosu na 11.4%). Ne postoje studije koje procjenjuju korisnost liječenja MMF-om u slučaju AMR srčanog presatka.

8.8. Ciklofosfamid

Ciklofosfamid je alkilirajuća tvar i jedan od najdjelotvornijih postojećih immunosupresiva. Djeluje tako da uništava dijeleće limfoidne stanice, ali i alkilira neke mirujuće stanice⁶². Immunosupresijski učinak ciklofosfamida temelji se na činjenici da ciklofosfamid inhibira djelovanje B-stanica i CD4 T-stanica, a u manjem opsegu koči učinak CD8 T-stanica. U istraživanju Grauhan et al⁶⁵ o utjecaju liječenja AMR srca plazmaferezom i ciklofosfamidom provedenom na uzorku od 18 pacijenata, ustanovljena jest značajna korisnost plazmafereze u liječenju no ciklofosfamid se pokazao kao loša terapija održavanja. U retrospektivnoj studiji na uzorku od 37 pacijenata (13 sa ranom pojavom AMR, 24 sa kasnom AMR) su također liječeni plazmaferezom i ciklofosfamidom u slučaju prvih epizoda AMR, a u ponovljenim epizodama su u protokol uključeni i IVIG. Kasnije je u protokol dodan i rituksimab. Preživljenje nakon 12 mjeseci jest bilo jednako u obje skupine pacijenata i iznosilo 78%¹⁷. Ciklofosfamid se uvijek koristi u kombinaciji sa drugim lijekovima te je nemoguće na temelju trenutnih dokaza procijeniti stvaran značaj ciklofosfamida u liječenju AMR, no na temelju sistematskih

istraživanja u domeni AMR kod transplantacije bubrega, ciklofosamid se pokazuje kao sigurna i efektivna terapija⁶⁶.

9. KADA LIJEČITI AMR?

Uvođenjem novih ISHLT smjernica 2013.g. i definiranja odbacivanja srca kao primarno patološke dijagnoze, a ne kliničku, definirao se novi problem: da li treba liječiti asimptomatske pacijente sa patološkim nalazom biopsije? Kao što je ranije spomenuto, liječenje takvog subkliničkog odbacivanja ostaje neodgovoreno pitanje. Korisnost liječenja u toj fazi nije definirana, no jasno jest da je subklinički AMR samo početna („tiha“) faza cirkulirajućih protutijela sa mogućim histološkim oštećenjima te da nakon varirajućeg razdoblja progredira u odbacivanje sa kliničkim simptomima^{17,67}. Također, nepoznata jest potreba za liječenjem stadija pAMR2 (istovremena prisutnost imunoloških i histoloških osobitosti AMR) ukoliko nema kliničkih simptoma, no istraživanja potvrđuju lošiju prognozu u slučaju pAMR3, te se smatra da bi se taj stadij trebao liječiti čak i ako jest pacijent asimptomatski¹⁷. Nije definiran striktan protokol liječenja zbog nedostatka podržavajućih dokaza. U anketi među kardiolozima članovima ISHLT, utvrđeno jest da bi većina liječila AMR u slučaju znakova disfunkcije presatka bez obzira na imunohistološke rezultate, pAMR2 samo ako su prisutna DSA, a pAMR3 bez obzira na kliničku sliku⁶⁸. Sažetak mogućih terapija sa prikazom doza, frekvencijom i trajanjem primjene jest prikazan u Tablici 2.

Tablica 2. Mogućnosti liječenja AMR, modificirano prema Hammond i Kfoury⁷⁰

	Doza	Frekvencija	Trajanje	Nuspojave
Plazmafereza (PF)	1-2 izmjene plazme	Dnevno Svaki drugi dan 3x tjedno Jednom tjedno	3 – 5 dana 1 – 2 tjedna 1 – 4 tjedna 2 – 4 tjedna	Hipotenzija, krvarenje, infekcije koje se prenose krvlju
IV Imunoglobulini	100 – 1000 mg/kg	1 – 3x tjedno, često nakon PF	1 – 4 tjedna	Glavobolja, vrućica, tromboza, aseptički meningitis, akutno zatajenje bubrega
Rituksimab	375 mg/m ²	1x tjedno	1 – 4 tjedna	Vrućica, osip, leukopenija, infekcije, mučnina
Bortezomib	1.3 mg/m ²	Svakih 3 – 5 dana	4 doze (2 – 4 tjedna)	GI toksičnost, trombocitopenija, neutropenija, periferna neuropatija
Ecilizumab	600 – 900 mg	1x tjedno	1 – 4 tjedna	GI toksičnost, nazofaringitis, anemija, glavobolja, leukopenija
Metilprednizolon	250 – 1000 mg	Svakodnevno	3 dana	Zadržavanje tekućine,
Prednizon	1 – 3 mg/kg	Svakodnevno	3 – 5 dana	hiperglikemija, osteoporoza, hipertenzija
Antitimocitni globulin (zečji)	0.75 – 1.5 mg/kg	Svakodnevno ili svaki drugi dan	5 – 14 dana	Vrućica, hipotenzija, dispneja, trombocitopenija

10. ZAKLJUČAK

Humoralno odbacivanje (AMR) jest značajan klinički entitet u transplantaciji srca. Kriteriji za dijagnozu su 2013. godine bolje definirani što bi u trebalo značajno pomoći u procjeni stvarne prevalencije i incidencije humoralnog odbacivanja, no optimalno liječenje ostaje nerazjašnjeno. Humoralno odbacivanje ostaje prema kriterijima primarno patološka dijagnoza, a potrebno je i definirati optimalnu učestalost nadzora na AMR te definirati značaj DSA te novih, neinvazivnih metoda nadzora nad AMR. Nema provedenih kontroliranih ispitivanja za humoralno odbacivanje te sve navedene mogućnosti liječenja proizlaze iz iskustva iz područja transplantacije bubrega, raznih prikaza slučajeva, modaliteta liječenja korištenih za akutno stanično odbacivanje te rijetkih kliničkih studija procjena metoda liječenja specifično usmjerenog na humoralno odbacivanje. Navedene terapijske opcije su korisne iz praktične i edukacijske perspektive, no nedostatak striktnih smjernica ukazuje na potrebu za daljnjim istraživanjima kako bi se ustanovili optimalni modaliteti liječenja utemeljenog na dokazima. Također, potrebno je definirati terapijske smjernice za pojedinačne stadije humoralnog odbacivanja, te razriješiti problematiku liječenja subkliničkog humoralnog odbacivanja. Istraživanja pokazuju da je AMR dugoročno povezano sa većim rizikom razvoja CAV te posljedične hemodinamske ugroženosti. Kako je CAV glavni limitirajući faktor dugoročnog preživljenja, postavlja se pitanje da li bi rano liječenje AMR moglo spriječiti nastanak CAV ili ublažiti njegove posljedice?

11. LITERATURA

1. Veinot JP. Diagnostic endomyocardial biopsy--still useful after all these years. *Can J Cardiol.* 2009 Feb. 25(2):e55-6
2. Patel JK, Kobashigawa JA. Improving survival during heart transplantation: diagnosis of antibody-mediated rejection and techniques for the prevention of graft injury. *Future Cardiol.* 2012 Jul. 8(4):623-35
3. Billingham ME, Cary NR, Hammond ME, Kemnitz J, Marboe C, McCallister HA, Snovar DC, Winters GL, Zerbe A. A working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart and lung rejection: Heart Rejection Study Group: the International Society for Heart Transplantation. *J Heart Transplant.* 1990;9:587–593
4. Reed EF, Demetris AJ, Hammond E et al. Acute antibody-mediated rejection of cardiac transplants. *J. Heart Lung Transplant.* 25(2), 153–159 (2006)
5. Arnaoutakis GJ, George TJ, Kilic A et al. Effect of sensitization in US heart transplant recipients bridged with a ventricular assist device: update in a modern cohort. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 142(5), 1236.e1–1245.e1, (2011)
6. George I, Colley P, Russo MJ et al. Association of device surface and biomaterials with immunologic sensitization after mechanical support. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 135(6), 1372–1379 (2008)
7. Martin-Gandul C, Mueller NJ, Pascual M, Manuel O. The impact of infection on chronic allograft dysfunction and allograft survival after solid organ transplantation. *Am J Transplant* 2015; 15:3024–3040
8. Colvin RB, Smith RN. Antibody-mediated organ-allograft rejection. *Nat Rev Immunol.* 2005;5:807–17
9. Baldwin MW 3rd, Kasper KE, Zachary AA, et al. Beyond C4d: other complement related diagnostic approaches to antibody-mediated rejection. *Am J Transplant.* 2004; 4:311–8.
10. Morrell NC, Murata K, Swaim MA, et al. In vivo platelet endothelial interactions in response to major histocompatibility complex antibody. *Circ Res.* 2008; 102:777–85
11. Zhang X, Reed FE. Effect of antibodies on endothelium. *Am J Transplant.* 2009; 9:2459–65.

12. Mangiola M, Marrari M, Feingold B, Zeevi A. Significance of Anti-HLA Antibodies on Adult and Pediatric Heart Allograft Outcomes. *Frontiers in Immunology*. 2017;8:4
13. Picascia A, Grimaldi V, Casamassimi A, De Pascale MR, Schiano C, Napoli C. Human leukocyte antigens and alloimmunization in heart transplantation: an open debate. *J Cardiovasc Transl Res* (2014) 7(7):664
14. Smith JD, Banner NR, Hamour IM, Ozawa M, Goh A, Robinson D, et al. De novo donor HLA-specific antibodies after heart transplantation are an independent predictor of poor patient survival. *Am J Transplant* (2011) 11(2):312
15. Hodges AM, Lyster H, McDermott A, Rice AJ, Smith JD, Rose ML, et al. Late antibody-mediated rejection after heart transplantation following the development of de novo donor-specific human leukocyte antigen antibody. *Transplantation* (2012) 93(6):650
16. Ho EK, Vlad G, Vasilescu ER, de la Torre L, Colovai AI, Burke E, et al. Pre- and posttransplantation allosensitization in heart allograft recipients: major impact of de novo alloantibody production on allograft survival. *Hum Immunol* (2011) 72(1):5
17. Colvin M, Cook J, Chang P, et al. Antibody-mediated rejection in cardiac transplantation: emerging knowledge in diagnosis and management. *Circulation* 2015; 131:1608–1639
18. Sachdeva R, Malik S, Seib PM, Frazier EA, Cleves MA. Doppler tissue imaging and catheter-derived measures are not independent predictors of rejection in pediatric heart transplant recipients. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2011;27:947–954.
19. Hunt SA, Haddad F. The changing face of heart transplantation. *J Am Coll Cardiol*. 2008 Aug 19. 52(8):587-98
20. Lones MA, Czer LS, Trento A, Harasty D, Miller JM, Fishbein MC. Clinical-pathologic features of humoral rejection in cardiac allografts: a study in 81 consecutive patients. *J Heart Lung Transplant* 1995;14:151-62
21. Ratliff NB, McMahon JT. Activation of intravascular macrophages within myocardial small vessels is a feature of acute vascular rejection in human heart transplants. *J Heart Lung Transplant* 1995;14:338-45

22. Stewart S, Winters G, Fishbein M, Tazelaar H, Kobashigawa J, Abrams J, Andersen C, Angelini A, Berry G, Burke MM, Demetris AJ, Hammond E, Itescu S, Marboe CC, McManus B, Reed EF, Reinsmoen NL, Rodriguez ER, Rose AG, Rose M, Suciú-Focia N, Zeevi A, Billingham ME. Revision of the 1990 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart rejection. *J Heart Lung Transplant*. 2005;24:1710–1720
23. Berry GJ, Burke MM, Andersen C, Bruneval P, Fedrigo M, Fishbein MC, Goddard M, Hammond EH, Leone O, Marboe C, Miller D, Neil D, Rassl D, Revelo MP, Rice A, Rene Rodriguez E, Stewart S, Tan CD, Winters GL, West L, Mehra MR, Angelini A. 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. *J Heart Lung Transplant*. 2013;32:1147–1162.
24. Hammond ME, Stehlik J, Snow G, et al. Utility of histologic parameters in screening for antibody-mediated rejection of the cardiac allograft: a study of 3,170 biopsies. *J Heart Lung Transplant* 2005;24:2015-21
25. Kfoury AG, Miller DV, Snow GL, et al. Mixed cellular and antibody-mediated rejection in heart transplantation: in-depth pathologic and clinical observations. *J Heart Lung Transplant* 2016; 35:335–341.
26. Fedrigo M, Feltrin G, Frigo A, et al. Mixed acute cellular rejection and antibody-mediated rejection in heart transplantation: a retrospective study in a single transplant center. *J Heart Lung Transpl* 2014; 33; Abstract S113
27. Tan C, Askar M, Rodriguez E. Mixed rejection is a low frequency event and not just cellular rejection and C4d deposition in the cardiac allograft. *J Heart Lung Transpl* 2014; 33; Abstract S113
28. Gill EA, Borrego C, Bray BE, et al. Left ventricular mass increases during cardiac allograft vascular rejection. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25:922–926
29. Crespo-Leiro MG, Veiga-Barreiro A, Doménech N, Paniagua MJ, Piñón P, González-Cuesta M, Vázquez-Martul E, Ramirez C, Cuenca JJ, CastroBeiras A. Humoral heart rejection (severe allograft dysfunction with no signs of cellular rejection or ischemia): incidence, management, and the value of C4d for diagnosis. *Am J Transplant*. 2005;5:2560–2564

30. Kfoury A, Hammond M, Snow G, Drakos S, Stehlik J, Fisher P, Reid B, Everitt M, Bader FM, Renlund DG. Cardiovascular mortality among heart transplant recipients with asymptomatic antibody-mediated or stable mixed cellular and antibody-mediated rejection. *J Heart Lung Transplant*. 2009;28:781–784.
31. Kfoury AG, Hammond ME, Snow GL, et al. Cardiovascular mortality among heart transplant recipients with asymptomatic antibody-mediated or stable mixed cellular and antibody-mediated rejection. *J Heart Lung Transplant* 2009; 28:781–784
32. Michaels PJ, Espejo ML, Kobashigawa J, et al. Humoral rejection in cardiac transplantation: risk factors, hemodynamic consequences and relationship to transplant coronary artery disease. *J Heart Lung Transplant* 2003; 22:58–69.
33. Kfoury AG, Stehlik J, Renlund DG, et al. Impact of repetitive episodes of antibody-mediated or cellular rejection on cardiovascular mortality in cardiac transplant recipients: defining rejection patterns. *J Heart Lung Transplant* 2006; 25:1277–1282.
34. Hammond ME, Kfoury AG. Antibody-mediated rejection in the cardiac allograft: diagnosis, treatment and future considerations. *Curr Opin Cardiol*. 2017;
35. Loupy A, Suberbielle-Boissel C, Hill G, Lefaucheur C, Anglicheau D, Zuber J, Martinez F, Thervet E, Méjean A, Charron D, Duong van Huyen JP, Bruneval P, Legendre C, Nochy D. Outcome of subclinical antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients with preformed donor specific antibodies. *Am J Transplant*. 2009;9:2561–2570.
36. Kfoury AG, Snow GL, Budge D, et al. A longitudinal study of the course of asymptomatic antibody-mediated rejection in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2012; 31:46–51
37. Wu G, Kobashigawa J, Fishbein M, Patel J, Kittleson M, Reed E, Kiyosaki K, Ardehali A. Asymptomatic antibody-mediated rejection after heart transplantation predicts poor outcomes. *J Heart Lung Transplant*. 2009;28:417–422
38. Kfoury AG, Renlund DG, Snow GL, Stehlik J, Folsom JW, Fisher PW, Reid BB, Clayson SE, Gilbert EM, Everitt MD, Bader FM, Singhal AK, Hammond ME. A clinical correlation study of severity of antibody mediated rejection and cardiovascular mortality in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2009;28:51–57
39. Kobashigawa J, Crespo-Leiro MG, Ensminger SM, et al. Report from a

consensus conference on antibody-mediated rejection in heart transplantation.

J Heart Lung Transplant 2011; 30:252–269.

40. Michaels PJ, Espejo ML, Kobashigawa J et al. Humoral rejection in cardiac transplantation: risk factors, hemodynamic consequences and relationship to transplant coronary artery disease. *J. Heart Lung Transplant.* 22(1), 58–69 (2003).

41. Christie JD, Edwards LB, Aurora P, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-sixth official adult lung and heart-lung transplantation report–2009. *J Heart Lung Transplant.* 2009; 28:1031–49

42. Kobashigawa JA, Miller LW, Russell SD, et al. Tacrolimus with mycophenolate mofetil (MMF) or sirolimus vs. cyclosporine with MMF in cardiac transplant patients: 1-year report. *Am J Transplant.* 2006; 6:1377–86

43. Auphan N, DiDonato JA, Rosette C, et al. Immunosuppression by glucocorticoids: inhibition of NF-kappa B activity through induction of I kappa B synthesis. *Science* 1995; 270:286

44. Rodriguez ER, Skojec DV, Tan CD, et al. Antibody-mediated rejection in human cardiac allografts: evaluation of immunoglobulins and complement activation products C4d and C3d as markers. *Am J Transplant.* 2005; 5:2778–85

45. Bohmig GA, Regele H, Exner M et al. C4d-positive acute humoral renal allograft rejection: effective treatment by immunoadsorption. *J. Am. Soc. Nephrol.* 12(11), 2482–2489 (2001).

46. Barr M, Baker C, Schenkel F, McLaughlin S, Stouch B, Starnes V, Rose E.

Prophylactic photopheresis and chronic rejection: effects on graft intimal hyperplasia in cardiac transplantation. *Clin Transplant.* 2000;14:162–166.

47. Dall'Amico R, Livi U, Milano A, Montini G, Andretta B, Murer L, Zacchello G, Thiene G, Casarotto D, Zacchello F. Extracorporeal photochemotherapy as adjuvant treatment of heart transplant recipients with recurrent rejection. *Transplantation.* 1995;60:45–49.

48. Loupy A, Cazes A, Guillemain R, Amrein C, Hedjoudje A, Tibile M, Pezzella V, Fabiani JN, Suberbielle C, Nochy D, Hill GS, Empana JP, Jouven X, Bruneval P, Duong Van Huyen JP. Very late heart transplant rejection is associated with microvascular injury, complement deposition and progression to cardiac allograft vasculopathy. *Am J Transplant.* 2011;11:1478–1487.

49. Renlund DG, O'Connell JB, Gilbert EM, et al. A prospective comparison of murine monoclonal CD-3 (OKT3) antibody-based and equine antithymocyte globulin-based rejection prophylaxis in cardiac transplantation. Decreased rejection and less corticosteroid use with OKT3. *Transplantation*. 1989; 47:599–605.
50. Ladowski JS, Dillon T, Schatzlein MH, et al. Prophylaxis of heart transplant rejection with either antithymocyte globulin-, Minnesota antilymphocyte globulin-, or an OKT3-based protocol. *J Cardiovasc Surg (Torino)*. 1993; 34:135–40.
51. Macdonald PS, Mundy J, Keogh AM, et al. A prospective randomized study of prophylactic OKT3 versus equine antithymocyte globulin after heart transplantation—increased morbidity with OKT3. *Transplantation*. 1993; 55:110–6.
52. Schnetzler B, Leger P, Völp A, et al. A prospective randomized controlled study on the efficacy and tolerance of two antilymphocytic globulins in the prevention of rejection in first-heart transplant recipients. *Transpl Int*. 2002; 15:317–25.
53. De Santo LS, Della Corte A, Romano G, et al. Midterm results of a prospective randomized comparison of two different rabbit-antithymocyte globulin induction therapies after heart transplantation. *Transplant Proc*. 2004; 36:631–7.
54. Garrett HE Jr, Duvall-Seaman D, Helsley B, Groshart K. Treatment of vascular rejection with rituximab in cardiac transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2005;24:1337–1342.
55. Aranda JM, Scornik JC, Normann SJ, et al. Anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) therapy for acute cardiac humoral rejection: a case report. *Transplantation*. 2002;73(6):907-10.
56. Gazdic T, Svobodova E, Kubanek M, et al. Bortezomib-containing regimen for primary treatment of early antibody-mediated cardiac allograft rejection: a case report. *Prog Transplant*. 2015;25(2):147-52.
57. Everly MJ, Everly JJ, Susskind B et al. Bortezomib provides effective therapy for antibody- and cell-mediated acute rejection. *Transplantation* 86(12), 1754–1761 (2008).
58. Tzvetanov I, Spaggiari M, Joseph J, et al. The use of bortezomib as a rescue treatment for acute antibody-mediated rejection: report of three cases and review of literature. *Transplant Proc*. 2012;44(10):2971-5.

59. Khuu T, Cadeiras M, Wisniewski N, Reed EF, Deng MC. Reduced HLA Class II antibody response to proteasome inhibition in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* (2015) 34(6):863–5.10.1016/j.healun.2015.01.982
60. Eskandary F, Wahrman M, Mühlbacher J, Böhmig GA. Complement inhibition as potential new therapy for antibody-mediated rejection. *Transpl Int*. 2016;29(4):392-402.
61. Stegall MD, Diwan T, Raghavaiah S, Cornell LD, Burns J, Dean PG, Cosio FG, Gandhi MJ, Kremers W, Gloor JM. Terminal complement inhibition decreases antibody-mediated rejection in sensitized renal transplant recipients. *Am J Transplant*. 2011;11:2405–2413
62. Lake DF, Briggs AD, Akporiaye ET. *Imunologija*. U: Trkulja V, Klarica M, Salkovic-perisic Melita, ur. *Temeljna i klinička farmakologija*. Medicinka naklada; 2011. Str. 963-86
63. Renlund DG, Gopinathan SK, Kfoury AG, Taylor DO. Mycophenolate mofetil (MMF) in heart transplantation: rejection prevention and treatment. *Clin Transplant* 1996; 10:136
64. Kobashigawa J, Miller L, Renlund D, et al. A randomized active-controlled trial of mycophenolate mofetil in heart transplant recipients. *Mycophenolate Mofetil Investigators. Transplantation* 1998; 66:507.
65. Grauhan O, Knosalla C, Ewert R, et al. Plasmapheresis and cyclophosphamide in the treatment of humoral rejection after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2001;20(3):316-21.
66. Waiser J, Duerr M, Budde K, et al. Treatment of Acute Antibody-Mediated Renal Allograft Rejection with Cyclophosphamide. *Transplantation*. 2016;
67. Nair N, Ball T, Uber PA, Mehra MR. Current and future challenges in therapy for antibody-mediated rejection. *J Heart Lung Transplant*. 2011;30:612–617.
68. Chih S, Tinckam KJ, Ross HJ. A survey of current practice for antibody-mediated rejection in heart transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13:1069–1074.
69. Hammond ME, Kfoury AG. Antibody-mediated rejection in the cardiac allograft: diagnosis, treatment and future considerations. *Curr Opin Cardiol*. 2017;
70. Manfredini V, Leone O, Agostini V, Potena L. Antibody-mediated rejection in heart transplantation: new developments and old uncertainties. *Curr Opin Organ Transplant*. 2017;22(3):207-214.

12. ZAHVALE

Zahvaljujem se mentoru doc. dr. sc. Bošku Skoriću na savjetima, pomoći i strpljenju tijekom pisanja ovog rada. Hvala i mojoj obitelji i prijateljima na podršci i razumijevanju tijekom studiranja.

13. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 14.08.1992. godine u Varaždinu, Republika Hrvatska. Odrastao sam u Punikvama sa svojim roditeljima i sestrama. Školovanje sam započeo 1999. godine u osnovnoj školi „Ivan Kukuljević Sakcinski“ u Ivancu. Godine 2007. upisao sam se u srednju školu Ivanec, smjer opća gimnazija. Polaganjem ispita državne mature stekao sam srednju stručnu spremu. Potom sa upisao Medicinski fakultet u Zagrebu, generacija 2011./12. na temelju uspjeha na državnoj maturi i prijamnom ispitu. Tijekom fakulteta bio sam član studentske udruge CROMSIC, bio demonstrator na propedeutici te sudjelovao u izradi informatičkog sustava za nabavu medicinske opreme. Fakultet sam završio 2017. godine.