

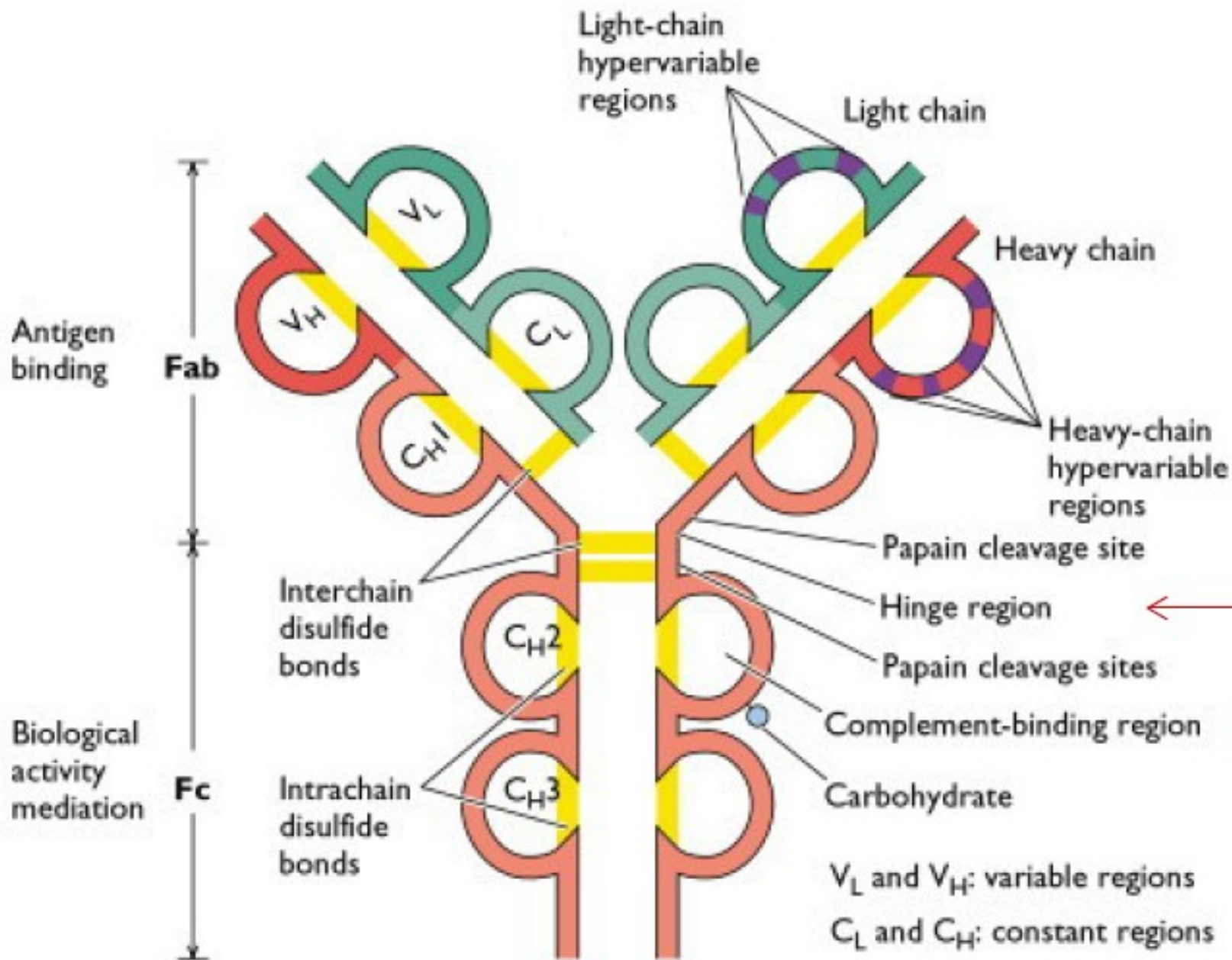
Imunologie leukocytů a
trombocytů
Transplantologie

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 30% 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
- 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)

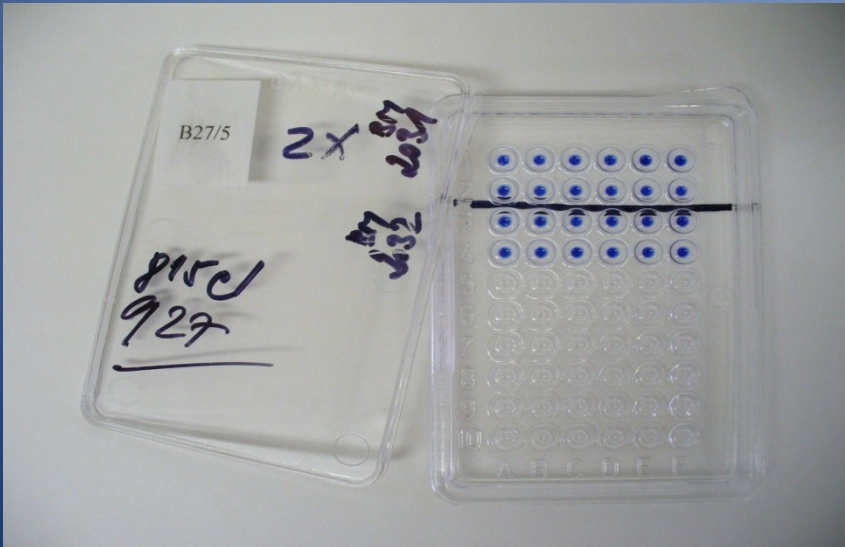
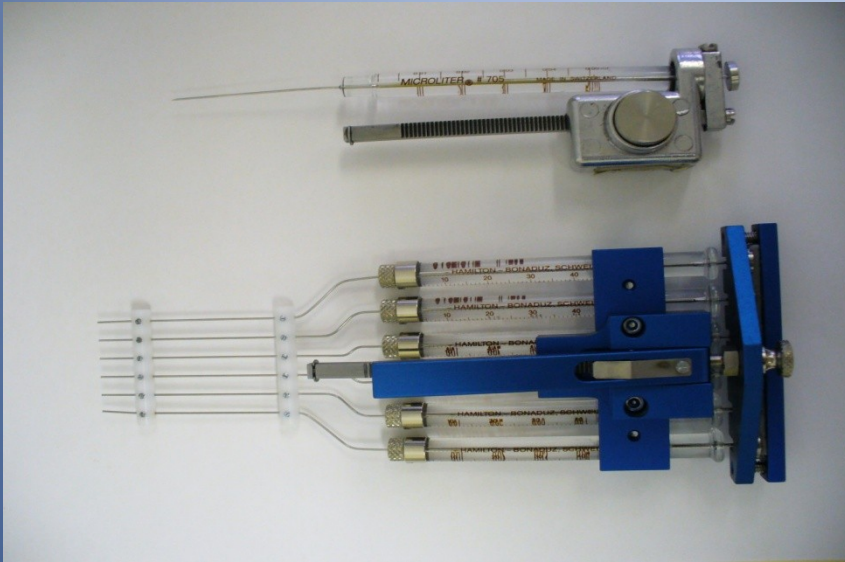
Detekce anti-HLA protilátek

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.

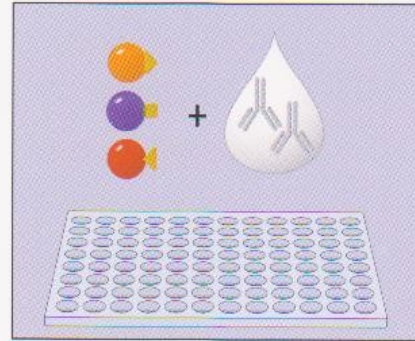
Detekce anti-HLA protilátek pomocí analyzátoru (Luminex)

- 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).

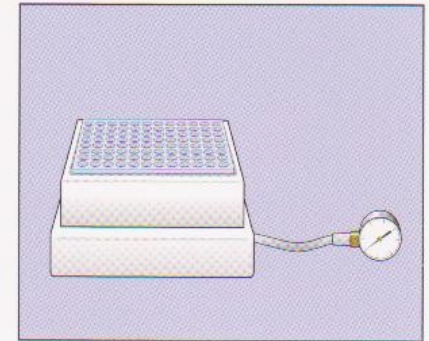


Detekce anti-HLA protilátek – Luminex

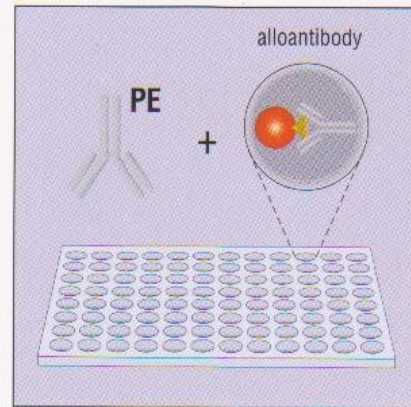
- barevně značené mikročástice s navázanými HLA antigeny
- inkubace mikročástic se sérem pacienta
- přidání fluorescenčně značené sekundární protilátky
- detekce pomocí laserových paprsků



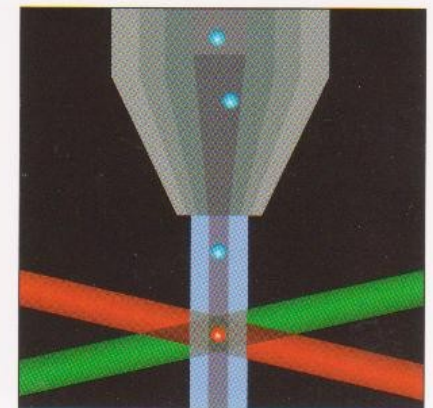
1. Mix beads coupled to purified HLA antigens with patient sera in a membrane filter plate. Incubate for 30 minutes.



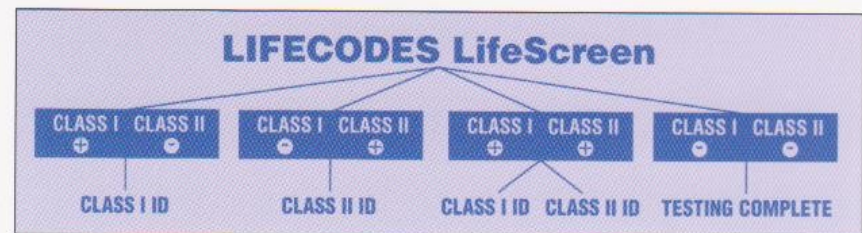
2. Wash 3x using a vacuum manifold

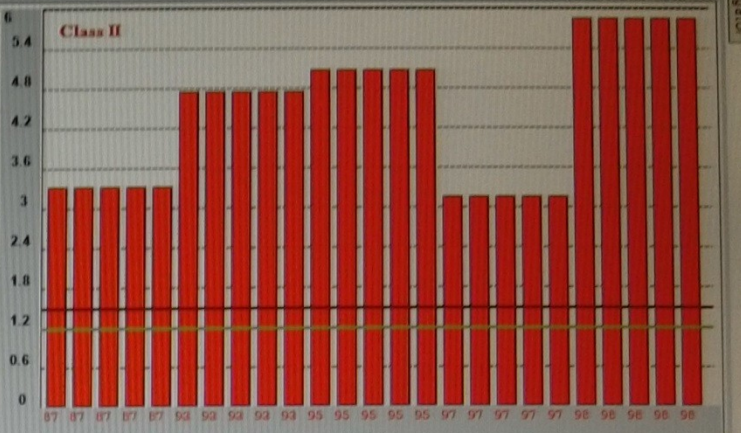
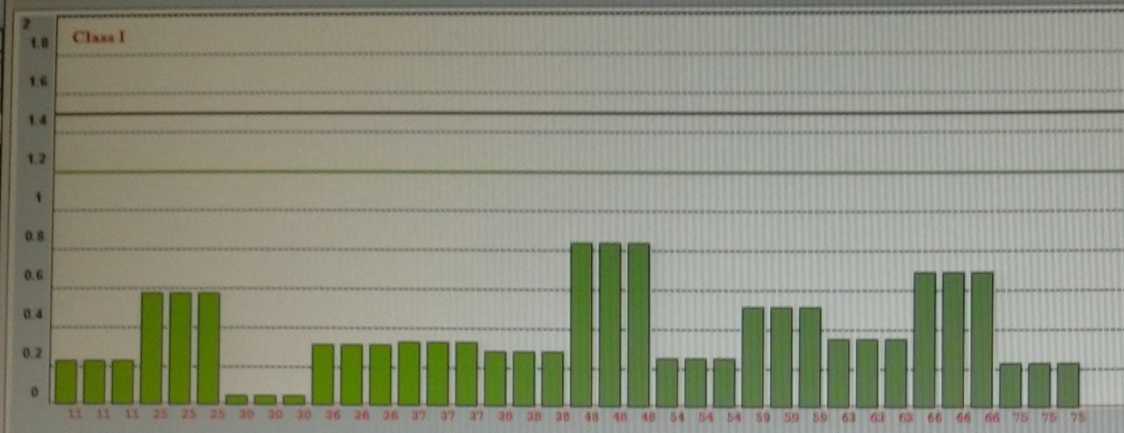


3. Add antihuman IgG with PE to membrane filter plate. Incubate 30 minutes.



4. Analyze in the Fluoroanalyzer





| Sample ID | DR | DR | DR | DR | DQ | DQ | DP | DP |
|-----------|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 11 | 1 | 1 | 1 | 1 | 6 | 6 | 2 | 6 |
| 25 | 1 | 1 | 1 | 1 | 6 | 6 | 1 | 7 |
| 30 | 1 | 1 | 1 | 1 | 6 | 6 | 1 | 10 |
| 36 | 1 | 1 | 1 | 1 | 4 | 4 | 1 | 10 |
| 37 | 1 | 1 | 1 | 1 | 4 | 4 | 1 | 8 |
| 38 | 1 | 1 | 1 | 1 | 4 | 4 | 1 | 10 |
| 48 | 2 | 2 | 2 | 2 | 6 | 6 | 2 | 16 |
| 54 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 3 | 15 |
| 59 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 2 | 12 |
| 63 | 2 | 2 | 2 | 2 | 6 | 6 | 7 | 8 |
| 66 | 2 | 2 | 2 | 2 | 6 | 6 | 6 | 16 |
| 75 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 4 | 14 |
| 87 | 1 | 1 | 1 | 1 | 5 | 5 | 3 | 4 |
| 87 | 1 | 1 | 1 | 1 | 5 | 5 | 2 | 4 |
| 87 | 1 | 1 | 1 | 1 | 5 | 5 | 2 | 4 |
| 87 | 1 | 1 | 1 | 1 | 5 | 5 | 2 | 4 |
| 87 | 1 | 1 | 1 | 1 | 5 | 5 | 2 | 4 |
| 93 | 7 | 7 | 7 | 7 | 8 | 8 | 2 | 4 |
| 93 | 7 | 7 | 7 | 7 | 8 | 8 | 2 | 4 |
| 93 | 7 | 7 | 7 | 7 | 8 | 8 | 2 | 4 |
| 93 | 7 | 7 | 7 | 7 | 8 | 8 | 2 | 4 |
| 93 | 7 | 7 | 7 | 7 | 8 | 8 | 2 | 4 |
| 95 | 4 | 4 | 4 | 4 | 9 | 9 | 2 | 5 |
| 95 | 4 | 4 | 4 | 4 | 9 | 9 | 2 | 5 |
| 95 | 4 | 4 | 4 | 4 | 9 | 9 | 2 | 5 |
| 95 | 4 | 4 | 4 | 4 | 9 | 9 | 2 | 5 |
| 95 | 4 | 4 | 4 | 4 | 9 | 9 | 2 | 5 |
| 97 | 9 | 9 | 9 | 9 | 5 | 5 | 1 | 2 |
| 97 | 9 | 9 | 9 | 9 | 5 | 5 | 1 | 2 |
| 97 | 9 | 9 | 9 | 9 | 5 | 5 | 1 | 2 |
| 97 | 9 | 9 | 9 | 9 | 5 | 5 | 1 | 2 |
| 97 | 9 | 9 | 9 | 9 | 5 | 5 | 1 | 2 |
| 98 | 4 | 4 | 4 | 4 | 8 | 8 | 1 | 4 |
| 98 | 4 | 4 | 4 | 4 | 8 | 8 | 1 | 4 |
| 98 | 4 | 4 | 4 | 4 | 8 | 8 | 1 | 4 |
| 98 | 4 | 4 | 4 | 4 | 8 | 8 | 1 | 4 |
| 98 | 4 | 4 | 4 | 4 | 8 | 8 | 1 | 4 |

Class I & II MIC

Statistics

PC: (002) 18,128.64
 NC: (001) 88.12
 PC/NC: 205.73

NC Threshold (CL1): 50(50)
 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):

Class I

Computer Assignment **Negative**

Final Assignment

Positive
 Negative
 Undetermined

Class II

Computer Assignment **Positive**

Final Assignment

Positive
 Negative
 Undetermined

MIC

Computer Assignment **Negative**

More Test Raw Data Save>> Confirm>>

HNA antigeny (Human Neutrophil Antigens)

- známo 9 antigenů, které jsou uspořádány do 5 HNA systémů:
- **HNA-1** má 3 alely: **HNA-1a**, **HNA-1b**, **HNA-1c**, HNA-1 specifický pro neutrofilly
- vzácně HNA-1 null fenotyp –na povrchu buněk chybí, možnost tvorby protilátek
- Funkce - přispívá k fagocytóze opsonizovaných mikroorganismů

- **HNA-2 antigen** – antigen bez alelické variace, specifický pro neutrofilly
- typická heterogenní exprese jedince (jedinec má subpopulaci neutrofilů s HNA-2 a subpopulaci bez HNA-2)
- vyšší exprese HNA-2 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, - 3b** antigen - exprese na neutrofilech, lymfocytech, trombocytech, další tkáně – plíce, játra, střevo
- protilátky a-HNA-3a schopné aglutinovat neutrofilly
- funkce neznámá

- **HNA-4a, -4b**
- 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 rozdílným HNA antigenům plodu nebo jako transplacentární přenos protilátek od matky s autoimunitní neutropenií
- mateřské protilátky (IgG) přechází přes placentu a ničí neutrofilů plodu
- ANN se vyskytuje 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-2, 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-2, HNA-4a

Dospělí:

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

Detekce antigranulocytárních protilátek

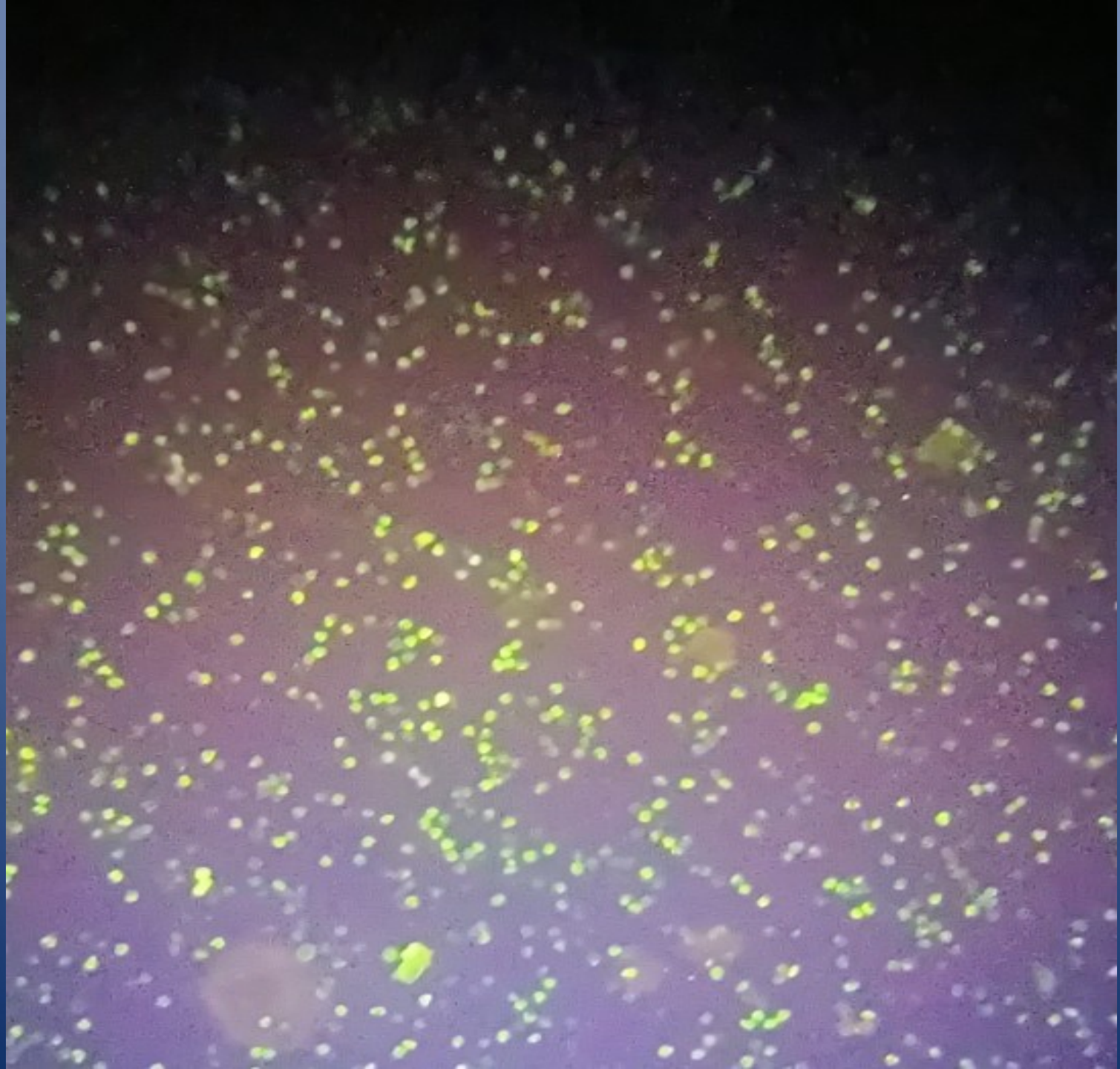
Granuloaglutinační test (GA)

- 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.

Detekce a-HNA protilátek na analyzátoru Luminex



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 β 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

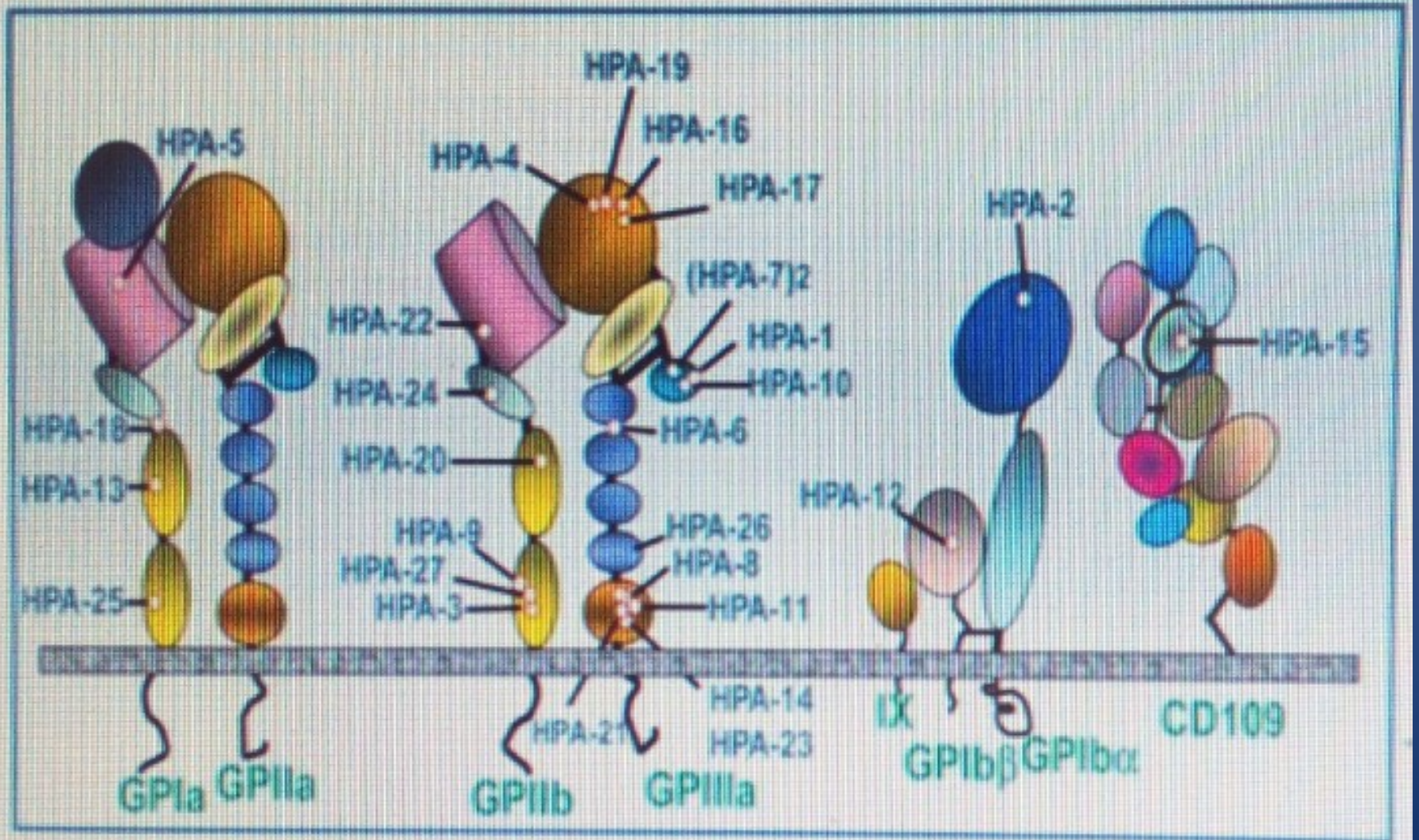
Výskyt monocytárních protilátek:

- 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 (AB0, P, Kell, Duffy), HLA systému (antigeny I. třídy)
 2. antigeny, specifické pro trombocyty - **HPA antigeny** (známo 41 alel)
- 16 alel uspořádáno do 8 bialelických systémů - HPA-1, HPA-2, HPA-3, HPA-4, HPA-5, HPA-6, HPA-9 a HPA-15
- a= běžná alela; b= méně běžná alela
- Uspořádány na 6 trombocytových glykoproteinech
- Jako první HPA antigen byl určen HPA-1a (98% populace)
- protilátka a-HPA-1a nejčastější příčinou **fetální a neonatální 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

Fetální a neonatální aloimunitní trombocytopenie (FNAIT)

- 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 FNAIT 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 FNAIT jsou vyvolány inkompatibilitou v ostatních HPA antigenech
- Tvorba a-HPA Ab asociována s alelami HLA-DRB3*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 trombocyty

Pasivní aloimunitní trombocytopenie

- vyskytuje se u pacientů po transfuzi plazmy od imunizovaného dárce obsahující specifickou aloprotilátku - anti-HPA-1a a anti-HPA-5b
- trombocytopenie nastává okamžite (na rozdíl od PTP)
- V tomto případě je nutné vyřazení dárce transfuzního přípravku
- FN Brno – plazma pro klinické účely se již nepoužívá, nahrazeno krevním derivátem Octaplas

Refrakternost k podání trombocytových transfuzních přípravků

- charakterizována malým vzestupem počtu trombocytů po transfuzi
- příčina - klinickými faktory (sepse, splenomegalie, akutní krvácení, účinky léků)
 - přítomnost protilátek (většinou a-HLA, méně často a-HPA)
- hemoterapie - HLA kompatibilní trombocytové transfuzní přípravky (registr HLA otypovaných dárců, cross-match)
- v případě výskytu a-HPA - křížová zkouška mezi trombocyty dárce a sérem příjemce (DIFT, Capture, FC)

Autoimunitní trombocytopenie (ITP)

- u dětí i dospělých
- je charakterizována destrukcí trombocytů autoprotílátkami
- většina protilátek patří do třídy IgG, IgM zřídka 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

Poléková imunitní trombocytopenie (drug-induced immune thrombocytopenia, DITP)

- léky způsobující pokles trombocytů - nejčastějším antiepileptika, analgetika a některá antibiotika
- tvorba autoprotilátek nebo lékově specifických protilátek
- destrukce trombocytů v retikuloendotelovém systému
- manifestace 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
- Některé nápoje obsahují chinin, který může spustit DITP

Screeningové testy na zachycení antitrombocytárních protilátek

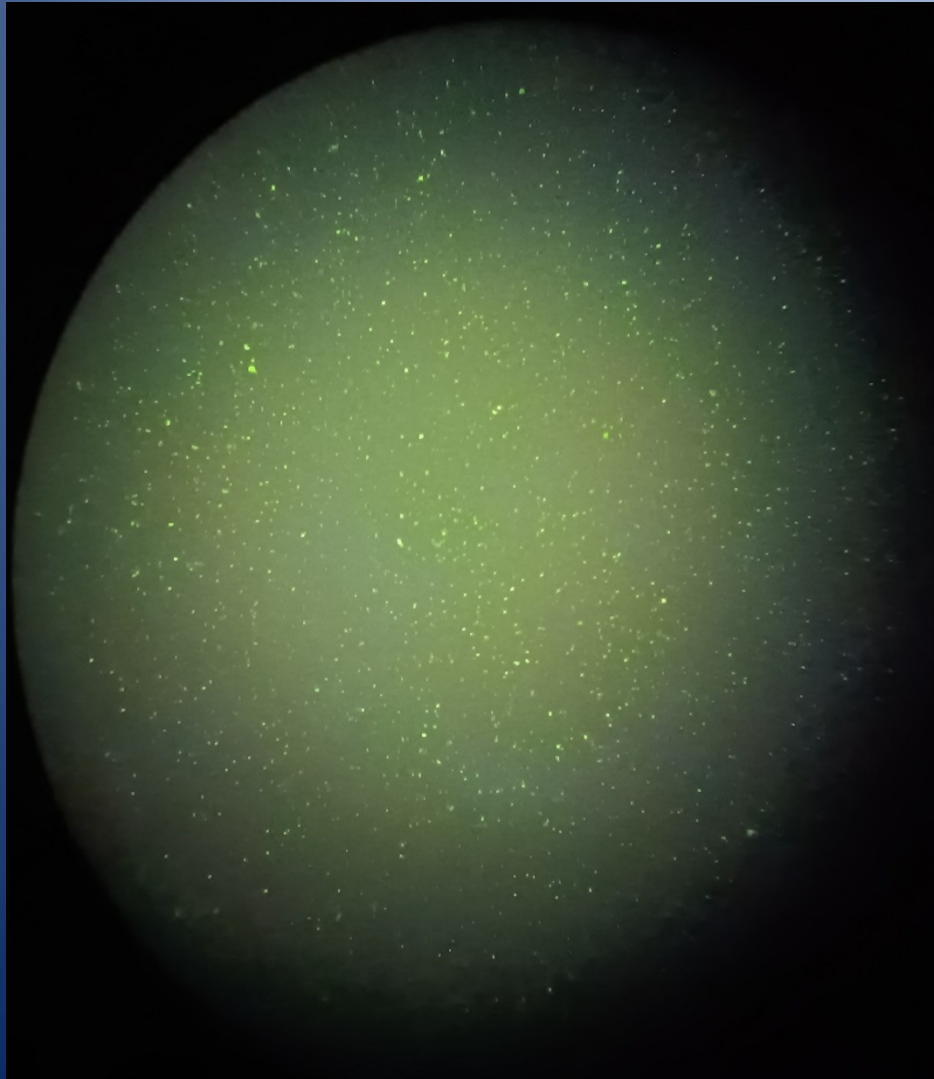
DIFT (destickový imunofluorescenční test)

- zachycuje specifické antitrombocytární protilátky (i a-HLA I. tř.)
- vazba protilátky z vyšetřovaného séra na trombocyty (dárce krve)
- vizualizace navázané protilátky – sekundární anti-lidská protilátka značeného fluoresceinem
- detekce protilátek třídy IgG, IgM, IgA

CAPTURE-P (metoda pevné fáze)

- screening IgG protilátek proti trombocytům (i a-HLA I. tř.)
- stripy potaženy látkou umožňující navázání jednolité vrstvy trombocytů (směs trombocytů od 2 dárců KS 0) – promytí
- séra pacientů, inkubace 60' / 37°C, promytí
- indikátorové erythrocyty, centrifugace
- Negativní test – terčík erythrocytů
- Pozitivní test – adherence erythrocytů na ploše jamky

DIFT



CAPTURE -P



Průtoková cytometrie (FC)

- měření a analýza fyzikálně-chemických vlastností buňky během průchodu laserovým paprskem
- identifikace různých buněčných typů uvnitř populace
- rychlá, přesná a reprodukovatelná metoda, současné měření několika parametrů až na 100 000 buněk za 1 sekundu



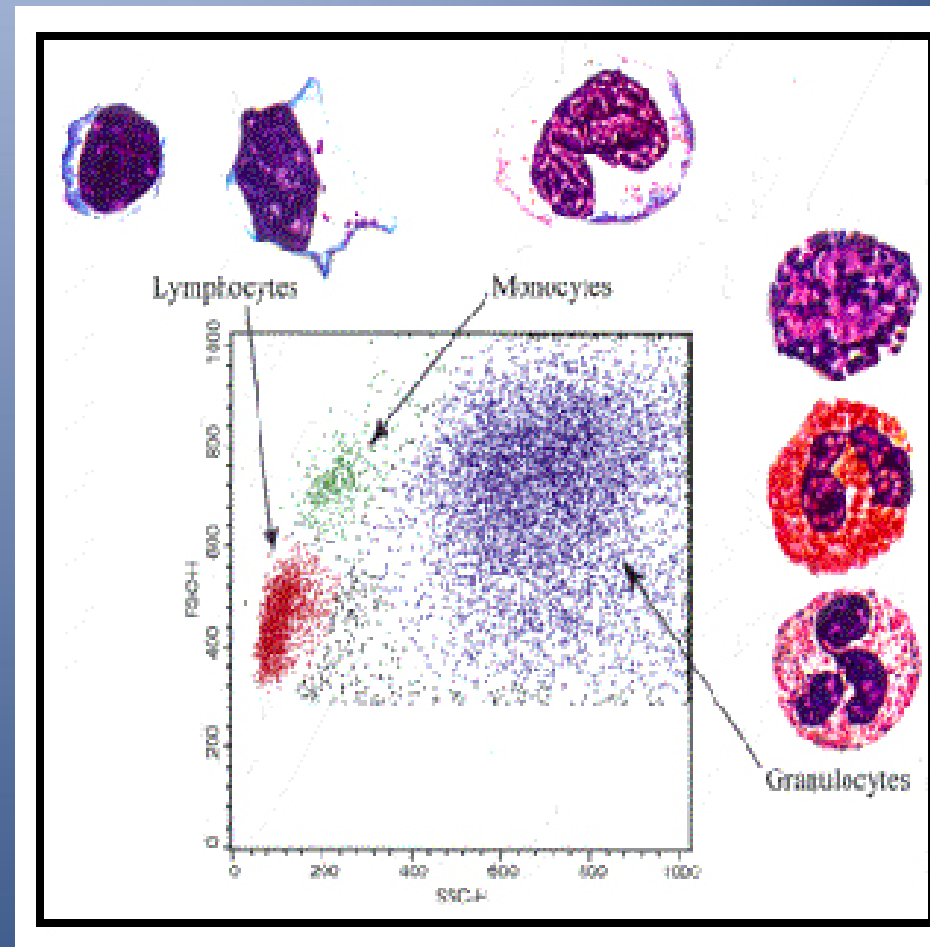
Průtoková cytometrie (FC)

- 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

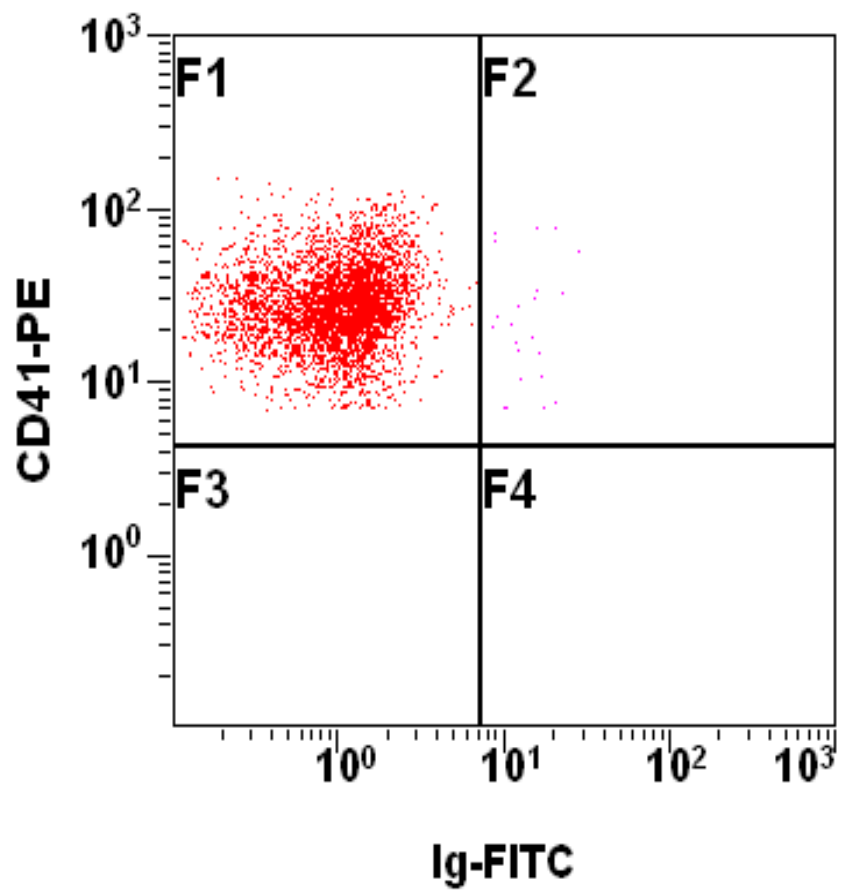
Forward scatter channel (FSC, rozptyl v přímém směru)-velikost částic, odlišení buněčné debris od živých buněk

Side scatter channel (SSC, rozptyl pod úhlem 90°)- informace o granularitě buněk

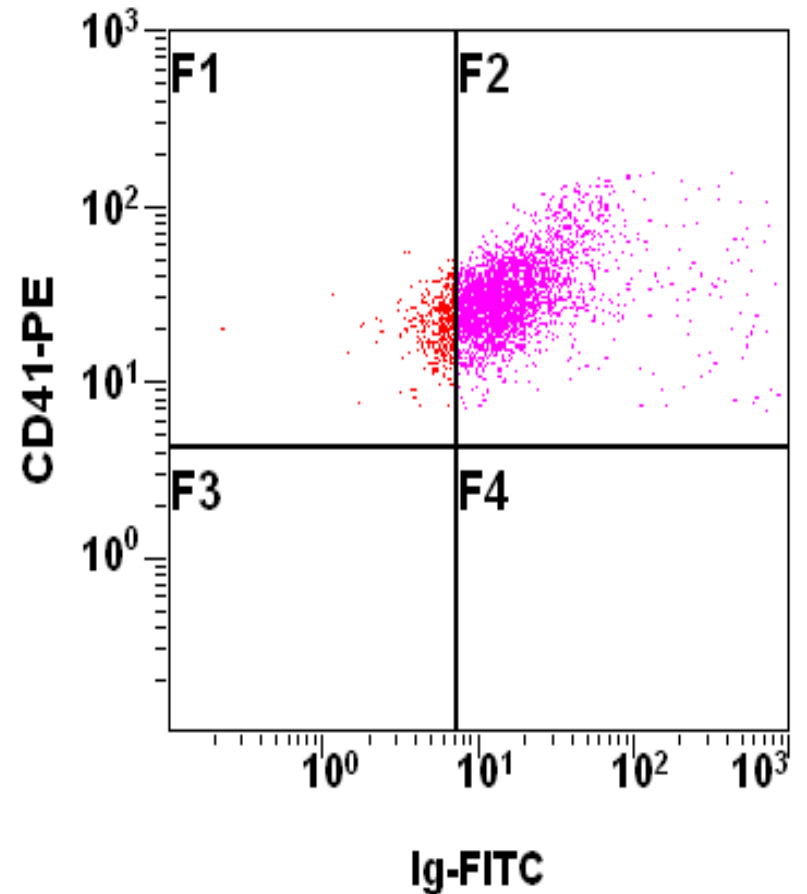
FSC, SSC – jedinečné pro každou částici,

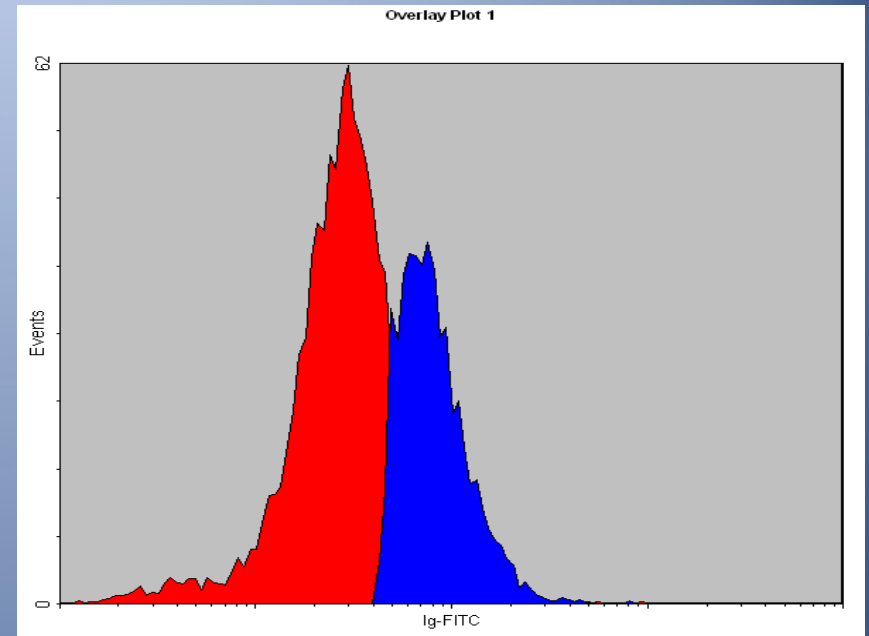
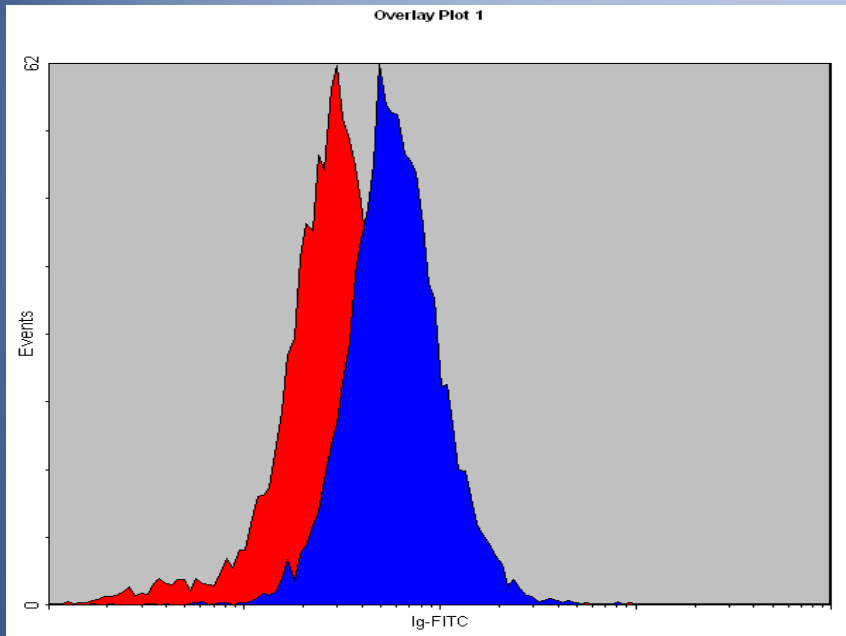


DJ P8 plt-Ig prumK 00048135.001 : FL1 Log/FL2 L

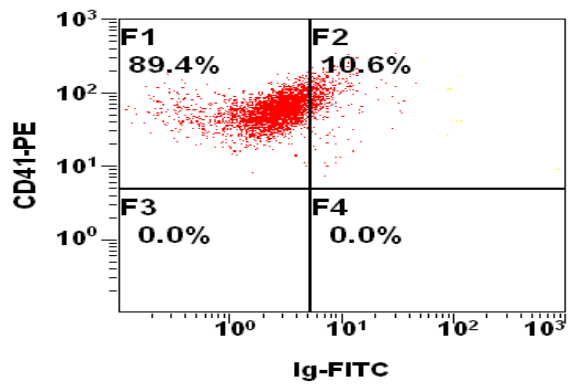


D DJ P8 plt-Ig clg 00048136.002 : FL1 Log/FL2 L

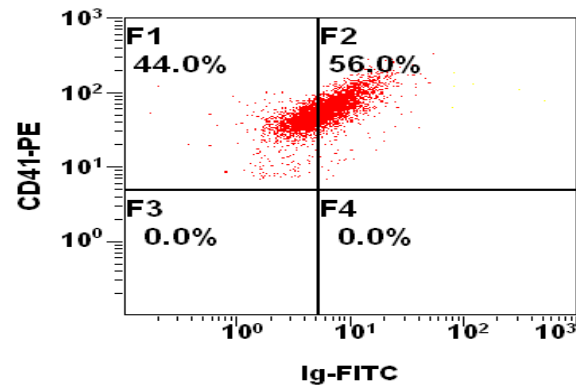




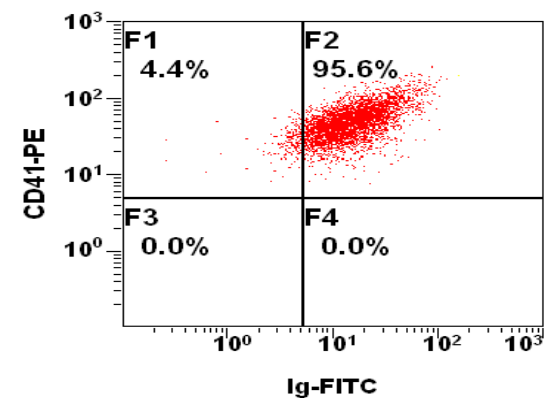
D] K19 plt-Ig IgG 00048283.003 : FL1 Log/FL2
 D] K19 plt-Ig IgG 00048283.003 : FL1 Log/FL2



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)
- 2. pacient (58 let) 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
- Nedokonalé imunosuprese - umrtí na akutní rejekci 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
- r.1984 - 1.Tx srdce v České republice byla provedena v pražském IKEMu
- r. 1992 v Brně – zahájena činnost 2. českého transplantačního centra (CKTCH Brno)
- Dnes cca 40 – 50 Tx ročně v CKTCH Brno

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
- březen 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.
- 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
- Dnes cca 40 – 50 Tx ročně v CKTCH Brno

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 – rozvoj Tx ledvin
- r.1998 provedena 1. kombinovaná Tx srdce a ledviny
- 14.10.1999 v Brně provedena 1. Tx ledviny darované sourozencem
- Tx od žijících dárců přináší lepší výsledky než od zemřelých dárců
- r. 2005 Tx všech tří orgánů jako první v ČR (srdce , játra, ledvina)
- Dnes cca 40 – 50 Tx ročně v CKTCH Brno

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 dárci 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 ischémie než u dárců žijících
Žijící dárce – kratší doba studené ischémie, 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 dárci jsou hlavní možností pro čekatele na Tx, u žijících dárců zůstává v popředí neohrozit dárce.
- Dárci 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 krvetvorných buněk

- Krvetvorné buňky podány do žíly jako transfuze po předchozí chemoterapii nebo ozáření
- Po autologní a syngenní Tx dochází k plnohodnotné produkci krvetvorných buněk přibližně za 2 týdny
- Po alogenní Tx dojde k přihojení krvetvorby 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
- Krvetvorné buňky lze podávat nemocnému hned po odběru nebo je možné je zamrazit v tekutém dusíku a podat pak po rozmražení
- Tx krvetvorných buněk může být komplikována infekcemi, krvácením nebo „nemocí štěpu proti hostiteli“



Registry dárců kostní dřeně

- **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.
- rozvíjení registrů DKD v jednotlivých zemí
- Společný mezinárodní seznam byl nazván **Bone Marrow Donors Worldwide (BMDW) – Dárci dřeně celého světa.**

- 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 18-35 let
 - dobrý zdravotní stav
 - váha nad 50 kg
 - ochota překonat určité nepohodlí a ztrátu času, spojené s jednou či několika návštěvami zdravotnického zařízení, případně s odběrem krvetvorných buněk

Děkuji za pozornost