

Transplantační imunologie

Historie:

První doložené zprávy o pokusech s transplantacemi jsou cca z počátku minulého století:

1902 provedena transplantace ledviny u psa, orgán byl napojen na krční cévy a údajně fungoval několik dnů

1952 byla provedena první transplantace ledviny u člověka, z matky na dítě

1954 první nepřibuzná transplantace ledviny, příjemce žil 9 let

1961 transplantována ledvina poprvé v ČR u 16leté pacientky v Hradci Králové

1963 první transplantace jater, plic ve světě. Je pozoruhodné, že ačkoli transplantace jater je z chirurgického pohledu velmi náročná operace, byla uskutečněna o pět let dříve než transplantace srdce.

1967 první transplantace srdce v JAR chirurgem Christiaanem Barnardem (1922-2001), který se stal velkým popularizátorem transplantační problematiky, napsal několik knih, z nichž mnohé se staly bestselery (*Jeden život* 1969, *Druhý dech* 1994) 3. prosince 1967 v nemocnici Groote Schuur v Kapském městě transplantoval srdce *Louisi Washkanskemu*, který měl srdeční vadu a umíral na selhání. Srdce, které mu bylo voperováno, patřilo mladé dívce, která se stala obětí autonehody. Samotná transplantace byla úspěšná a vyvolala celosvětovou senzaci. Následně se však dostavily komplikace a pacient po 18 dnech zemřel na infekci. Další pacient byl zubař *Philip Blaiberg* (2. ledna 1968), který žil po operaci 563 dní. V době rehabilitace napsal knihu *Looking at My Heart*.

1968 poprvé transplantována kostní dřev

1983 poprvé transplantovány játra v ČR, v Brně, od roku 1986 potom rozvoj transplantologie v ČR.

Významné objevy, které umožnily rozvoj, resp. posun v transplantologii:

60. léta: rozvoj chirurgických operačních technik, začal se používat prednison a azathioprin jako imunosupresiva

70. léta: zavedení tzv. antilymfocytárních sér jakožto substance s imunosupresivním účinkem, používalo se zejména při odvrácení hrozící rejekce štěpu.

80. léta: zaveden cyklosporin jako velmi účinné imunosupresivum, to znamenalo velký skok v rozvoji transplantologie. Dále v této době začaly být používány monoklonální protilátky, např. monoklonální protilátka s názvem OKT 3 je namířena proti CD 3 receptoru T lymfocytů a interakcí s receptorem blokuje funkci lymfocytů a tím může pomoci odvrátit hrozící rejekci.

90. léta: začal se projevovat nedostatek dárců/orgánů, což představuje vážnou limitaci dalšího rozvoje transplantologie a přináší i otázky nad její existencí jako takovou. Pozornost se začíná soustředit na xenotransplantační problematiku – tedy přenos mezi druhy.

Vybrané pojmy:

Autotransplantace - přenos tkání v rámci jednoho individua

alotransplantace - přenos v rámci stejného druhu – sem patří naprostá většina transplantací v humánní medicíně.

xenotransplantace - přenos z jiného druhu

syngenní transplantace - týká se experimentálních zvířat a značí přenos mezi inbredními kmeny.
ortotopická transplantace - orgán se umísťuje na stejné místo, kde byl původní, tedy do své anatomické pozice

heterotopická – orgán se umísťuje tam, kde to anatomické poměry v operačním poli umožňují, přičemž původní orgán je ponechán a může mít i částečně ponechanou svou funkci, tedy být napojen na cévní řečiště a jakoby „pomáhat“ novému orgánu. Dělat se spíše v dobách rozvoje a hledání vhodných operačních technik.

štěp – původně se tak označoval transplantovaný orgán u kterého se nenapojuje cévní řečiště, např. při transplantaci kostní dřevě. Naproti tomu pojem transplantace solidních orgánů, resp. solidní orgán označuje případ, kdy se orgán našívá na cévní řečiště, např. ledvina, játra. V současnosti se však od této terminologie upouští a běžně se hovoří o štěpu, když máme na mysli např. ledvinu.

Které orgány lze transplantovat: teoreticky všechny.

Nejčastěji transplantované solidní orgány: ledviny, játra, srdce, pankreas, tenké střevo (to je dost komplikované)

Méně časté: velké klouby, celé končetiny, obličej, cévní zejména arteriální štěpy, kožní štěpy (ty často v autologním režimu)

Časté: rohovky – zde výhoda v tzv. imunoprivilegovaném místě – tzn. imunitní systém příjemce zde nerozvíjí rejekční reakci. Mezi taková imunoprivilegovaná místa patří typicky oko, technicky jde o to, že lymfocyty se díky specifikům cévního řečiště nedostávají do místa reakce. Rohovka není za normálních okolností vaskularizovaná.

Směřování do budoucna: pravděpodobně rozvoj xenotransplantací s využitím geneticky manipulovaných zvířat a dále využívání produktů klonovacích technik. Důležitý je i rozvoj transplantčních programů národních i nadnárodních a zdokonalování databází vhodných orgánů x čekatelů, aby orgány vhodné k transplantaci „nepřišly nazmar“.

HLA antigeny:

Geny pro antigeny hlavního histokompatibilního komplexu se u člověka nacházejí na krátkém raménku 6. chromosomu. Lokusy A, B, C kódují tzv. HLA I. třídy, které se nacházejí na jaderných buňkách. Antigeny HLA II. třídy jsou kódovány lokusem D a jsou exprimovány na antigen prezentujících buňkách. Na krátkém raménku 6. chromosomu jsou kódovány i složky pro komplement a to v tzv. HLA III. oblasti.

U jednotlivých orgánových transplantací není potřeba shody v HLA systému mezi donorem a recipientem stejná. Obecně jsou pro úspěšné přihojení důležitější HLA II třídy, v některých případech se vyžaduje i shoda v ABO systému krevních skupin. Naopak tzv. vedlejší histokompatibilní systémy nehrají v transplantologii důležitou roli.

Největší potřeba shody v MHC genech je u transplantací kostní dřevě, ideálně úplná shoda. Toho může být dosaženo pouze při autotransplantaci nebo při transplantaci od homozygotního dvojčete nebo od tzv. HLA identického sourozence. Geny HLA systému jsou na chromosomu

umístěny blízko sebe, nedochází v tomto místě ke crossing over a oblast se dědí v bloku jako tzv. HLA haplotyp.

Sourozenci mají 25% šanci, že budou MHC kompatibilní. Reálná naděje na existenci HLA identického sourozence je ale závislá na počtu potomků v rodinách.

Specifika jednotlivých orgánů:

Transplantace ledviny: prováděna nejčastěji z diagnózy terminálního renálního selhání z různých příčin. Ve srovnání s dialýzou nedochází k tak velkým vedlejším účinkům a transplantace jsou ve svém výsledku i levnější variantou. Ledviny lze transplantovat od žijících i zemřelých dárců, přičemž v posledních letech stoupá počet transplantací od žijících dárců.

U ledvin je požadována shoda nebo aspoň kompatibilita (0 je univerzální) v ABO systému krevních skupin, negativní křížová zkouška s dárcovými T lymfocyty, při které se zjednodušeně řečeno smíchá sérum příjemce s lymfocyty dárce a hodnotí se míra reakce lymfocytů. Aby byla reakce negativní, tak příjemce nesmí mít vytvořené cytotoxické protilátky proti MHC I molekulám dárce. V případě zemřelého dárce se lymfocyty získají z dárcovy sleziny. Dále se požaduje co největší míra shody v HLA, zejména v D lokusu.

Po provedení transplantace bývá nutné pacienta ještě určitou dobu (dny až týdny) dialyzovat z důvodu tzv. akutní tubulární nekrózy. Častěji se to objevuje při transplantaci od zemřelých dárců a hlavní příčinou je snížení průtoku krve ledvinou v důsledku nižšího tlaku krve nebo jiných příčin. Jednovrstevný kubický epitel tubulů je na tyto změny velice citlivý.

U transplantací ledvin je dobře prozkoumána problematika tzv. preaktivovaného orgánu: bylo vyzorováno, že při transplantacích od žijících dárců jsou lepší výsledky co do přežití než při transplantacích od zemřelých dárců, a to i v případech, kdy byla menší míra shody v HLA a méně příznivé různé další parametry. Toto lze vysvětlit mechanismem preaktivace: v období od odebrání orgánu z dárce do doby, než je dokončeno napojení na cévy příjemce dochází v orgánu k ischemii a následné reperfuzi. Tedy přerušení a následném znovuoobnovení průtoku krve. Ukazuje se, že v tomto období může v orgánu docházet k zvýšené produkci prozánětlivých cytokinů a ke zvýšené expresi adhezivních molekul na endotelu a celkově vyšší expresi molekul MHC na buňkách. Někdy se toto nazývá také zesílený kontext rozpoznávání. Po obnovení průtoku krve na takto změněný endotel adhezuje více leukocytů a ty mohou ve větší míře produkovat reaktivní kyslíkové metabolity, které poškozují tkáň transplantovaného orgánu.

V případě transplantací od žijících dárců je celá procedura efektivněji organizovaná a zkracuje se tak doba „skladování“ orgánu. U ledvin by neměla překračovat 48 hodin. Čím delší, tím více hrozí preaktivace v tkáni. Dále bylo zjištěno, že orgány z dárců, kteří zemřeli v důsledku úrazu, mají horší prognózu fungování v těle příjemce – zde dochází k produkci prozánětlivých cytokinů a změnám endotelu v důsledku reakce na poranění a snížení průtoku krve orgány v důsledku krvácení při úrazech.

Rejekce je hlavním imunologickým problémem u transplantací. Na příkladu ledviny lze dobře popsat tři základní typy rejekce:

Hyperakutní rejekce - objevuje se v řádu hodin po transplantaci a podstatou je reakce již předem existujících dárcových protilátek které reagují v MHC I molekulami na buňkách dárcova orgánu. Vznikají imunokomplexy, ty aktivují komplement, zároveň se aktivuje srážecí kaskáda a tvoří se mikrovaskulární tromby. Orgán ztrácí funkčnost, stav nelze řešit, orgán musí být odstraněn a prognóza je špatná. Naštěstí je tento typ rejekce velice vzácnou komplikací díky tomu, že se provádí křížová zkouška séra příjemce s lymfocyty dárce.

Akutní rejekce – nastává týdně až měsíce po transplantaci, nejčastěji do 90 dnů, imunologicky jsou za ní zodpovědné CD4 T helper lymfocyty příjemce. Reakce má dvě fáze: aferentní (rozpoznávání MHC molekul dárce příjemcovými lymfocyty) a eferentní (cytotoxická reakce namířená proti buňkám štěpu uskutečňovaná dárcovými výkonnými mechanismy, tedy Tc lymfocyty, makrofágy, NK buňkami a také protilátkami a komplementem).

Cizí antigeny na buňkách štěpu mohou být rozeznávány:

přímo: T lymfocyty příjemce rozpoznávají přímo MHC molekuly dárce bez jejich zpracování v APC

nepřímo: příjemcovy APC pohltní a zpracují na fragmenty aloantigeny dárce a prezentují je obvyklou cestou lymfocytům příjemce.

Chronická rejekce - vzniká až po delším období v horizontu let, přičemž do té doby orgán dobře fungoval. Podstatou jsou chronické zánětlivé změny doprovázené fibrotizací (zmnožením vaziva) v parenchymu orgánu a imunologická reakce proti cévnímu endotelu ve štěpu, která vede ke zúžení cév a poruchám cirkulace ve štěpu. V artériích dochází k zesílení intimy, medie a intima jsou v důsledku změn na adventicii vytlačovány do lumen cévy a vzniká stenóza. Účastní se toho zejména: CD4 a CD8 lymfocyty, makrofágy, endotel a hladká svalovina medie, oxid dusnatý a cytokiny $INF\gamma$ a $TNF\alpha$ a také metaloproteinázy vytvářené v neutrofilech, které narušují kolagen ve stěně cév.

Retransplantace u ledvin je proveditelná, musí se ale být negativní křížová zkouška, tzn. pacient nesmí mít vytvořeny protilátky proti MHC molekulám dárce. Tyto protilátky se mohly vytvořit v průběhu rejekce první ledviny a není možné je nijak efektivně odstranit ani neutralizovat. Proto nejsou retransplantace časté.

Transplantace jater jsou prováděny nejčastěji prováděny při diagnózách: biliární atrezie, hepatocelulární karcinom, primární biliární cirhóza, konečné stadium hepatitidy B a C. Z chirurgického hlediska je transplantace jater velmi složitá. Je to dáno velikostí orgánu a komplikovaným našíváním orgánu na cévní řečiště. Období, kdy je pacient během operace „bez jater“, klade velké nároky na stabilizaci krevního oběhu kvůli sníženému návratu krve do srdce. Naopak z imunologického hlediska je situace u jater příznivější, neboť rejekce nastávají méně často a jsou slabší. Pacienti tedy nevyžadují tak silnou imunosupresi jako u ledvin.

Před operací se provádí křížová zkouška na protilátky MHC, ale shoda HLA není rutinně testována. Kompatibilita AB0 systému se požaduje. Jaterní tkáň uvolňuje dárcovy HLA molekuly do svého okolí v solubilní formě a tyto, byť jsou přítomny v malém množství, mohou vylákat příjemcovy protilátky. Vzniklé imunokomplexy pak vylučují Kupfferovy buňky, kterých je velmi početná populace. Tím vzniká určitá ochrana orgánu před rejekcí.

Z imunologického hlediska nastává v játrech kuriózní situace: Kupfferovy buňky, jakožto zástupce monocyto-makrogagové řady v jaterní tkáni, jsou od příjemce a játra jsou jimi osídleny z krevního oběhu. Hepatocyty a buňky žlučových cest jsou dárcovského původu. Sérové proteiny vznikají v hepatocytech, jsou tedy také dárcovského původu a pro příjemce mohou částečně působit jako „cizí“. Předpokládá se, že se zde funguje tzv. mechanismus nadprahové tolerance.

Transplantace srdce jsou prováděny z důvodu kardiomyopatií, onemocnění koronárních tepen, revmatologických onemocnění srdce, vrozených vad, benigních nádorů. Je požadována kompatibilita AB0 systému, shoda HLA není požadována, ačkoli provedené retrospektivní studie ukázaly lepší míru přežití při použití MHC II kompatibilních orgánů. Jelikož možnost podpůrné terapie jako je u ledvin dialýza je u srdce omezená, je nutné pečlivě hlídat hrozící rejekci orgánu. Pomocí biopsie se v případě potřeby odebírají vzorky tkáně z transplantovaného srdce a sleduje se v nich míra exprese MHC molekul na buňkách myokardu. Za normálních okolností je nízká (proto se nemusí tolik dbát na MHC kompatibilitu). Při rejekci se tato exprese zvyšuje stejně jako se zvyšuje infiltrace tkáně imunitními buňkami. Hlavním problémem je zesílená ateroskleróza v cévách koronárního řečiště, jedná se tedy o vaskulopatii v rámci chronické rejekce. Jelikož při operaci je do určité míry porušena inervace a už se kompletně neobnoví, tak toto ucpávání koronárních tepen není doprovázeno známou bolestivostí na hrudi (angina pectoris) a problém tak může být odhalen pozdě. Dalšími projevy vaskulopatií jsou změny na EKG, překrvení srdce a arytmie.

Transplantace plic je prováděna z např. diagnózy fibrotizující alveolitidy, cystické fibrózy, primární plicní hypertenze aj. Technicky je možné transplantovat jednu plíci, obě plíce nebo plíce i srdce zároveň. Největším nebezpečím je akutní rejekce a chronické fibrotické procesy v transplantovaném orgánu. Imunologická podstata těchto dějů odpovídá akutní a chronické rejekci popsané u ledvin.

Transplantace pankreatu se používá jako metoda léčby u diabetiků 1. typu, kteří nereagují na jiné způsoby korekce glykemie. Transplantují se tzv. pankreatické štěpy, což jsou izolované pankreatické ostrůvky. Někdy se transplantace pankreatu kombinuje s transplantací ledvin, které u diabetiků velmi často selhávají.

Kožní štěpy – transplantace se používá jako metoda léčby u rozsáhlých popálenin, kdy je nutné co nejrychleji překrýt poškozený povrch. Používají se alogenní kožní štěpy od zemřelých dárců, které jsou sice časem odvrženy rejekčním procesem, ale do té doby poskytnou pacientovi nezanedbatelný benefit. Navíc při rozsáhlých popáleninách je příjemcův organismus ve stavu celkové imunoprese, která umožní delší dobu přežívání alogenního štěpu. Také se při léčbě popálenin používá i tzv. acelulární lidská dermis od zemřelých dárců.

Transplantace rohovky provádí se poměrně často, je u nich výhoda tzv. imunoprivilegovaného místa tzn. imunitní systém příjemce zde nerozvíjí rejekční reakci. Takových míst je v organismu více a technicky jde o to, že lymfocyty se díky specifickým cévního řečiště nedostávají do těchto míst a nerozvíjí tam imunitní reakci, v tomto případě rejekci. Rohovka není za normálních okolností vaskularizovaná.

