

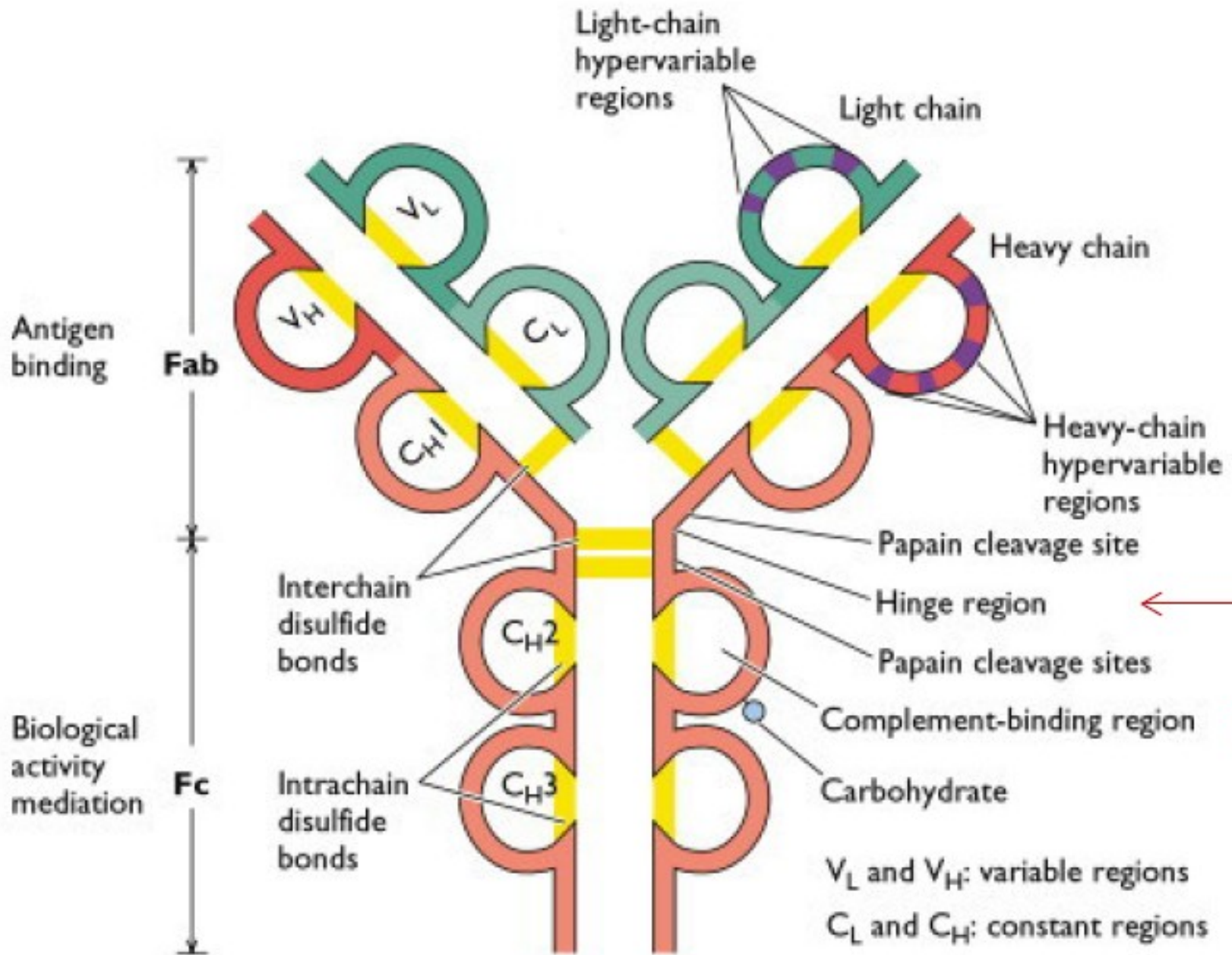
Imunologie leukocytů a  
trombocytů  
Transplantologie

# Imunologie leukocytů a trombocytů

- Všechny buňky lidského těla nesou na svých membránách antigenní znaky, které jsou uspořádány do systémů
- Nejdříve byly zjištěny a prozkoumány u erytrocytů, později u leukocytů a trombocytů
- Antigeny mají schopnost indukovat v organismu detekovatelnou odpověď a specificky reagovat s produkty této odpovědi, t.j. s protilátkami nebo efektorovými T buňkami.
- Protilátky, produkty plazmatických buněk, se uvolňují zejména do krevní plazmy, v menším množství se vyskytují také v tělních tekutinách, hlenu a na povrchu sliznic.
- Hladina protilátek v séru kolísá v závislosti na věku, pohlaví a na stupni rozvinutí imunitních reakcí.
- Protilátky lze rozdělit dle způsobu vzniku:

1. aloimunní protilátky – transfuze erytrocytů, plazmy, trombocytů
  - transplantace
  - těhotenství (reakce na odlišné antigeny plodu)
2. autoprotilátky – proti vlastním antigenům jedince
3. alergické protilátky – reakce organismu na některý lék nebo chemikálii
4. přirozené protilátky

- Molekula Ig - dva těžké řetězce (H) a dva lehké řetězce (L)  
těžký řetězec - konstantní oblast (C) a variabilní (V) oblast – vazba Ag
- Dle různých typů H řetězce lze rozlišit 5 tříd imunoglobulinů – IgG, IgM, IgA, IgD a IgE
- V imunologii leukocytů a trombocytů hrají důležitou roli imunoglobuliny třídy IgG, IgM a IgA.



# Imunologie leukocytů

- Antigeny na leukocytech se dělí do dvou skupin:
  1. antigeny společné s erytrocytárními - ABO, Rh, P, MNSs, Kell, Lewis, Duffy
  2. antigeny specifické pro leukocyty - specifické antigeny lymfocytů, **HLA antigeny**
    - specifické antigeny granulocytů, **HNA antigeny**
    - specifické antigeny monocytů, **HMA antigeny**

## HLA antigeny

- Specifické antigeny lymfocytů, HLA antigeny - probrány v kapitole „HLA systém“
- Anti-HLA protilátky jsou protilátky aloimunní, vznikají tehdy, obsahuje-li imunizační faktor HLA antigeny odlišné od osoby vystavené jeho účinku
- HLA protilátky - imunoglobuliny třídy IgG, méně často IgM
- v průběhu těhotenství (cca 10 – 20% žen)
- po transfuzích
- po transplantaci (kostní dřen, orgány)
- přirozeně se vyskytující anti-HLA protilátky

# Klinické syndromy způsobené anti-HLA protilátkami

## Febrilní nehemolytická potransfuzní reakce – FNHTR

- teplota, třesavka, zimnice, bolest hlavy
- příčinou mediátory a cytokiny z leukocytů uvolněné v průběhu zpracování a skladování TP
- někdy je příčinou přítomnost antileukocytových protilátek v plazmě pacienta při podání TP kontaminovaných leukocyty
- Snížení výskytu FNHTR – plošná leukodeplece TP

## Refrakternost k podání trombocytových TP

- Opakované, neúspěšné dosažení uspokojivé odezvy na transfuzi trombocytových TP od náhodných dárců – CCI (Corrected Count Increment)
- Neimunitní příčiny – infekce, sepse, horečka, antibiotika, antimykotika...
- Imunitní příčiny – trombocytové aloprotilátky - HLA, HPA, ABO ,  
trombocytové autoprotilátky , lékově-dependentní Ab
- anti-HLA protilátek v séru pacienta reagujícími s HLA antigeny I. třídy na membránách trombocytů dárce
- výběr HLA kompatibilního dárce transfuzního přípravku z registru HLA otypovaných dárců
- zkouška kompatibility v lymfocytotoxickém testu mezi sérem příjemce a lymfocyty dárce (cross-match)

## Potransfuzní reakce TRALI - imunní TRALI

- a-HLA nebo antigranulocytové protilátky v plazmě DK – pasivní převod
- Nebo protilátky v plazmě příjemce transfuze namířené proti antigenům na leukocytech přítomných v TP
- jiné příčiny – stáří skladovaného TP
- aktivované leukocyty - obstrukce plicní mikrocirkulace, vzniká plicní edém
- klinické projevy do 6 hodin po podání transfuze (většinou neprodleně po zahájení transfuze)

## Akutní rejekce- odvrhnutí transplantovaného štěpu

- Pravděpodobnost vzniku akutní rejekce je tím větší, čím větší odlišnosti v HLA systémech dárce a příjemce existují. K akutní rejekci dochází s odstupem několika dnů po transplantaci orgánu až do zhruba 90 dní po transplantaci.

## Chronická rejekce – tvorba a-HLA a non-HLA protilátek (roky po Tx)

Úloha non-HLA faktorů při rejekci - např. MICA (MICB) antigeny = MHC I Chain-related gene A (B), Minor Histokompatibility Complex, KIR, Cytokiny



# Detekce anti-HLA protilátek

## Lymfocytotoxický test (LCT)

- zachycuje lymfocytotoxiny, protilátky, vážící komplement.
- Reakce probíhá mezi protilátkou v séru pacienta a antigenem buněčné membrány typových lymfocytů.
- komplex antigen-protilátka aktivuje dodaný králičí komplement.
- aktivací vzniklý enzym fosfolipáza poruší buněčnou membránu lymfocytů, buňky pak následně přijmou vitální barvivo (trypanová modř, eosin).
- Hodnocení testu se provádí mikroskopicky. Mrtvé buňky se jeví v mikroskopu jako modré (červené), živé buňky zůstávají nezbarvené.

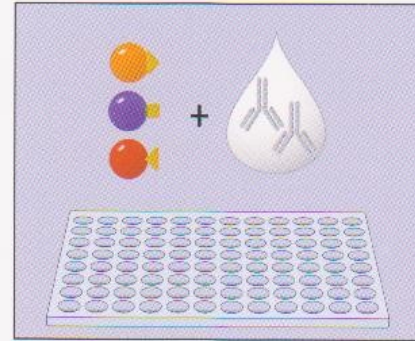
## Detekce anti-HLA protilátek pomocí analyzátoru (Luminex)

- Luminex® je metoda využívající navázané HLA glykokoproteiny na barevně značené mikročástice a vazba protilátek ze séra je prokázána průtokovou cytometrií s dvojitým laserem.
- Luminex® má větší specifitu než LCT a není ovlivněn přítomností non-HLA protilátek, autoreaktivních protilátek nebo lymfocytotoxických protilátek (např. ATG).

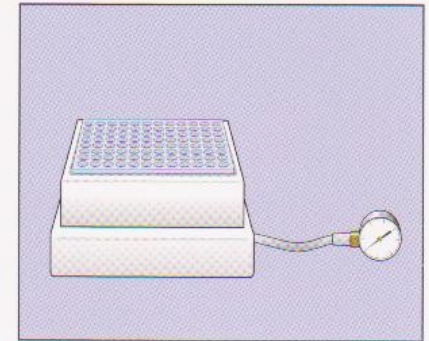


# Detekce anti-HLA protilátek – Luminex

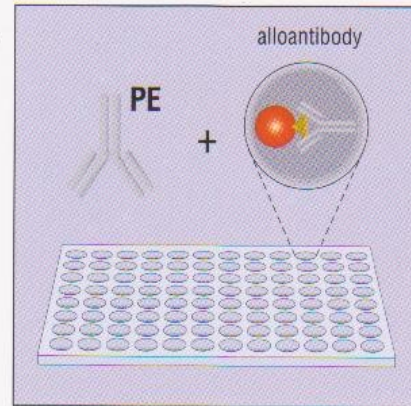
- Barevně značené mikročástice s navázanými HLA antigeny
- Inkubace mikročástic se sérem pacienta
- Přidání fluorescenčně značené sekundární protilátky
- Detekce pomocí laserových paprsků



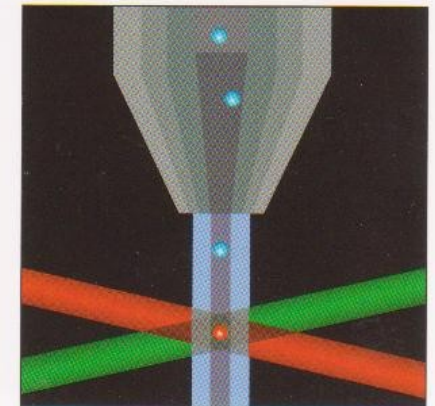
1. Mix beads coupled to purified HLA antigens with patient sera in a membrane filter plate. Incubate for 30 minutes.



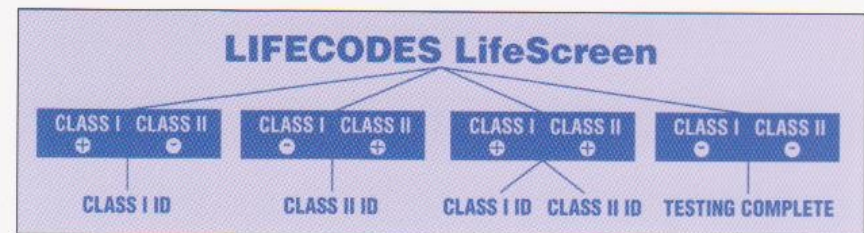
2. Wash 3x using a vacuum manifold



3. Add antihuman IgG with PE to membrane filter plate. Incubate 30 minutes.



4. Analyze in the Fluoroanalyzer







Class I & II MIC

Statistics	Class I	Class II	MIC
PC: (002)	18,128.64	Computer Assignment	Negative
NC: (001)	88.12	Final Assignment	<input type="radio"/> Positive <input checked="" type="radio"/> Negative <input type="radio"/> Undetermined
PC/NC:	205.73	Computer Assignment	Positive
NC Threshold (CL1):	50(50)	Final Assignment	<input checked="" type="radio"/> Positive <input type="radio"/> Negative <input type="radio"/> Undetermined
NC Threshold (CL2):	50(50)		
Cut-off	Default	Current	
CL I +ve	1.5	1.5	
CL I -ve	1.2	1.2	
CL II +ve	1.5	1.5	
CL II -ve	1.2	1.2	

Comments/ (System):

Buttons: More Test, Raw Data, Save>>, Confirm>>





# HNA antigeny (Human Neutrophil Antigens)

- Známo 7 antigenů, které jsou uspořádány do 5 HNA systémů:
- **HNA-1** má 3 alely: **HNA-1a**, **HNA-1b**, **HNA-1c** (polymorfní formy neutrofilního Fcγ receptoru IIIb (CD16b)), HNA-1 specifický pouze pro neutrofilny
- Vzácně HNA-1 null fenotyp – jedinci neexprimují Fcγ receptor IIIb, možnost tvorby protilátek
- Funkce - Fcγ receptor IIIb slouží jako receptor pro IgG1 a IgG3
  - přispívá k fagocytóze opsonizovaných mikroorganismů
- **HNA-2a antigen** – typická heterogenní exprese jedince (jedinec má subpopulaci neutrofilů s HNA-2a a subpopulaci bez HNA-2a)
- Vyšší exprese HNA-2a u žen než u mužů, u žen klesá s věkem
- HNA-2 null fenotyp – tvorba specifických protilátek
- Funkce – zahrnut do procesu adheze neutrofilů k endoteliálním buňkám a jejich migraci

- **HNA-3a** antigen exprimován na neutrofilech a lymfocytech, exprese na trombocytech je sporná
- Protilátky a-HNA-3a schopné aglutinovat neutrofilly
- Funkce neznámá
  
- **HNA-4a** antigen a HNA-4a negativní jedinci objeveni v roce 1986
- Exprese na neutrofilech, monocytech a NK
- Funkce – adheze leukocytů k endoteliálním buňkám a při fagocytóze
  
- **HNA-5a** – exprese na všech leukocytech
- Funkce – adheze leukocytů

# Klinické syndromy způsobené anti-HNA protilátkami

## Aloimunitní protilátky

- Aloimunitní neutropenie novorozence
- Transfusion – related acute lung injury (TRALI)
- Febrilní nehemolytická potransfuzní reakce (FNHTR)

## Autoimunitní protilátky

- Autoimunitní neutropenie u dětí

## Iatrogenní příčina

- Léky indukovaná imunitní neutropenie (přímý účinek léku na kostní dřeň nebo imunitní mechanismy; nesteroidní antirevmatika, antibiotika, antikonvulsiva)



## Aloimunitní neutropenie novorozence

- způsobená mateřskými aloprotilátkami proti HNA antigenům na neutrofilech plodu a při absenci na neutrofilech mateřských nebo jako transplacentární přenos protilátek od matky s autoimunitní neutropenií
- Mateřské protilátky (IgG) přechází přes placentu a ničí neutrofilu plodu
- ANN se vyskytuje v častosti méně než 1 případ na 1000 porodů
- Neutropenie může trvat až několik měsíců, vyvolává u dětí riziko infekčních komplikací
- Ve většině případů jsou mateřské aloprotilátky zaměřeny proti antigenům HNA-1a, HNA-1b a HNA-2a, méně často proti antigenům HNA-1c a HNA-4a.

## Febrilní nehemolytická potransfuzní reakce FNHTR

- teplota, třesavka, zimnice, bolest hlavy
- vyvolaná přítomností antigranulocytárních protilátek příjemce transfuzního přípravku reagujícími s HNA antigeny dárce

## TRALI (Transfusion Related Acute Lung Injuri)

- způsobená nejčastěji reakcí protilátek dárce transfuzního přípravku reagujících s granulocyty příjemce nebo je reakce protilátek příjemce s granulocyty dárce transfuzního přípravku
- aktivované leukocyty - obstrukce plicní mikrocirkulace, vzniká plicní edém
- klinické projevy do 6 hodin po podání transfuze (většinou neprodleně po zahájení transfuze)
- a-HNA-1a, a-HNA-1b, a-HNA-2a, a-HNA-3a protilátky a protilátky proti molekulám HLA I. a II. třídy.

## Autoimunitní neutropenie (AIN)

- popsána u dětí, je vyvolaná autoprotilátkami proti granulocytům
- diagnostikována nejčastěji v kojeneckém a batolecím období
- protilátky jsou nejčastěji směřovány proti antigenům HNA-1a, HNA-1b, HNA-2a, HNA-4a

### Dospělí:

- sekundární neutropenie jiných poruch (revmatoidní artritida, systémový lupus erythematoses, chronická leukémie)
- lékově indukovaná neutropenie
- neimunitní chronická idiopatická neutropenie

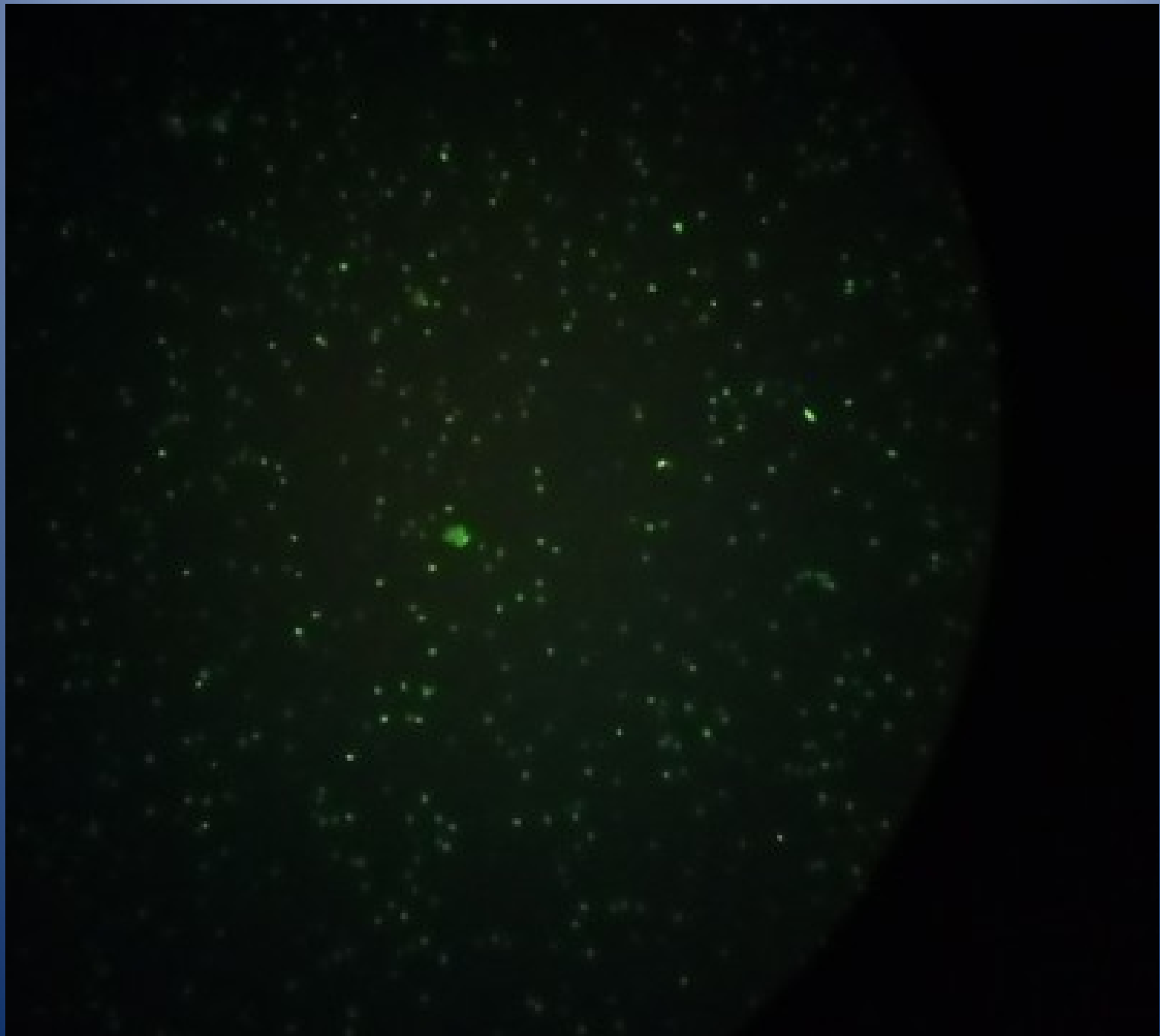
# Detekce antigranulocytárních protilátek

## Granuloaglutinační test (GA)

- zachycuje granuloaglutininy
- Reakce mezi antigeny membrány typových granulocytů a protilátkami vyšetřovaného séra
- Hodnotí se mikroskopicky shluky granulocytů, při negativní reakci zůstávají granulocyty volné.

## Granuloimunofluorescenční test (GIFT)

- detekuje protilátky navázané ze séra pacienta na povrch typových granulocytů.
- k vizualizaci navázané protilátky dochází pomocí sekundární protilátky proti lidskému imunoglobulinu značené fluorescein-isothiocyánátem (FITC)
- granulocyty s navázanou protilátkou svítí ve fluorescenčním mikroskopu zeleně.



# HMA antigeny (Human Monocyte Antigens)

- na povrchu monocytů se vyskytují antigeny dvojího typu:
  1. antigeny, společné s ostatními buňkami (HLA antigeny I. a II. třídy)
  2. antigeny, specifické pro monocyty, značené **HMA antigeny**
- HMA antigeny strukturou podobné HLA antigenům I. třídy, obsahují  $\beta$ 2-mikroglobulin
- geny lokalizované na krátkém raménku 6. chromozomu v blízkosti lokusu HLA-B.
- HMA antigeny jsou kódovány ze dvou lokusů, HMA-A a HMA-B, zatím známo 7 antigenů HMA-A1; HMA-A3; HMA-A5; HMA-A6; HMA-B2; HMA-B4; HMA-B7

## Výskyt monocytárních protilátek:

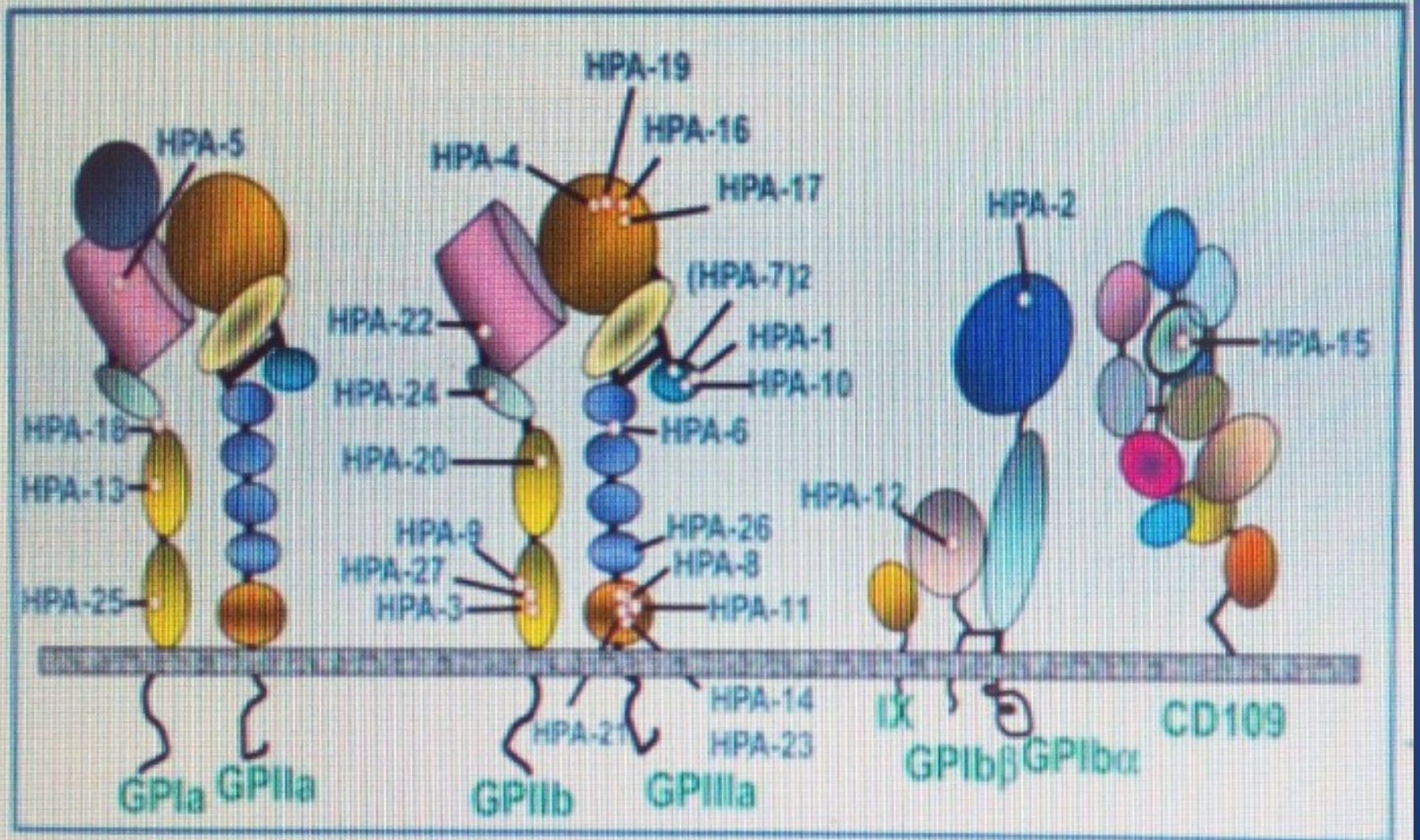
- po transfuzi, mohou být příčinou i potransfuzní reakce
- u těhotných žen
- po transplantaci

# Imunologie trombocytů

- Antigeny přítomné na trombocytech se dělí do dvou skupin:
  1. antigeny, společné s buňkami ostatních tkání, např. erytrocytárního systému (ABO, P, Kell, Duffy), HLA systému (antigeny I. třídy)
  2. antigeny, specifické pro trombocyty - **HPA antigeny**
- 12 alel uspořádáno do 6 bialelických systémů - HPA-1, HPA-2, HPA-3, HPA-4, HPA-5 a HPA-15 (zatím známo 35 alel)
  - a= běžná alela; b= méně běžná alela
- Uspořádány na 6 trombocytových glykoproteinech
- HPA databáze – <https://www.ebi.ac.uk/ipd/hpa/index.html>
- Jako první HPA antigen byl určen HPA-1a, s frekvencí výskytu v populaci cca 98%, protilátka proti antigenu HPA-1a nejčastější příčinou **fetomaternální aloimunitní trombocytopenie**



# Platelet specific antigens



Collagen  
receptor

Fibrinogen  
receptor

Von  
Willebrand

Uncertain  
function



Protilátky proti trombocytům se dělí:

- aloprotilátky (po transfuzi, po transplantaci, v průběhu těhotenství)
- autoprotilátky způsobující destrukci trombocytů (autoimunitní trombocytopenie)
- léky indukovaná tvorba protilátek (antiepileptika, analgetika, některá antibiotika)
- IgG, často také IgM a zřídka IgA.

# Klinické syndromy způsobené antitrombocyturními protilátkami

## Fetomaternální aloimunitní trombocytopenie (FMAIT)

- důsledek inkompability v HPA antigenech mezi matkou a plodem
- většina případů je diagnostikována až po narození, proto také nazývána NAITP (neonatální aloimunitní trombocytopenie nebo aloiminutní trombocytopenie novorozence)
- matka vytváří Ab proti HPA antigenům plodu ze strany otce a u matky chybí
- protilátky IgG prochází přes placentu, váží se na trombocyty plodu a urychlují jejich destrukci - trombocytopenie plodu už kolem 20. týdne gravidity
- trombocytopenický plod je ohrožen intrakraniálním krvácením in utero, během porodu a v prvních dnech života
- jeden případ na cca 1500 porodů
- mortalita je 6 – 10% a neurologické následky po intrakraniálním krvácení se vyskytují přibližně ve 20% případů

- nejčastější příčinou FMAIT je protilátka anti-HPA-1a, způsobující klinicky nejzávažnější trombocytopenie (85% případů)
- 10% případů je způsobeno protilátkou anti-HPA-5b
- 4% protilátkou anti-HPA-3a, 3% protilátkou anti-HPA-1b
- zbývající případy FMAIT jsou vyvolány inkompatibilitou v ostatních HPA antigenech
- Tvorba a-HPA Ab asociována s alelami HLA-DRB3\*01:01 (DRB4\*01:01)
- HLA-DRB3\*01:01-DRA1\*01:01 = DR52 molekula váže peptidy s leucinem v pozici 33 (HPA-1a) a ne peptidy s prolinem ve stejné pozici (HPA-1b)

## Potransfuzní purpura (PTP)

- vzácná, ale závažná potransfuzní reakce
- projevuje se prudkým poklesem v počtu trombocytů a život ohrožujícím krvácením
- opožděná reakce - PTP se objevuje za 7 – 14 dní po podání transfuze obsahující trombocyty
- vyskytuje se u již imunizovaných pacientů s Ab proti trombocytům dárce
- rizikovou skupinou jsou ženy s častějšími těhotenstvími v anamnéze, transfuze
- nejčastější příčinou - anti-HPA-1a u příjemce TP, méně často anti-HPA-5b
- Nejasný mechanismus - panreaktivní autoprottilátky - spolu s aloprottilátkami destruují i vlastní pacientovy antigen-negativní trombocyty

## Refrakternost k podání trombocytových transfuzních přípravků

- charakterizována malým vzestupem počtu trombocytů po transfuzi
- často zapříčiněna klinickými faktory (např. sepse, splenomegalie, akutní krvácení, účinky léků) nebo méně často přítomností protilátek
- Většinou a-HLA protilátky, méně často a-HPA
- pro zajištění úspěšné hemoterapie je třeba připravit HLA kompatibilní trombocytové transfuzní přípravky (registr HLA otypovaných dárců, cross-match)
- v případě výskytu specifických protilátek proti trombocytům je třeba provést křížovou zkoušku mezi trombocyty dárce a sérem příjemce (DIFT)

## Pasivní aloimunitní trombocytopenie

- Vyskytuje se u pacientů po transfuzi plazmy od imunizovaného dárce obsahující specifickou aloprotilátku
- Popsána u protilátky anti-HPA-1a a anti-HPA-5b
- trombocytopenie nastává okamžité (na rozdíl od PTP)
- V tomto případě je nutné vyřazení dárce transfuzního přípravku.

## Idiopatická trombocytopenická purpura (ITP)

- u dětí i dospělých
- autoimunitní trombocytopenie, která je charakterizována destrukcí trombocytů autoprotilátkami namířenými proti HPA antigenům
- většina protilátek patří do třídy IgG, byly nalezeny i protilátky třídy IgM a IgA
- U dětí nejčastější krvácivé onemocnění, velmi často několik týdnů předchází virová infekce, akutní forma
- Dospělí – spíše chronické formy
- typická manifestace kožních projevů – petechie, hematomy

## Léky vyvolaná imunitní trombocytopenie (drug-induced immune thrombocytopenia, DITP)

- léků způsobujících pokles trombocytů je popsáno mnoho, k nejčastějším patří některá antiepileptika, analgetika a některá antibiotika
- Tvorba autoprotilátek nebo lékově specifických protilátek
- Destrukce trombocytů v retikuloendotelovém systému
- Typicky 5-10 dní po začátku užívání léku nebo po několika hodinách při opětovném užívání léku
- Často u hospitalizovaných pacientů s bohatou medikací a komorbitami
- Rychlý nástup trombocytopenie, časté krvácivé projevy, nutnost vysazení preparátu, který trombocytopenii vyvolal
- [www.ouhsc.edu/platelets](http://www.ouhsc.edu/platelets)
- Některé nápoje obsahují quinine a jejich požívání může spustit DITP

# Screeningové testy na zachycení antitrombocytárních protilátek

## DIFT (destickový imunofluorescenční test)

- zachycuje specifické antitrombocytární protilátky i HLA protilátky
- vazba protilátky z vyšetřovaného séra na typové trombocyty
- vizualizace navázané protilátky – sekundární anti-lidská protilátka značeného fluoresceinem
- detekce protilátek třídy IgG, IgM, IgA

## ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

- enzymoimunostanovení, zachycující specifické protilátky proti trombocytům
- vazbu antigenu s protilátkou detekujeme pomocí sekundární protilátky značené peroxidázou
- po proběhnutí reakce enzym-substrát a zastavení reakce hodnotíme intenzitu zbarvení na fotometru vzhledem ke kontrolám
- testem zachycujeme většinou protilátky třídy IgM, IgA



## Průtoková cytometrie (flow cytometrie)

- měření a analýza fyzikálně-chemických vlastností buňky během průchodu laserovým paprskem
- Identifikace různých buněčných typů uvnitř smíšené populace nebo analýza jednotlivých subpopulací v rámci jedné populace
- Rychlá, přesná a reprodukovatelná metoda, umožňuje současné měření několika parametrů až na 100 000 buněk za 1 sekundu

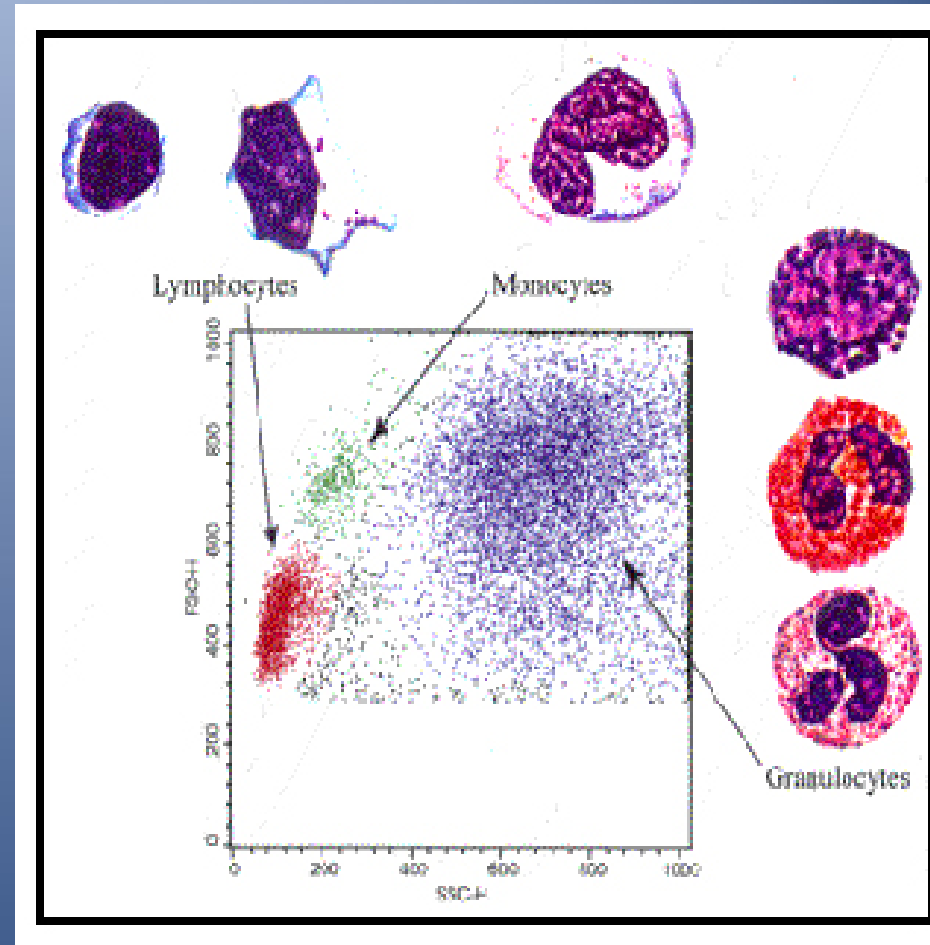


- využívá anti-CD41 protilátky značené fluorochromem ( např. phycoerithrinem - PE) k označení populace trombocytů
- navázaná protilátka na trombocytech je detekována sekundární anti-lidskou protilátkou značenou jinou fluorescenční barvou (např. Fluorescein Isothiocyanatem - FITC)
- měření probíhá ve flow cytometru, ve kterém laserový paprsek snímá fluorescenci každého jednotlivého trombocytu
- pozitivní výsledek je charakterizován posunem fluorescence populace trombocytů do horního pravého kvadrantu

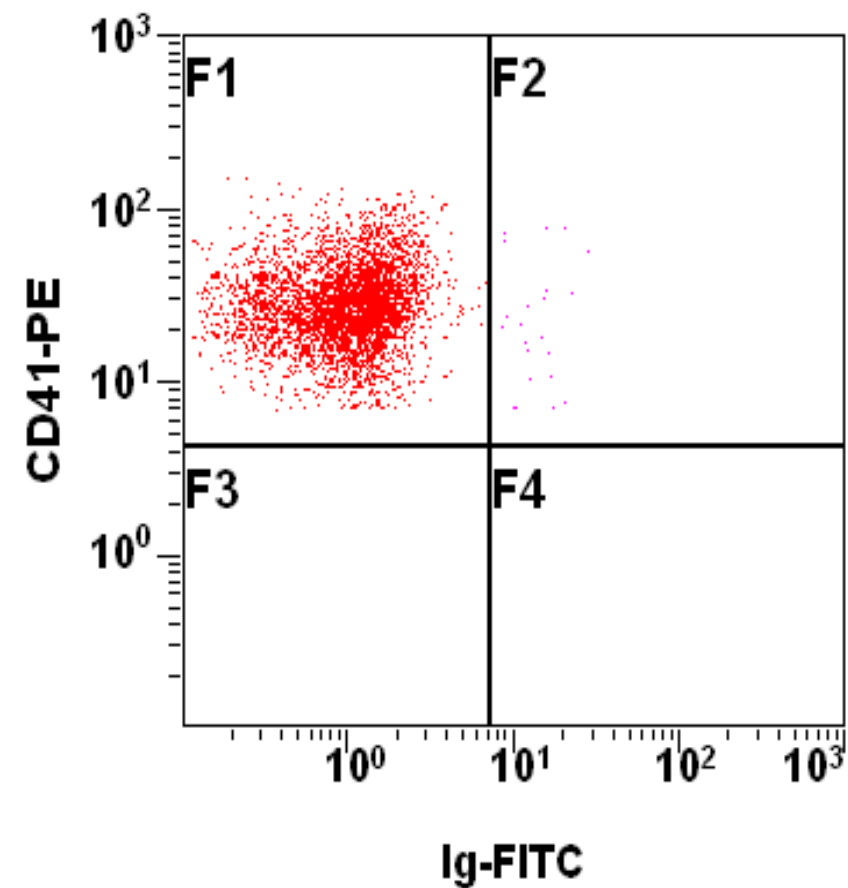
**Forward scatter channel (FSC,** rozptyl v přímém směru)-velikost částic, odlišení buněčné debris od živých buněk

**Side scatter channel (SSC,** rozptyl pod úhlem  $90^\circ$ )- informace o granularitě buněk

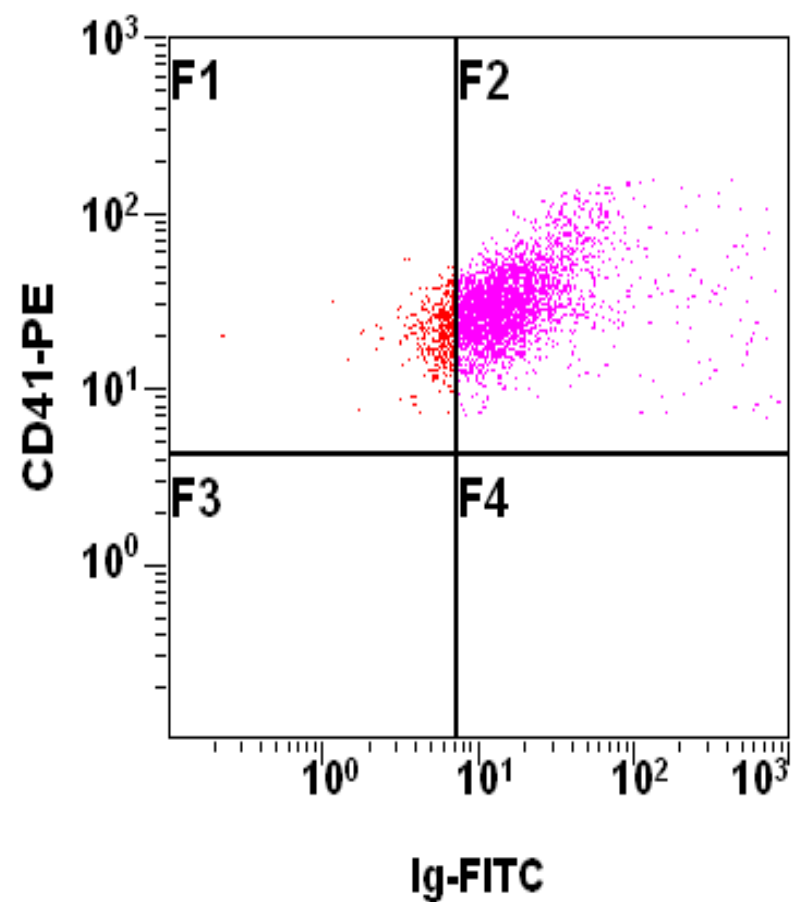
FSC, SSC – jedinečné pro každou částici,

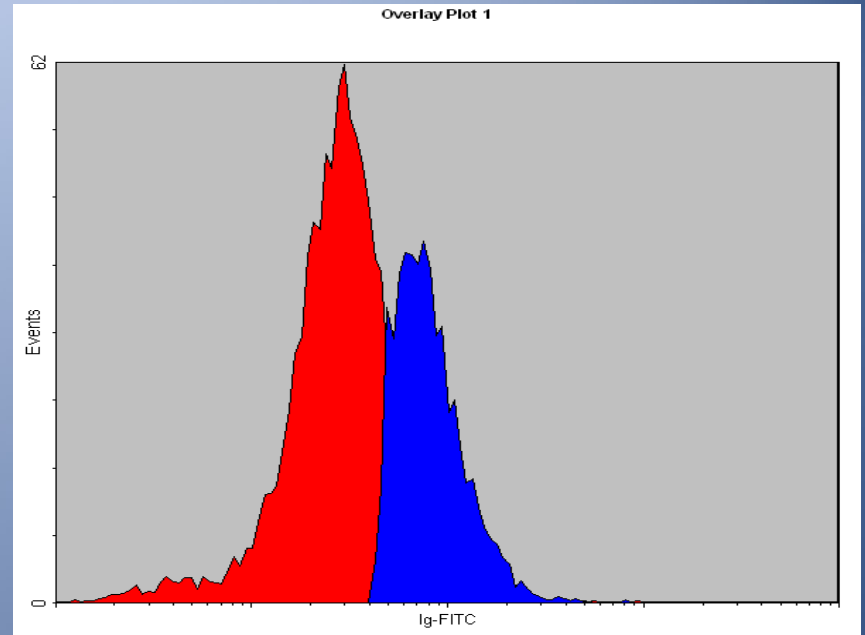
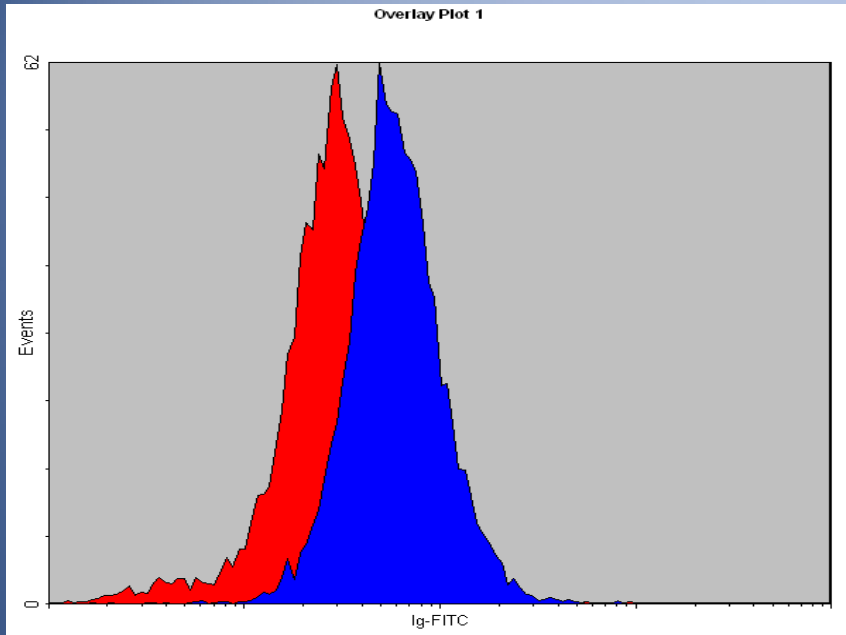


DJ P8 plt-Ig prumK 00048135.001 : FL1 Log/FL2 L

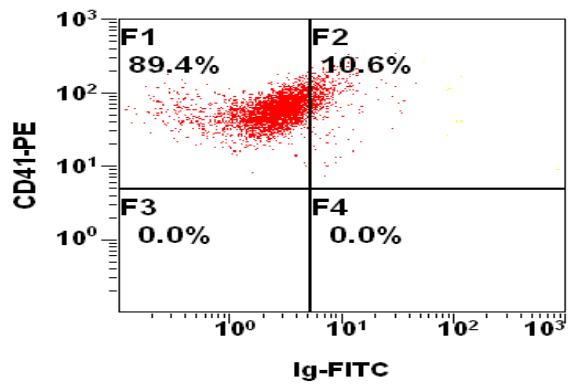


DJ P8 plt-Ig clg 00048136.002 : FL1 Log/FL2 L

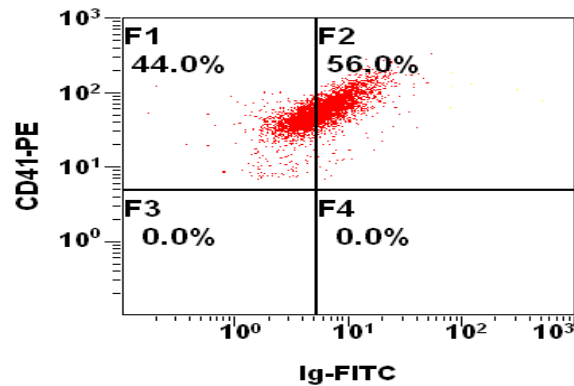




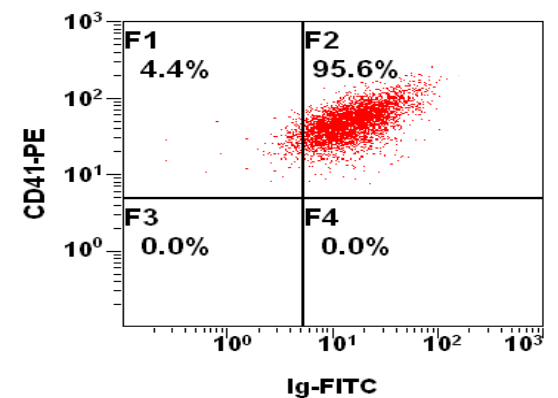
D] K19 plt-Ig IgG 00048283.003 : FL1 Log/FL2  
 D] K19 plt-Ig IgG 00048283.003 : FL1 Log/FL2



D] P14 plt-Ig IgG 00048297.003 : FL1 Log/FL2



D] P20 plt-Ig IgG 00048317.003 : FL1 Log/FL2



TRANSPLANTACE

# Srdce – historie transplantace

- 1.Tx srdce – 9.12.1967 v Kapském Městě v JAR, 45letý příjemce srdce zemřel 18. den po operaci na bronchopneumonii (zánět průdušek a plic)
- V pořadí 2. pacient, 58letý stomatolog žil 18 měsíců – zemřel na vaskulopatii (onemocnění cév) štěpu, do té doby neznámou komplikaci
- 9.7.1968 – 1.Tx srdce v Československu – pacientka zemřela po 6 hodinách
- Nemocní při nedokonalé imunosupresi umírali na akutní rejekce (odhojení transplantovaného štěpu)→důvod k celosvětovému útlumu Tx programů
- Nový vzestup - 80. léta minulého stl., do rutinní imunosupresivní léčby zaveden cyklosporin A, výrazné zlepšení v přežívání pacientů
- V 60. letech dosahovalo jednoleté přežívání po Tx srdce hodnot pouze okolo 25% nyní – 80% pacientů přežívá jeden rok, 70% pacientů přežívá 5 let a 50% pacientů přežívá 10 let
- r.1984 - 1.Tx srdce v České republice byla provedena v pražském IKEMu
- r. 1992 v Brně – zahájena činnost 2. českého transplantačního centra (CKTCH , Pekařská)

# Játra – historie transplantace

- r. 1955 – první zmínka o Tx jater, Spojené státy – přenosy jater u psů, bez imunosuprese -rejekce štěpů
- zavedení azathioprinu - delší přežívání štěpů cca za 14 dní po Tx
- Od r.1956 vyvíjena technika ortotopické Tx, v březnu 1963 – 1. ortotopická Tx jater, pacient zemřel v důsledku masivního krvácení
- r.1967 v Denveru – 1.úspěšná Tx jater, pacient přežíval více než 1 rok a zemřel na rekurenci nádorového onemocnění. I přes tento úspěch byly výsledky na několika pracovištích ve světě špatné s časnou mortalitou vyšší než 70%
- r.1968 – 1. Tx jater v Evropě
- r.1978 - zavedení cyklosporinuA, zvýšení přežívání štěpů více jak o 20%
- r.1983 v Brně – 1. úspěšná Tx jater týmem II. chir. Kliniky
- Dnes – na světě se provádí cca 10 000 Tx jater ročně, zavedeny nové chirurgické techniky – redukce velkých štěpů, splitovací techniky (rozdělení jater) pro dva příjemce a odběry laloků od žijících dárců
- V ČR se programem Tx jater zabývá CKTCH v Brně a IKEM v Praze



# Ledviny – historie transplantace

- Prosinec 1952 – 1. Tx ledvin na světě u 15-ti letého dítěte, které úrazem přišlo o svou jedinou ledvinu, dárkyně matka, za 22 dní rejekce
- 23.12.1957 v Bostonu v USA – 1. úspěšná Tx ledviny u člověka mezi jednovaječnými dvojčaty, následně provedeno dalších 7 Tx ze žijících dárců, některé z těchto ledvin byly funkční déle než 30 let
- Pokusy o Tx od zemřelých (kadaverózních) dárců byly však neúspěšné – rejekce
- 
- r.1960 – poprvé použit merkaptopurin k potlačení imunity
- Přelom 70. a 80. let – objev cyklosporinu A
- r.1961 Hradec Králové – 1. Tx ledviny klinicky neúspěšná z důvodu rejekce
- r.1966 v IKEM Praha – zahájení transplantačního programu, kde 1. transplantovaný pacient K.P. dostal ledvinu od své matky

- 30.11.1972 v Brně – 1.Tx ledviny 30letému příjemci
- Počátek 90. let – každoročně 40 – 50 Tx ledvin, která je řešením konečného stadia funkce ledvin
- Výsledky – více než 90% Tx ledvin pracuje déle než rok, 80% déle než 5 let, 70% déle než 10 let. Nejdelší funkce ledviny z našeho centra je 33 let
- V případě ztráty funkce Tx ledviny se pacienti mohou vrátit do hemodialyzační péče a mohou být znovu zařazeni k další transplantaci
- Tx od žijících dárců přináší lepší výsledky než od zemřelých dárců
- 14.10.1999 v Brně provedena 1. Tx ledviny darované sourozencem
- r.1998 provedena 1. kombinovaná Tx srdce a ledviny
- r. 2005 Tx všech tří orgánů jako první v ČR (srdce , játra, ledvina)

# Požadavky na dárce orgánů

- 2 typy dárců – kadaverózní dárce a dárce žijící
- Dárce kadaverózní = osoba s prokázanou mozkovou smrtí při zachovalém krevním oběhu, s funkčními orgány a bez přítomnosti kontraindikace dárce
- Zákon č.285/2002 Sb. určuje přesná pravidla na určení mozkové smrti a souvisejících předpisů včetně požadavků na kvalifikaci odborníka potvrzující mozkovou smrt
- V naší republice platí **předpokládaný souhlas s dárce**
- registr NROD = registr osob nesouhlasících s dárce Pracoviště zvažující dárce musí ověřit, zda pacient v tomto registru není. Souhlas rodiny není zákonně nutný (s výjimkou dětí), ale obvykle se bez souhlasu rodiny dárce neuskuteční.
- Smrt mozku je ze zákona potvrzována komplexem vyšetření (angiografie-znázornění oběhu krve kontrastní látkou, kdy se prokáže zástava kr. oběhu mozku). Ostatní krevní oběh je zachován a přerušuje se až při odběru orgánů na chir. sále

- Organizace dárcovství řídí transplantační koordinátoři jednotlivých TC
- Srdce, játra, plíce, slinivka - příjemce je určen již před odběrem orgánů (shoda KS)
- Ledviny jsou alokovány až po odběru
  
- Přibližně 10% dárců představují u nás **žijící dárce ledviny (rodiče, sourozenci, jiní příbuzní)**.
- Absolutní kontraindikací pro Tx ledviny ze žijícího dárce je onemocnění ledvin, maligní nádory s možností metastáz, přítomnost australského antigenu (riziko přenosu hepatitidy B), pozitivita na HIV a věk do 18 let, vyloučení jednání pod nátlakem či za úplatu
  
- Kadaverózní dárce – delší doba studené ischemie než u dárců žijících  
Žijící dárce – kratší doba studené ischemie, odběr a Tx jsou naplánované a probíhají prakticky ve stejnou dobu = lepší výsledky přežívání štěpu od žijících dárců
  
- Podmínkou je negativní cross-match (křížová zkouška) mezi dárce a příjemcem a kompatibilita v KS
  
- Kadaverózní dárce jsou hlavní možností pro čekatele na Tx, u žijících dárců zůstává v popředí neohrozit dárce.
- Dárce s nebijícím srdcem (DCD – donor after circulatory death)

# Transplantace krvetvorných buněk

- 2.pol.19 stl. – rozpoznán význam kostní dřeně pro tvorbu krvinek→myšlenka léčit zdravou kostní dření krevní nemoci
- Výzkum Tx krvetvorby byl spuštěn i jadernými pokusy v 50. letech 20. stl., neboť nemoc z ozáření se projevuje poruchou funkce kostní dřeně
- 60. léta 20. stl. - důležitý mezník pro rozvoj **alogenních transplantací** krvetvorné tkáně, objev systému znaků bílých krvinek - HLA systém
- 70. léta 20. stl.- objev a zavedení do praxe léku cyklosporinu A, který potlačuje některé nežádoucí reakce po Tx
- R.1977 – publikována práce s výsledky prvních 100 alogenních Tx kostní dřeně od HLA-A, -B, -DR identických sourozenců provedených ve Spojených státech ve městě Seattle – autor této práce Donnell Thomas za ní dostal Nobelovu cenu v r.1990
- Úspěšné Tx by nebyly možné bez objevu dalších účinných léků – nová antibiotika, protiplísňové léky, růstové faktory krvetvorby, imunosupresiva, nutná dostupnost transfuzních přípravků a krevních derivátů
- Protože více než 2/3 nemocných nenajdou v rodině vhodného příbuzného dárce, vzniká myšlenka hledat vhodného dárce dřeně mezi dobrovolníky na celém světě – vytváření registrů dárců kostní dřeně



- Typy transplantace dle dárce – autologní Tx
  - alogenní Tx
  - syngenní Tx
- Typy Tx dle zdroje – Tx kostní dřeně
  - Tx krevetvorných buněk z periferní krve
  - Tx pupečnickové krve
- 1. **Autologní transplantace** - převod vlastní krevetvorné tkáně nemocného. Krevetvorná tkáň je nemocnému odebírána před podáním vysokodávkové chemoterapie nebo celotělové radioterapie. Krevetvorná tkáň v době léčby je uschována, zamražena, po podání začíná většinou do 14 dnů až 3 týdnů opět produkovat krevní buňky, jedná se o vlastní krevetvorné buňky, není nutno užívat imunosupresiva.
- 2. **Alogenní transplantace** – jde o převod krevetvorné tkáně získané od zdravého dárce. Pokud je dárce HLA identický sourozenec, jde o **alogenní příbuzeneckou** transplantaci. Pokud je dárce nepříbuzný jedinec HLA shodný, jde o **alogenní nepříbuzeneckou** transplantaci. U alogenní Tx nespočívá léčebný efekt pouze ve vysokodávkové terapii, ale i v tak zvaném efektu „štěpu proti nádorovému onemocnění“, kdy imunitní buňky dárce vznikající v kostní dřeni po Tx rozpoznají a zahubí zhoubné buňky nemocného příjemce.
- 3. **Syngenní transplantace** – převod krevetvorné tkáně mezi jednovaječnými dvojčaty.

# Odběr kostní dřeně



# Odběr periferních krvetvorných buněk



# Transplantace krevetvorných buněk

- Krevetvorné buňky podány do žíly jako transfuze po předchozí chemoterapii nebo ozáření
- Po autologní a syngenní Tx dochází k plnohodnotné produkci krevetvorných buněk přibližně za 2 týdny
- Po alogenní Tx dojde k přihojení krevetvorby dárce většinou za 2 – 4 týdny, nutno podávat imunosupresiva, která brání rozvoji nežádoucích imunitně zprostředkovaných reakcí vzniklých rozdíly mezi buňkami dárce a příjemce. Tyto rozdíly existují, i když mají dárce a příjemce shodné HLA znaky
- Krevetvorné buňky lze podávat nemocnému hned po odběru nebo je možné je zamrazit v tekutém dusíku a podat pak po rozmražení
- Tx krevetvorných buněk může být komplikována infekcemi, krvácením nebo „nemocí štěpu proti hostiteli“



# Registry dárců kostní dřeně

- R. 1970 - myšlenka vytvoření mezinárodního registru dárců kostní dřeně,
- prof. Jon J. van Rood na sjezdu Německé transfuziologické společnosti navrhl založit seznam HLA – typizovaných dobrovolných dárců krve k výběru HLA – shodných dárců krevních destiček i kostní dřeně k transplantacím
- **První aktivní registr dárců dřeně - Anthony Nolan Trust v Anglii**, založen v r.1974 ve snaze najít vhodného dárce pro chlapce Anthonyho Nolana s vrozeným defektem imunity. Chlapec se Tx nedočkal.
- spolupráce mezi rozvíjejícími se registry jednotlivých zemí za účelem hledání vhodných dárců pro nemocné. Společný mezinárodní seznam byl nazván **Bone Marrow Donors Worldwide (BMDW) – Dárci dřeně celého světa.**
- BMDW dnes již 10 milionů dobrovolníků ze 42 zemí světa včetně ČR.



## Banky pupečnickové krve

- R.1988 – 1. Tx s využitím kmenových buněk z placentární pupečnickové krve, dárce novorozená HLA – kompatibilní sestra nemocného dítěte, Tx úspěšná.
- 1. banka pupečnickové krve - New York Cord Blood Bank
- Odběr krve z pupečnicku- žádné riziko ani pro matku ani pro narozené dítě.
- Kmenové buňky z pupečnickové krve nejsou plně imunitně dozrálé, jejich Tx přináší menší riziko reakcí štěpu proti hostiteli. Nižší riziko těchto reakcí umožňuje transplantovat pupečnickové kmenové buňky i při určité míře neshody HLA antigenů.
- Pupečnicková krev obsahuje menší množství kmenových buněk než je možné získat od dospělého dárce - použitelná k Tx jen pro děti.

- ČR – 2 registry dárců kostní dřeně
  - **Český národní registr dárců dřeně (ČNRDD)** - Plzeň
  - **Český registr dárců krvetvorných buněk (CSCR)** - Praha
- Podmínky pro vstup do registru:
  - věk 18-40 let (35)
- dobrý zdravotní stav, žádné závažné onemocnění v minulosti  
ochota překonat určité nepohodlí a ztrátu času, spojené s jednou či několika návštěvami zdravotnického zařízení, případně s odběrem krvetvorných buněk v zájmu záchrany života druhého člověka.

Děkuji za pozornost