Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Szemészeti Klinika (igazgató: Berta András)[1] és a Debreceni Regionális Vérellátó Központ (igazgató: Medgyessy Ildikó)[2] közleménye

HLA-tipizált corneák beültetésével szerzett tapasztalatok

MÓDIS LÁSZLÓ,[1] TÓTH ENIKŐ,[1] STENSZKY VALÉRIA,[2] BERTA ANDRÁS[1]

Célkitűzés: *Adott mértékű HLA- (human leukocita-A) antigénegyezés transzplantátum túlélésre kifejtett hatásának vizsgálata.*
Betegek és módszerek: *Keratoplasztikás várólistán szereplő betegek és párhuzamosan multiorgan donorok HLA-tipizálását végeztük. Irodalmi adatok alapján a HLA-A, -B és HLA-DR antigének allélpárjainak egyezését figyelembe véve választottuk ki a betegeket és végeztük el a perforáló keratoplasztikát. A 18 hónapos követési idő alatt rögzítettük a látásélességet és a transzplantátum állapotát (átlátszóságát).*
Eredmények: *18 esetben magas, 5 esetben alacsony rizikócsoportba tartozó betegekbe transzplantáltunk HLA-tipizált corneát. Mindkét prognosztikai csoportban az átlagos látásélesség szignifikáns javulását tapasztaltuk (p=0,001 és p=0,04). Irreverzíbilis immunológiai rejekció nem fordult elő, a transzplantátumok tiszták maradtak.*
Következtetések: *Megerősíthetjük, hogy a HLA-antigének egyezése pozitív hatással lehet mind a magas, mind a normál rizikócsoportba tartozó transzplantátumok életképességére, túlélésére.*
Kulcsszavak: *HLA-tipizálás, keratoplastica, magas rizikójú prognosztikai csoport*

Experiences with the transplantaion of HLA matched corneal grafts

Aim: *To examine the effect of certain HLA matching on corneal transplants survival.*
Patients and methods: *HLA matching of patients on the keratoplasty waiting list and also of multiorgan donors were performed. Based on published data, matching of HLA-A, B and HLA-DR antigen alleles were considered during patient selection and then keratoplasty was performed. Visual acuity and corneal transparency were recorded during the 18 months follow-up.*
Results: *HLA matched corneal transplantation was performed in 18 high-risk cases and in 5 normal-risk cases. In both groups significant improvement of mean visual acuity was noted (p=0.001 and p=0.04). Irreversible immunologic reaction did not occur and the transplants remained transparent.*
Conclusions: *We can confirm, that HLA matching has a positive effect on the viability and survival of either high- or normal-risk grafts.*
Key words: *HLA matching, keratoplasty, high risk prognostic group*

Nemrég ünnepelte a világ szemésztársadalma az első sikeres humán szaruhártya-átültetés centenáriumát, ám a keratoplasztikák műtéti kimenetelének sikerességében nagy változások nem történtek. A precíz műtéti technikák elsajátítása és a korszerű műszerek használata mellett alkalmazott immunszuppresszív terápia ellenére is a kialakuló fő problémát a transzplantátumok kilökődése okozza. A medicina más területein történő transzplantációk sikerességének pozitív változása mellett elgondolkodtató, hogy miért éppen a szaruhártya, amelyet immunológiai privilégium helyzetében lévő szövetnek tekintünk, túlélési görbéje nem változott jelentősen az elmúlt évszázad alatt. A transzplantátumok 10 éves túlélése átlagosan csak mintegy 60%-ra tehető.[3] Számos keratoplastica regiszterben a műtéti indikáció tekintetében az ismételt átültetések az első, vagy előkelő helyen szerepelnek.[4,6,16]

Szerv- és szövetátültetések esetében általánosan ismert és elfogadott tény, hogy a donor és a recipiens HLA (humán leukocita-A) antigénjeinek egyezése elősegíti a transzplantátumok túlélését, a keratoplastica esetében azonban az egyezés szükségessége még ma is vitatott. Azonos vagy közel azonos HLA-típusú szaruhártyaszövetek beültetése esetén a kilökődési reakciók száma sok esetben jelentősen csökkent, ám ellentmondásos eredmények is születtek. Ezen ellentmondás elsősorban az USA-ban és az Európában végzett műtétek eredményére vonatkozik, és a legfőbb oka a HLA-tipizálási módszerek különbözőségében keresendő.[1-3,10,11,18] Újabban azt is kimutatták, hogy a HLA-antigének egyezése nemcsak a magas, hanem a normál rizikójú prognosztikai csoportban is pozitív hatással van a beültetett transzplantátum életképességére.[7,8]

Célunk az volt, hogy a Debreceni Szemklinikán néhány éve bevezetett módszer révén a donor és recipiens HLA-antigénjeinek adott mértékű egyezésének transzplantátumokra kifejtett hatását tanulmányozzuk.

Betegek és módszerek

HLA-antigén-tipizálás

A keratoplastica lehetséges kimenetele szempontjából elsősorban a magas rizikócsoportba tartozó betegeket választottuk ki a Debreceni Szembank várólistájáról. A betegek HLA-tipizálását a műtét előtt végeztük el a korábban leírtak szerint; a HLA I. antigének meghatározását szerológiai, a

HLA II. antigénekét PCR DNS-SSP technikával.[15] Ugyanakkor a Debreceni Regionális Vérellátó Központ folyamatosan végezte a multiorgan donorok HLA-típusának meghatározását.

Donor corneák

Közvetlenül az *in situ* corneoscleralis excisiót követően minden transzplantátumot Optisol-GS (Bausch&Lomb, USA) konzerválómédiumba helyeztünk, és felhasználásig +4 ºC-on tároltunk. A műtétek átlagosan 5,6 nappal az excisio után történtek.

Várólistán szereplő betegek behívása HLA-antigén-egyezés alapján

Irodalmi adatok alapján az MHC I. osztályba tartozó HLA-A, -B és az MHC II. osztályba tartozó HLA-DR antigének lokuszpárjainak egyezését vettük figyelembe.[9,17,18]

Az adatok feldolgozása és egyeztetése után az a beteg került behívásra, akinél nagyobb fokú HLA-egyezést találtunk.

Klinikai vizsgálatok

A perforáló keratoplasztikát standard technika szerint, helyi érzéstelenítésben végeztük. Négy, pozíciós varrat behelyezése után 16 kacsos tovafutó varratsorral rögzítettük a donor corneát. Műtét után minden beteg lokális antibiotikum- és kortikoszteroidterápiában részesült. A magas rizikójú csoportba tartozó betegeknél szisztémás kortikoszteroidterápiát is alkalmaztunk, ennek dózisát a testsúlykilogramm alapján számítottuk ki. Rutin szemészeti kontrollvizsgálatokat a műtét után 1 héttel, majd 1, 3, 6, 12, 18 hónappal végeztünk. A tanulmányban a látásélességet, a transzplantátum állapotát (átlátszóságát) rögzítettük, illetve dolgoztuk fel.

A statisztikai feldolgozáshoz a Wilcoxon-próbát használtuk.

Eredmények

A 30 agyhalott donorból (16 nő és 14 férfi, átlagéletkor 43,9±7,6 év) származó 60, ismert HLA-antigenitású szaruhártyából 23 corneát sikerült előzetesen tipizált betegbe (15 nő és 8 férfi, átlagéletkor 59,13±10,7 év) ültetni.

1. táblázat. *HLA-tipizált beültetések klinikai szempontból fontos adatai*

Nr.	Diagnózis	Preoperatív visus	Posztoperatív visus (18 hó)	HLA-egyezés	Megjegyzés
Magas rizikó					
1.	Rekeratoplastica	0,02	0,30	4	
2.	Rekeratoplastica	0,20	0,55	2	
3.	Rekeratoplastica	0,02	0,02	2	
4.	Rekeratoplastica	fé	0,01	2	Rejekció
5.	Rekeratoplastica	fé	0,01	2	
6.	Rekeratoplastica	0,01	0,20	1	
7.	Rekeratoplastica	0,06	1,00	1	Rejekció
8.	Rekeratoplastica	0,01	0,06	1	
9.	Rekeratoplastica	0,01	0,01	+	Mészdegeneráció
10.	Rekeratoplastica	fé	fén	+	Külső fertőzés
11.	Rekeratoplastica	0,01	0,50	+	
12.	Erezett macula, HSV	0,03	0,04	3	
13.	Erezett macula, HSV	0,01	0,25	1	
14.	Erezett macula, HSV	fé	0,10	+	
15.	Erezett macula, HSV	0,01	0,80	+	
16.	Perforatio corneae	0,10	0,25	4	Rejekció
17.	Perforatio corneae	fé	0,01	4	
18.	Leucoma corneae	0,20	0,30	+	
	Összesen	0,02±0,06	0,25±0,2*		
Alacsony rizikó					
19.	Fuchs-disztrófia	0,03	0,3	2	Cataracta opus után
20.	Keratoconus	0,08	0,7	+	
21.	Keratopathia bullosa	0,01	0,4	1	
22.	Keratopathia bullosa	0,01	0,35	1	
23.	Keratopathia bullosa	0,02	0,2	+	
	Összesen	0,02±0,03	0,4±0,18**		

fé: fényérzés; fén: fényérzés nélkül; +: HLA-Cw, -Bw, -DQ antigének egyezése; Rejekció: szisztémás kortikoszteroiddal uralható immunológiai rejekció

* p=0,001, Wilcoxon

** p=0,04, Wilcoxon

A 23 beteg közül 18 a keratoplastica prognózisa szempontjából a magas, 5 az alacsony rizikójú csoportba tartozott. A műtéteket az alábbi diagnózisok miatt végeztük: rekeratoplastica 11, erezett macula (HSV miatt) 4, perforáló sérülés okozta erezett leucoma 2 és ismeretlen etiológiájú erezett leucoma 1 esetben fordult elő. Az alacsony rizikójú csoportban 3 betegnek pseudophakiás bullosus keratopathia, 1–1 betegnek pedig keratoconus, illetve Fuchs-disztrófia volt a diagnózisa.

A HLA-egyezések megoszlása a következő volt: 4 antigén egyezése mellett 3, 3 antigén egyezése mellett 1, 2 antigén egyezése mellett 5, 1 antigén egyezése mellett 6 beültetés történt. További 8 betegnél csak a kevésbé fontos szerepet játszó HLA-Cw, -Bw, -DQ antigének között volt egyezés.

Mindkét prognosztikai csoportban az átlagos látásélesség szignifikáns javulását tapasztaltuk (p=0,001, a magas; p=0,04 az alacsony rizikójú csoportban).

Legalább ennyire lényeges, hogy a követési idő 18 hónapja alatt irreverzíbilis kilökődés nem fordult elő és a transzplantátumok átlátszóak maradtak. Három esetben észleltünk immunológiai rejekciót (1 epithelialis, 2 stromalis, illetve endothelialis), ezek azonban nagy dózisú szisztémás kortikoszteroidterápiára jól reagáltak.

Két esetben a transzplantátum degenerációját, illetve nekrózisát nem tudtuk megakadályozni. Az egyik betegnél két hónappal a műtét után fellépő mészlerakódás alakult ki (a harmadik transzplantáció után). A másik betegnél földdel történő szennyeződés után fellépő fertőzés eredményezett graftelhalást, majd phthisis bulbit, és a szem fényérzés nélkülivé vált.

A betegek klinikai szempontból fontos adatait az *1. táblázatban* foglaltuk össze.

Megbeszélés

A kilökődés gyakoriságának csökkentése végett több transzplantációs rendszerben végeznek HLA-tipizálást. A veseátültetések esetében a graftok túlélési idejének csökkenése egyértelműen a HLA-inkompatibilitás (mismatch) függvénye. Egy tanulmány során több mint egy évtizedes követési idő után a beültetett vesék túlélése 52%-os volt HLA-egyezést mutató és 37%-os HLA-egyezést nem mutató szervek esetében.[14] A vesetranszplantátumok folyamatosan javuló túlélési görbéjének 3 támpillére a következő: a HLA szöveti antigének, azaz az immunológiai folyamatok elismerése, a körültekintően alkalmazott immunszuppresszív terápia, és az élődonoros szervátültetések növekvő száma.

A corneatranszplantáció esetében ez utóbbi természetesen kizárható, de az immunszuppresszív szerek alkalmazásában sem történt egységes, nagy áttörés. Mindezek mellett a HLA-antigének corneatranszplantációban betöltött szerepéről, az egymásnak ellentmondó eredményeket felmutató vizsgálatok miatt 40 év után sem alakult ki egységes álláspont. A vizsgálatok vagy ellentmondóak, vagy nem hoztak értékelhető eredményeket. Ezek az ellentmondások döntően az európai, illetve az amerikai vizsgálatokból, eredményekből, felfogásból erednek. Az európai eredmények elsősorban dán, holland és német transzplantációs központokból származnak. Egyik legmarkánsabb képviselőjük, *Völker-Dieben* számos publikációban erezett és nem erezett corneák esetén is a HLA-egyezések transzplantátumtúlélésre kifejtett pozitív hatását tapasztalta. Egyik legutóbbi tanulmányában, mintegy eddigi munkásságát összegezve 20 év alatt 1 centrumban, 1 sebész által operált 1681 beteget vizsgált. A HLA-egyezés legjelentősebb hatással a magas rizikójú, azaz erezett, illetve ismételt átültetés után lévő betegek esetében volt, az immunológiai rejekció kialakulása 25%-kal csökkent.[18]

Ezzel szemben az amerikai eredményeket összefogó Collaborative Corneal Transplantation Study (CCTS) szerint a HLA-egyezés semmivel nem hatékonyabb, mint az AB0-antigén meghatározása vagy a cyclosporin posztoperatív alkalmazása.[2] Ez a szisztémásan alkalmazott terápia azonban nagymértékben emeli a komplikációk kialakulásának veszélyét is: glaucoma, cataracta, infekciók, varratelégtelenség, malignitás jelenhet meg. Ráadásul a CCTS-tipizálás reprodukálhatóságát vizsgálva kiderült, hogy a HLA-A antigének 95%-ban, a -B antigének 91%-ban, míg a nagyon fontos szerepet betöltő HLA-DR antigének csak 59%-ban mutattak egyezést![5]

Az okok, amelyek miatt a HLA-antigének szerepe még mindig vitatott a szemészek körében, a következők: nem precíz HLA-tipizálási módszerek, kis beteganyag, sok heterogén forrás, mint pl. etnikai diverzitás a donor és a recipiens között, eltérő immunszuppresszív protokollok alkalmazása, a corneák eltérő minőségi ellenőrzése, többcentrumú vizsgálatok, több sebész által végzett műtétek eredményeinek összehasonlítása. Ezek egységesítésével a transzplantációs antigének szaruhártya-átültetésben betöltött szerepe is egységessé válhat.

Milyen legyen tehát a megfelelően tipizált cornea? Az MHC I. osztályba tartozó HLA-A, -B antigének 2 lokusz 4 alléljének és az MHC II. osztályba tartozó HLA-DR antigén 1 lokusz 2 alléljének (összességében tehát 3 lokusz 6 alléljének) egyezése a tökéletes HLA-egyezést jelenti. Klinikai vizsgálatok kimutatták, hogy a transzplantáció kimenetele szempontjából a magas rizikócsoportba tartozó betegeknél vagy az MHC I., vagy az MHC II. osztály 2–2 alléljének (tehát 2 allél HLA-A, -B vagy 2 allél HLA-DR) egyezése esetén lehet statisztikailag szignifikáns transzplantátumtúlélésről beszélni. Ezzel szemben az alacsony rizikójú csoportban ehhez legalább 4 allél egyezése szükséges.[8,13]

Várólistánkról is a fentiek alapján választottuk ki és hívtuk be műtétre a betegeket. Kétségtelen, hogy újabban a minor HLA-antigének szerepét is egyre fontosabbnak tartják, ezért kerültek be ezek az egyezések is a saját beteganyagunkba.[7,12]

A prospektív módon kiválasztott betegek HLA-egyezése ezen szempontok alapján kifejezetten jónak mondható. Több tanulmányhoz hasonlóan mi sem egyedüliként a látásélesség alapján, hanem a transzplantátum állapotából vonhatunk le következtetéseket. Hiszen a betegek többsége már több szemészeti műtéten esett át, vagy magas rizikócsoportba tartozott és a bulbus szövetei már károsodtak. Definíció szerint sikertelennek tekinthető a keratoplastica, ha a cornea transzparenciája elvész és irreverzíbilis módon vaskossá válik.[3] A követési idő alatt, ami átlagosan meghaladta az egy évet, a 3 előforduló rejekció szisztémás kortikoszteroidterápiával jól uralható volt és irreverzíbilis immunológiai

a cornealis folyamat nem fordult elő, a transzplantátumok átlátszóak maradtak.

A Debreceni Szemklinikán bevezetett HLA-tipizálás eredményeiből a viszonylag kevés esetszám miatt még nem vonhatunk le egyértelmű következtetéseket, de a felvázolt immunológiai folyamatok és tanulmányok alátámasztják a vizsgálat szükségességét.

Megerősíthetjük, hogy a HLA-antigének egyezése pozitív hatással lehet mind a magas, mind a normál rizikócsoportba tartozó transzplantátumok életképességére, túlélésére is.[7-13,17,18]

Meg kell fontolnunk, hogy a HLA-tipizálás költségei nem másodlagosak-e az egyezéssel biztosítható sikeres átültetésekhez képest, amellyel minőségi életet biztosíthatunk a HLA-kompatibilis transzplantátumot kapó betegeknek, megkímélve őket a kilökődés okozta traumáktól. Továbbá a HLA-tipizálás és -egyezés keresése révén az immunológiailag megfelelőbb graftok beültetése költségkímélőbb megoldás, mint egy ismételt szaruhártya-átültetés. Ahhoz azonban, hogy nagyobb fokú HLA-egyezéssel tudjuk végrehajtani az átültetéseket, a tipizált donorok és recipiensek számát növelni kell.

Irodalom

1. *Berta A., Takács L.:* A szaruhártya-átültetés immunológiai vonatkozásai. Újabb eredmények a szemészetben. Az Országos Szemészeti Intézet kiadványa 1997; *1:* 32-49.
2. *CCTS, The Collaborative Corneal Transplantation Studies Research Group:* Effectiveness of histocompatibility matching in high-risk corneal transplantation. Arch Ophthalmol 1992; *110:* 1392-1403.
3. *Coster D.J., Williams K.A.:* The impact of corneal allograft rejection on the long-term outcome of corneal transplantation. Am J Ophthalmol 2005; *140:* 1112-1122.
4. *Fasolo A., Frigo A.C., Bohm E., Genisi C., Rama P., Spadea L., Mastropirro B., Fornea M., Ponzin D., Grigoletto F.; CORTES Group:* The CORTES study: Corneal transplant indications and graft survival in an Italian cohort of patients. Cornea 2006; *25:* 507-515.
5. *Hopkins K.A., Maguire M.G., Fink N.E., Bias W.B.:* Reproducibility of HLA-A, B, and DR typing using peripheral blood samples: results of retyping in the collaborative corneal transplantation studies. Collaborative Corneal Transplantation Studies Group (corrected). Hum Immunol 1992; *33:* 122-128.
6. *Kang P.C., Klintworth G.K., Kim T., Carlson A.N., Adelman R., Stinnett S., Afshari N.A.:* Trends in the indications for penetrating keratoplasty, 1980-2001. Cornea 2005; *24:* 801-803.
7. *Le Discorde M., Moreau P., Sabatier P., Legeais J.M., Carosella D.E.:* Expression of HLA-G in human cornea, an immune-privileged tissue. Hum Immunol 2003; *64:* 1039-1044.
8. *Reinhard T., Bohringer D., Enczmann J., Kogler G., Mayweg S., Wernet P., Sundmacher R.:* HLA class I and II matching improves prognosis in penetrating normal-risk keratoplasty. Dev Ophthalmol 2003; *36:* 42-49.
9. *Reinhard T., Spelsberg H., Henke L., Kontopoulos T., Encmann J., Wernet P., Sundmacher R., Böhringer D.:* Long-term results of allogenic penetrating limbo-keratoplasty in total limbal stem cell deficiency. Ophthalmology 2004; *111:* 775-782.
10. *Reinhard T., Böhringer D., Enczmann J., Kögler G., Wernet P., Böhringer S., Sundmacher R.:* HLA class I/II matching and chronic endothelial cell loss in penetrating normal risk keratoplasty. Acta Ophthalmol Scand 2004; *82:* 13-18.
11. *Reinhard T., Böhringer D., Enczmann J., Kögler G., Mayweg S., Wernet P., Sundmacher R.:* Improvement of graft prognosis in penetrating normal-risk keratoplasty by HLA class I and II matching. Eye 2004; *18:* 269-277.
12. *Streilein J.W., Arancibia-Caracamo C., Osawa H.:* The role of minor histocompatibility alloantigens in penetrating keratoplasty. Dev Ophthalmol 2003; *36:* 74-88.
13. *Sundmacher R.:* A clinician's outlook on HLA matching for keratoplasty. Dev Ophthalmol 2003; *36:* 89-97.
14. *Takemoto S.K., Terasaki P.I., Gjertson D.W., Cecka J.M.:* Twelve years' experience with national sharing of HLA-matched cadaveric kidneys for transplantation. N Engl J Med 2000; *343:* 1078-1084.
15. *Tóth E., Stenszky V., Berta A., Módis L.:* A HLA-tipizálás technikája szaruhártya-átültetés esetén. Szemészet 2007; közlésre küldve.
16. *Völker-Dieben H.J., Claas F., Schreuder G.M., Schipper R.F., Pels E., Persijn G.G., Smits J., D'Amaro J.:* Beneficial effect of HLA-DR matching on the survival of corneal allografts. Transplantation 2000; *70:* 640-648.
17. *Völker-Dieben H.J., Schreuder G.M., Claas F.H., Doxiadis I.I., Schipper R.F., Pels E., Persijn G.G., Smits J., D'Amaro J.:* Histocompatibility and corneal transplantation. Dev Ophthalmol 2003; *36:* 22-41.
18. *Yahalom C., Mechoulam H., Solomon A., Raiskup F.D., Peer J., Frucht-Pery J.:* Forty years of changing indications in penetrating keratoplasty in Israel. Cornea 2005; *24:* 256-258.

Levelezési cím: Dr. Módis László
DEOEC Szemészeti Klinika,
4012 Debrecen, Nagyerdei krt. 98.
E-mail: lmodis@dragon.klte.hu