Transzplantációs immunológia

dr. Benkő Sára
OVSZ, Transzplantációs Immungenetikai Laboratórium
2016.06.15.

Transzplantáció = átültetés

Mit?

- szerv (pl. vese, máj, szív, tüdő, hasnyálmirigy, kombinációk, csontvelő)
- szövet (pl. cornea, bőr)
- sejt (pl. haemopoetikus őssejt)

Hova?

- autológ (pl. csontvelő)
- allogén (pl. szolid szerv, haemopoetikus őssejt)
- Xenotranszplantáció (pl. szívbillentyű)

Immunológiai alapok

Immunrendszer:

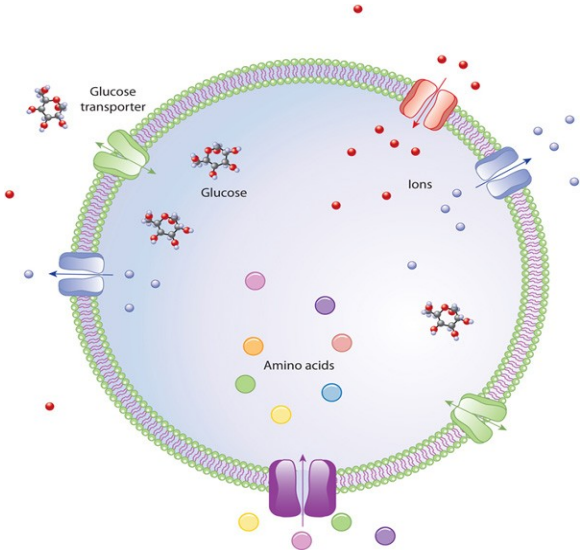
- a szervezet védekező rendszere
- sejtekből (pl. T-sejtek, B-sejtek, macrofágok) és nem sejtes elemekből (pl. immunglobulin molekulák)álló összetett rendszer
- feladata: - felismerni és különbséget tenni a veszélyes és az érdektelen között (akár saját, akár idegen)

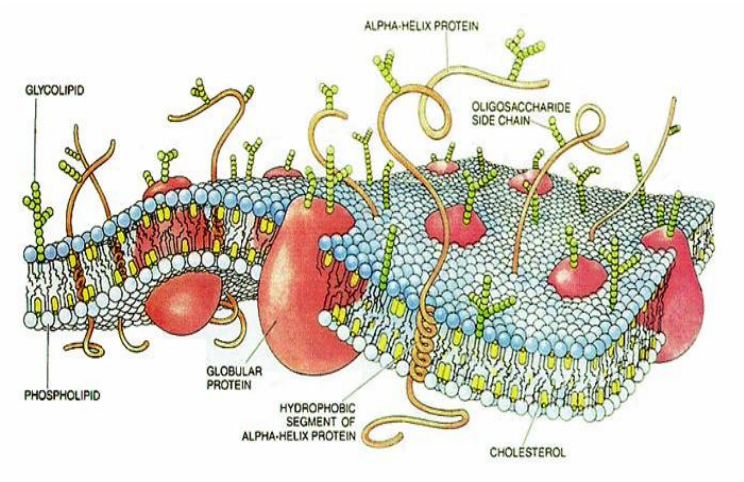
  - hatástalanítani, eltávolítani a szervezet számára veszélyes külső-/belső ellenséget és megtűrni a veszélytelent
- 3 fő lépése: - felismerés

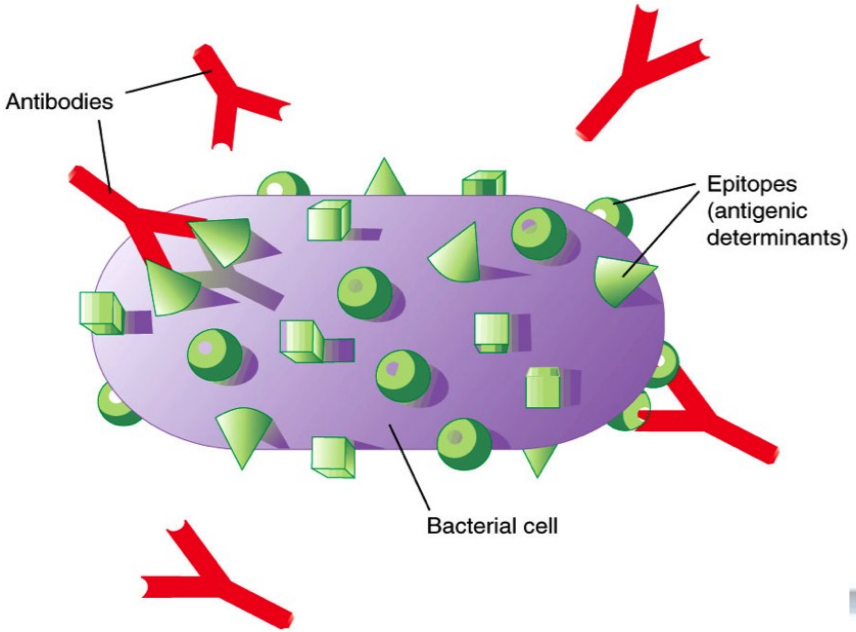
  - információ továbbítása

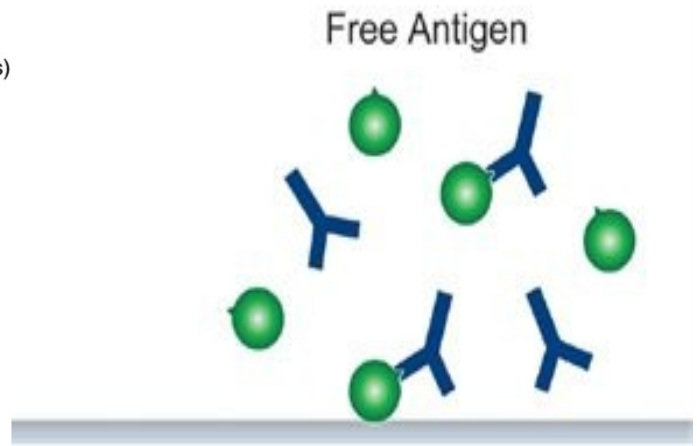
  - végrehajtás
- antigén: minden olyan struktúra (sejt, molekula), amit az érett immunrendszer felismer
- antitest = ellenanyag: az immunválasz részeként az antigén-stimulus hatására a B-limfocitákban termelődő immunglobulin molekula

Antigén?

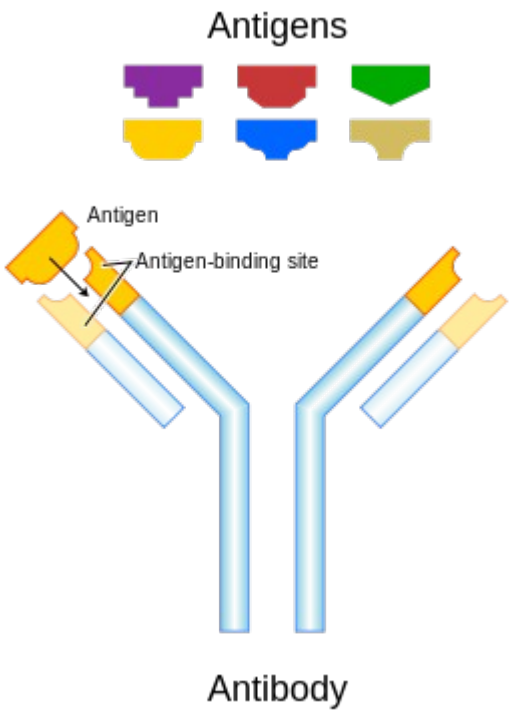

Glucose transporter
Glucose
Ions
Amino acids

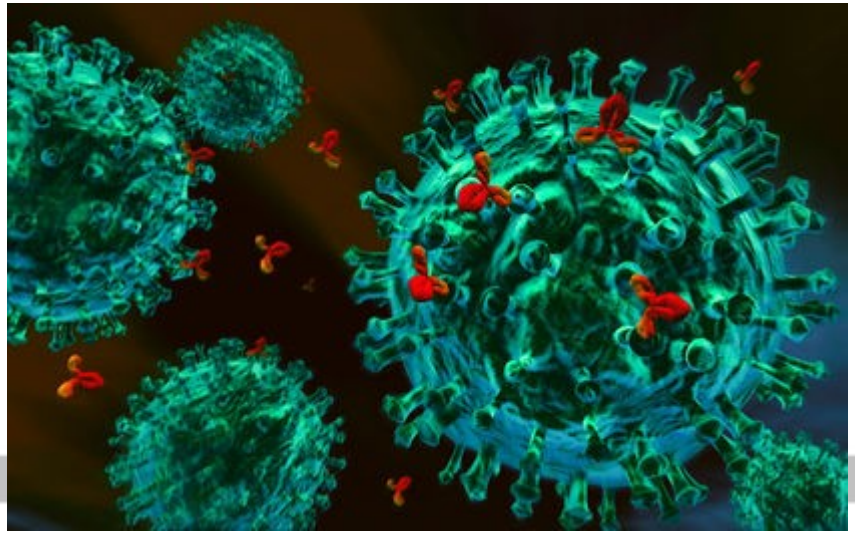

ALPHA-HELIX PROTEIN
GLYCOLIPID
OLIGOSACCHARIDE SIDE CHAIN
GLOBULAR PROTEIN
PHOSPHOLIPID
HYDROPHOBIC SEGMENT OF ALPHA-HELIX PROTEIN
CHOLESTEROL

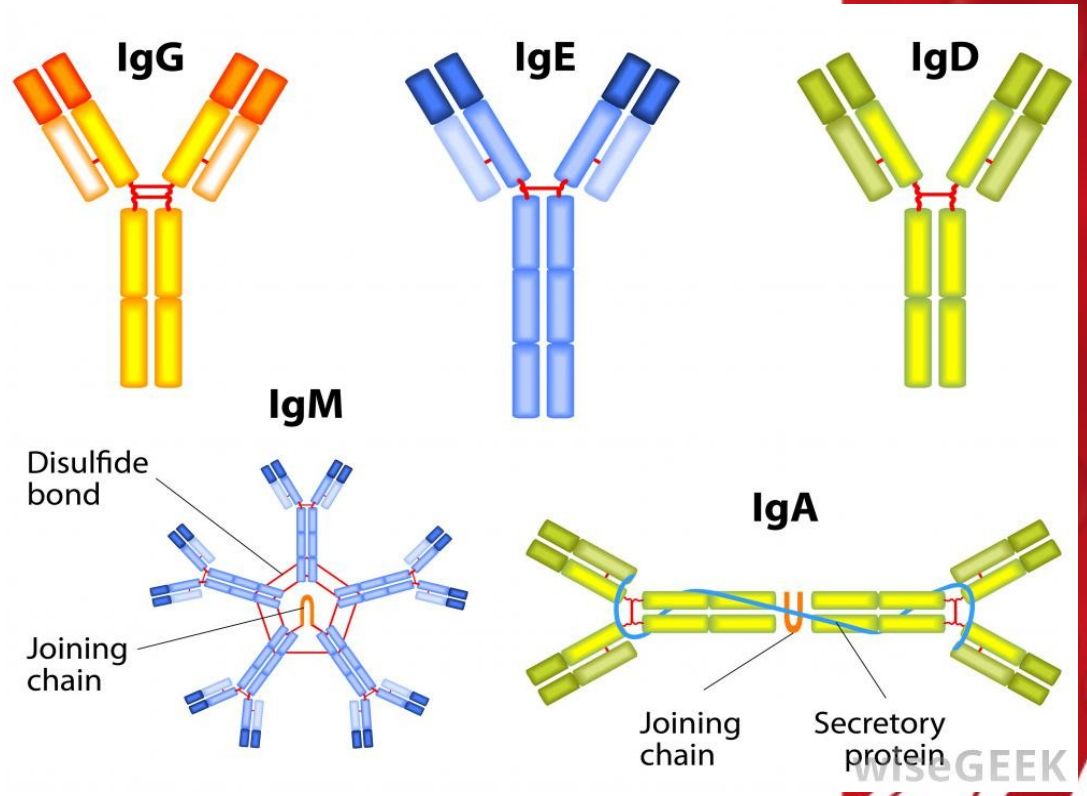

Antibodies
Epitopes (antigenic determinants)
Bacterial cell

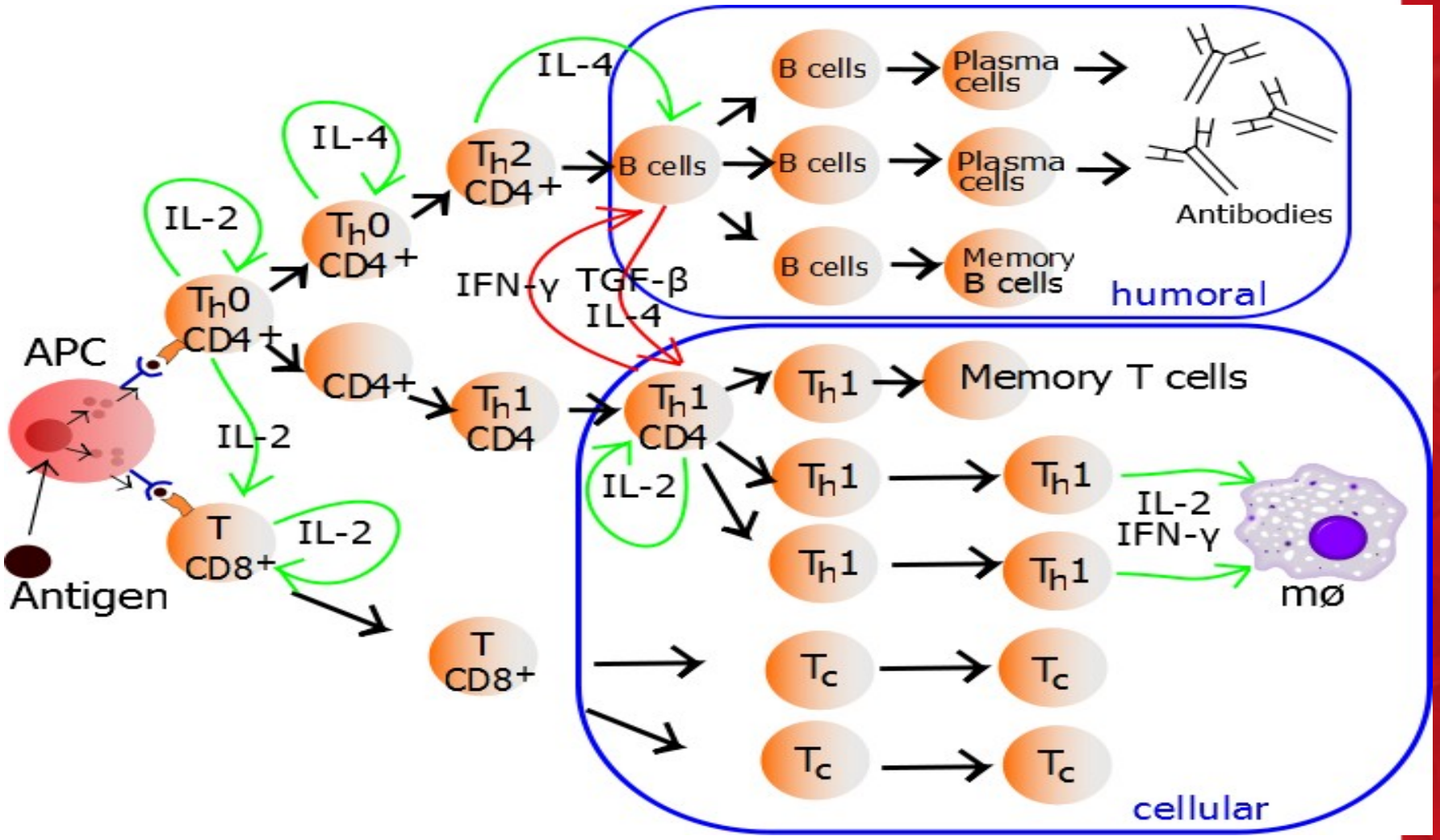

Free Antigen

Antitest: immunglobulin molekula








APC
Antigen
IL-2
IL-4
IL-2
IL-2
IL-4
IL-2
Th0 CD4+
Th0 CD4+
CD4+
T CD8+
Th2 CD4+
Th1 CD4
T CD8+
IFN-γ
TGF-β
IL-4
B cells
B cells
B cells
B cells
Plasma cells
Plasma cells
Memory B cells
Antibodies
humoral
Th1 CD4
Th1
Memory T cells
Th1
Th1
Th1
Th1
IL-2
IFN-γ
mø
Tc
Tc
Tc
Tc
cellular

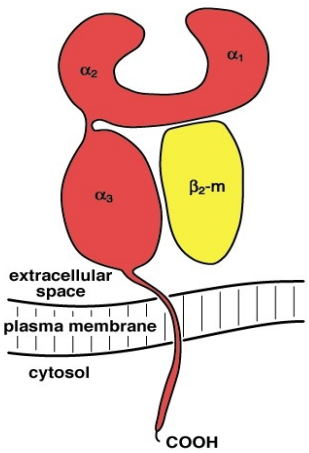
oh no

HLA = Humán Leukocita Antigén

Felfedezése: egérben (1937), emberben (1954)

Funkciója: peptideket mutat be a T sejteknek, melynek következtében megtörténhet az idegen részecskék eltávolítása és a saját felismerése

(a transzplantációk során ezt a folyamatot kell befolyásolni)



Mintaszöveg szerkesztése

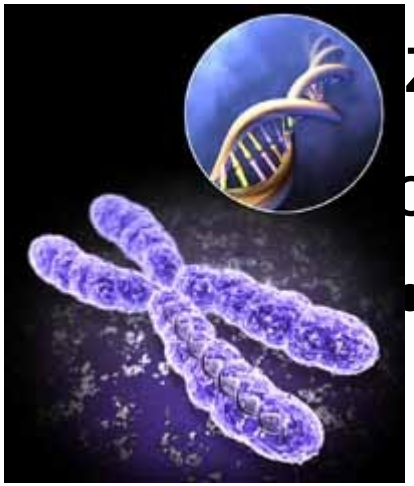
Második szint

- Harmadik szint
- Negyedik szint
- Ötödik szint

I. osztályú HLA antigének – minden magvas sejten

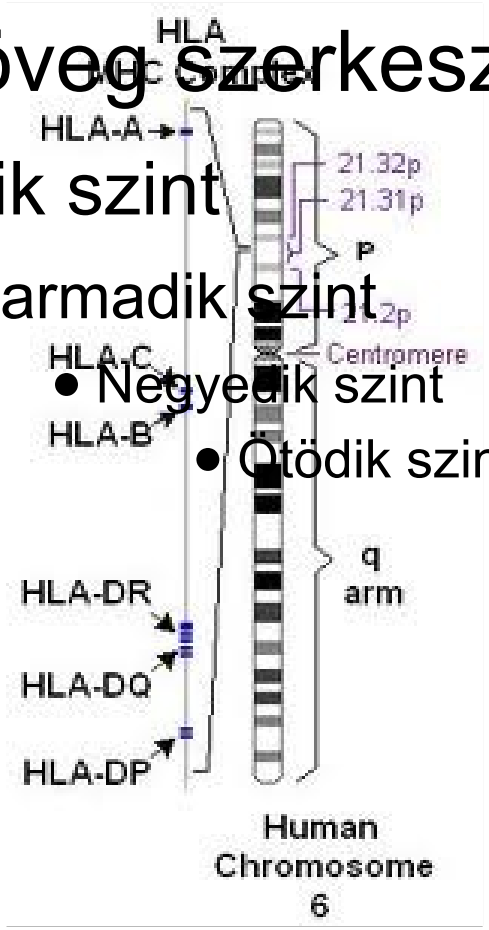
II. osztályú HLA molekulák – az immunrendszer sejtjein

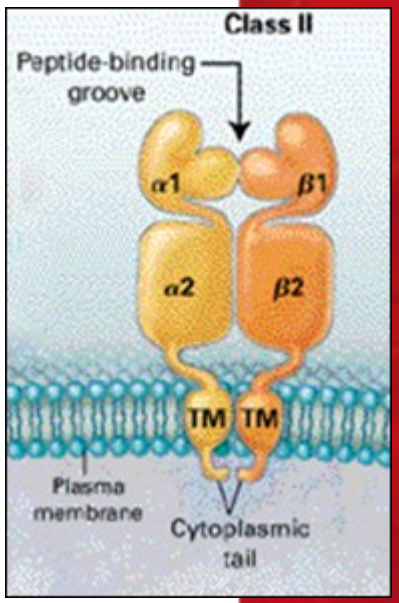
Klasszikus HLA gének



szöveg szerkesztése

- odik szint
- Harmadik szint
- Negyedik szint
- Ötödik szint





génállomány

↓

DNS alapú módszerekkel vizsgálható

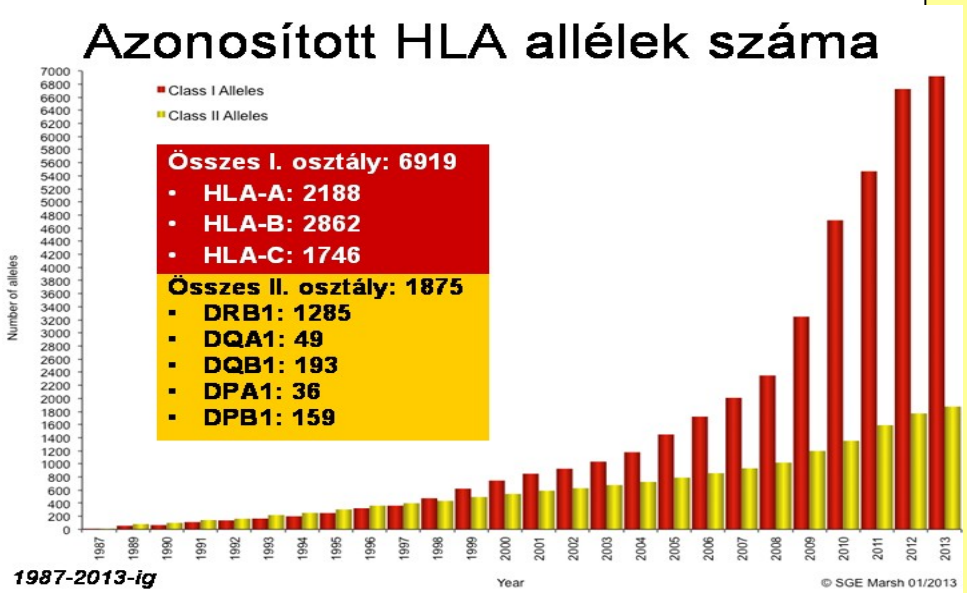
sejtfelszínen megjelenő molekula

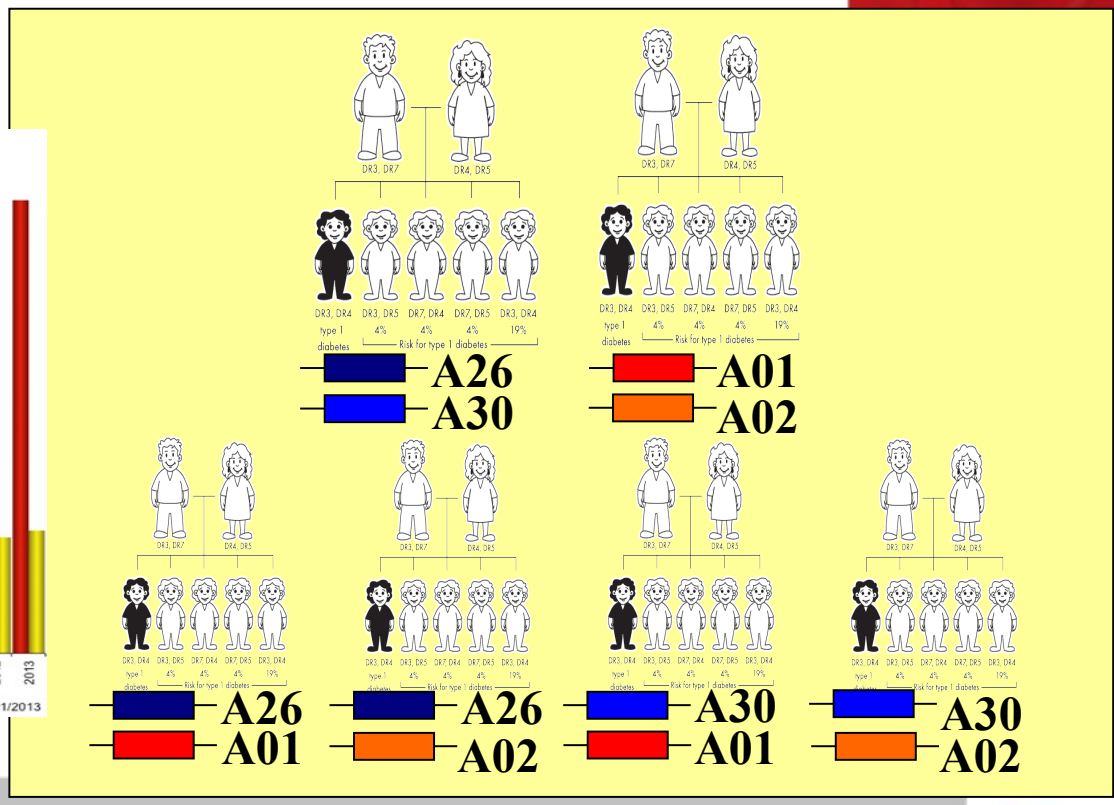
↓

Szerológiai módszerekkel vizsgálható

HLA gének, variabilitás,öröklődés,

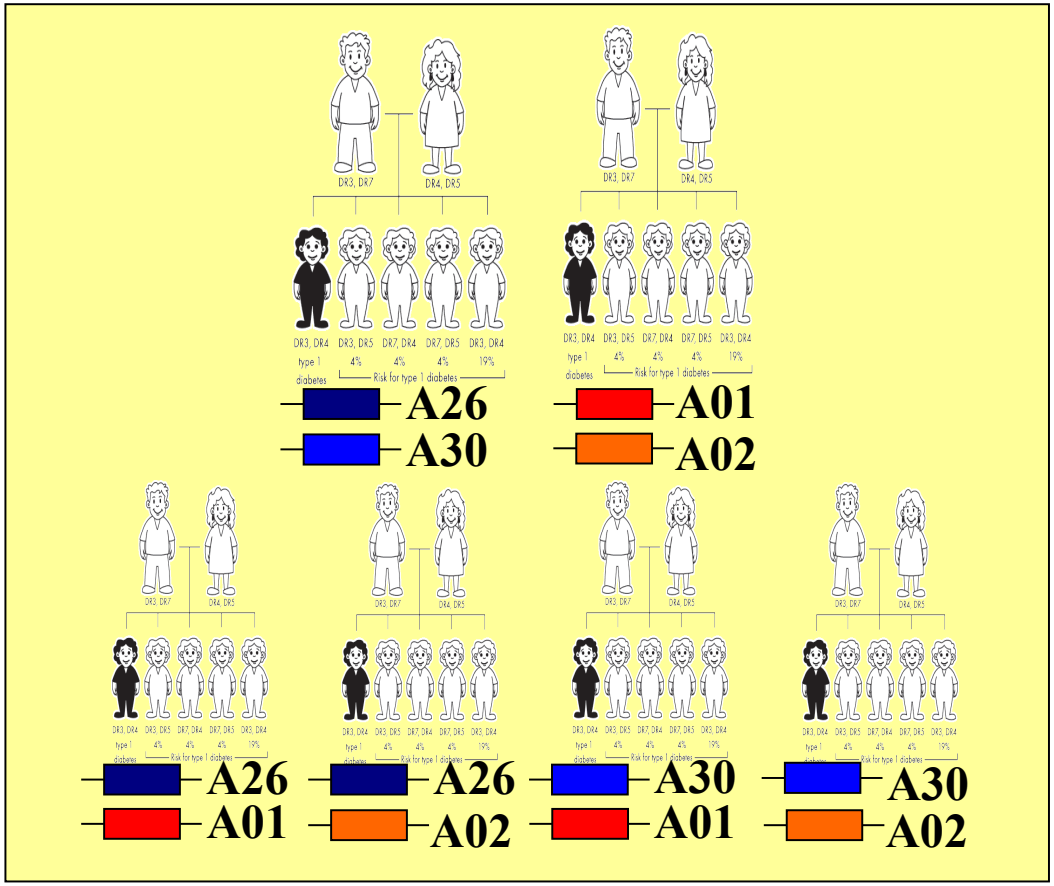
- **a HLA-lókuszon elhelyezkedő allélek kodomináns mendeli öröklődést mutatnak**
- **a szülőktől öröklött mindkét allél kifejezésre jut, megjelenik a sejtfelszínen**
- **genetikailag nagy polimorfizmus, egy allélból nagyon sokféle van jelen a polpulációban**





HLA-A	WCI-R (*n*=276)	WCI-D (*n*=276)	India west coast parsi (*n*=50)	Brazil mixed (*n*=108)	China Beijing Shijiazhuang (*n*=618)	England Northwest (*n*=298)	France Southeast (*n*=130)	Germany Pop6 (*n*=8862)	Japan Pop3 (*n*=1018)	Portugal center (*n*=50)	U.S.A Asian Pop2 (*n*=2160)
A*01	0.1685	0.1667	0.09	0.091	0.036	0.21	0.159	0.154	0.002	0.13	0.053
A*02	0.1649	0.1848	0	0.33	0.339	0.309	0.24	0.299	0.243	0.28	0.2
A*03	0.0489	0.0652	0.02	0.071	0.035	0.143	0.139	0.161	0.003	0.11	0.035
A*11	0.1377	0.1594	0.04	0.091	0.247	0.07	0.049	0.051	0.104	0.06	0.204
A*23	0.0091	0.009	0	0.02	0.008	0.02	0.012	0.022	0	0.01	0.001
A*24	0.1576	0.1395	0.11	0.018	0.128	0.077	0.114	0.09	0.464	0.09	0.226
A*25	0	0	0.02	0.005	0.001	0.025	0.008	0.024	0	0	0.001
A*26	0.0489	0.0417	0.04	0.039	0.029	0.02	0.043	0.031	0.116	0.02	0.055
A*29	0.0217	0.0199	0.04	0.03	0.01	0.003	0.055	0.026	0	0.09	0.018
A*30	0.0091	0.0091	0.19	0.06	0.063	0.017	0.039	0.019	0.001	0.04	0.029
A*31	0.0326	0.029	0.18	0	0.007	0.029	0	0.023	0	0	0.035
A*32	0.038	0.0344	0.05	0.02	0.01	0.029	0.072	0.037	0	0.04	0.014
A*33	0.0924	0.0725	0.2	0.04	0.066	0.008	0.023	0.012	0.067	0.03	0.103
A*34	0	0	0	0.025	0	0	0.004	0	0	0	0.02
A*36	0	0	0	0.09	0	0	0	0	0	0	0
A*43	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A*66	0	0	0.02	0.01	0.005	0.008	0.004	0.005	0	0.02	0.001
A*68	0.0688	0.0634	0	0.04	0.008	0.028	0.035	0.044	0	0.07	0.003
A*69	0	0.0036	0	0	0.001	0	0.004	0.002	0	0.01	0.001
A*74	0.0018	0.0018	0	0.015	0.007	0.007	0	0	0	0	0
A*80	0	0	0	0.005	0	0	0	0	0	0	0.001

WCI-R: Western centralIndia-recipients, WCI-D: Western central India-donors, HLA: Human leukocyte antigen


DR3, DR7
DR4, DR5
DR3, DR4
DR3, DR5
DR7, DR4
DR7, DR5
DR3, DR4
type 1 diabetes
4%
4%
4%
19%
Risk for type 1 diabetes
A26
A30
A01
A02
A26
A01
A26
A02
A30
A01
A30
A02

Csontvelői őssejt transzplantáció

Őssejt-források

- **csontvelő**: az őssejteket közvetlenül a csípőlapátból nyerik
- **perifériás vér**: a csontvelői őssejteket mobilizálják, és a keringő vérből nyerik ki
- **köldökzsinór vér**

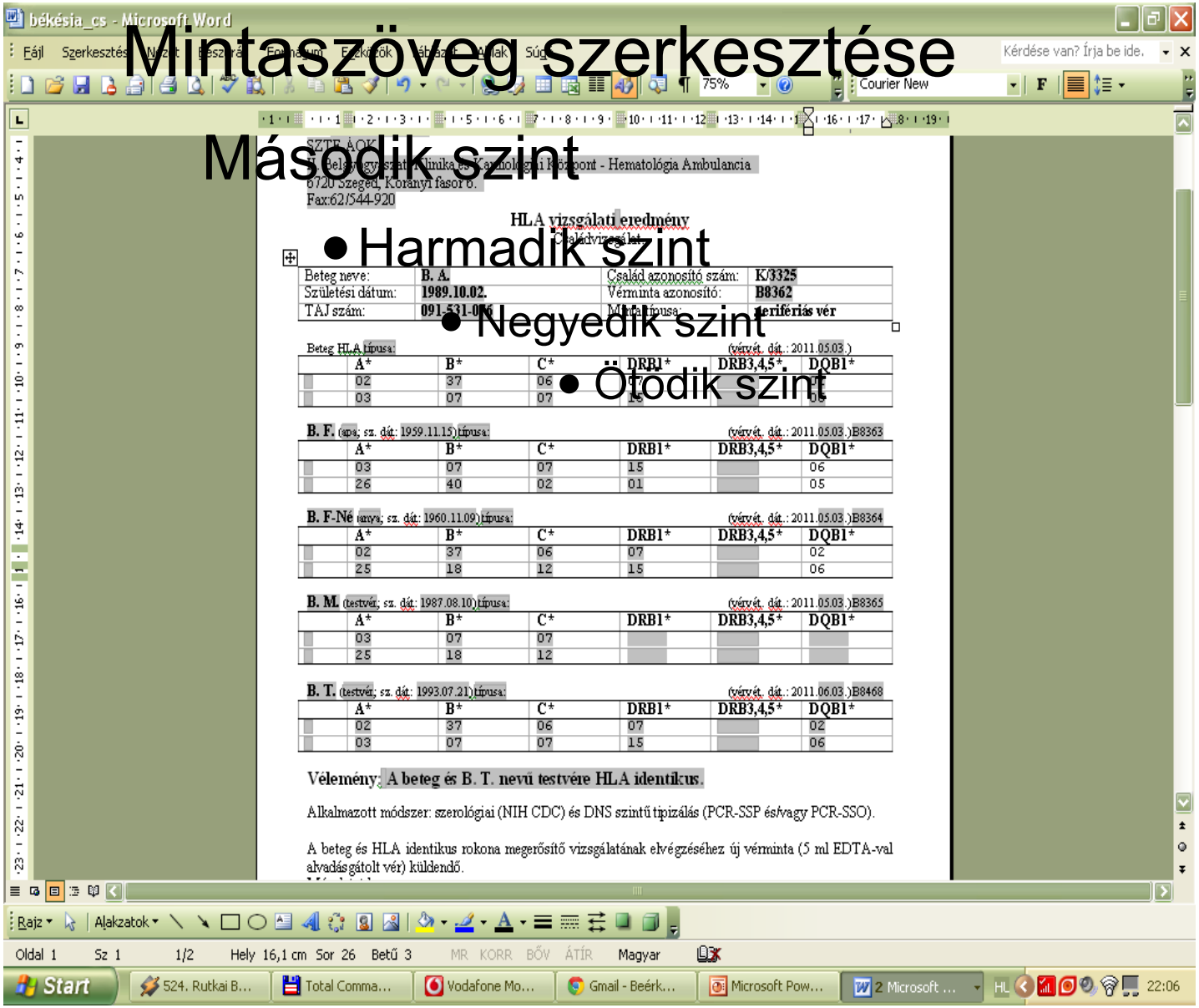
Mi történhet az őssejt-transzplantáció során?

- a recipiens próbálja kilökni a donor őssejtjeit (rejekció)
- GVHD: - a donor immunrendszere immunválaszt indukál a recipiens ellen
  - az átültetett immunsejtek a beteg saját sejtjeit tekintik „idegennek” és támadják azokat
- GVL

Mintaszöveg szerkesztése

Második szint

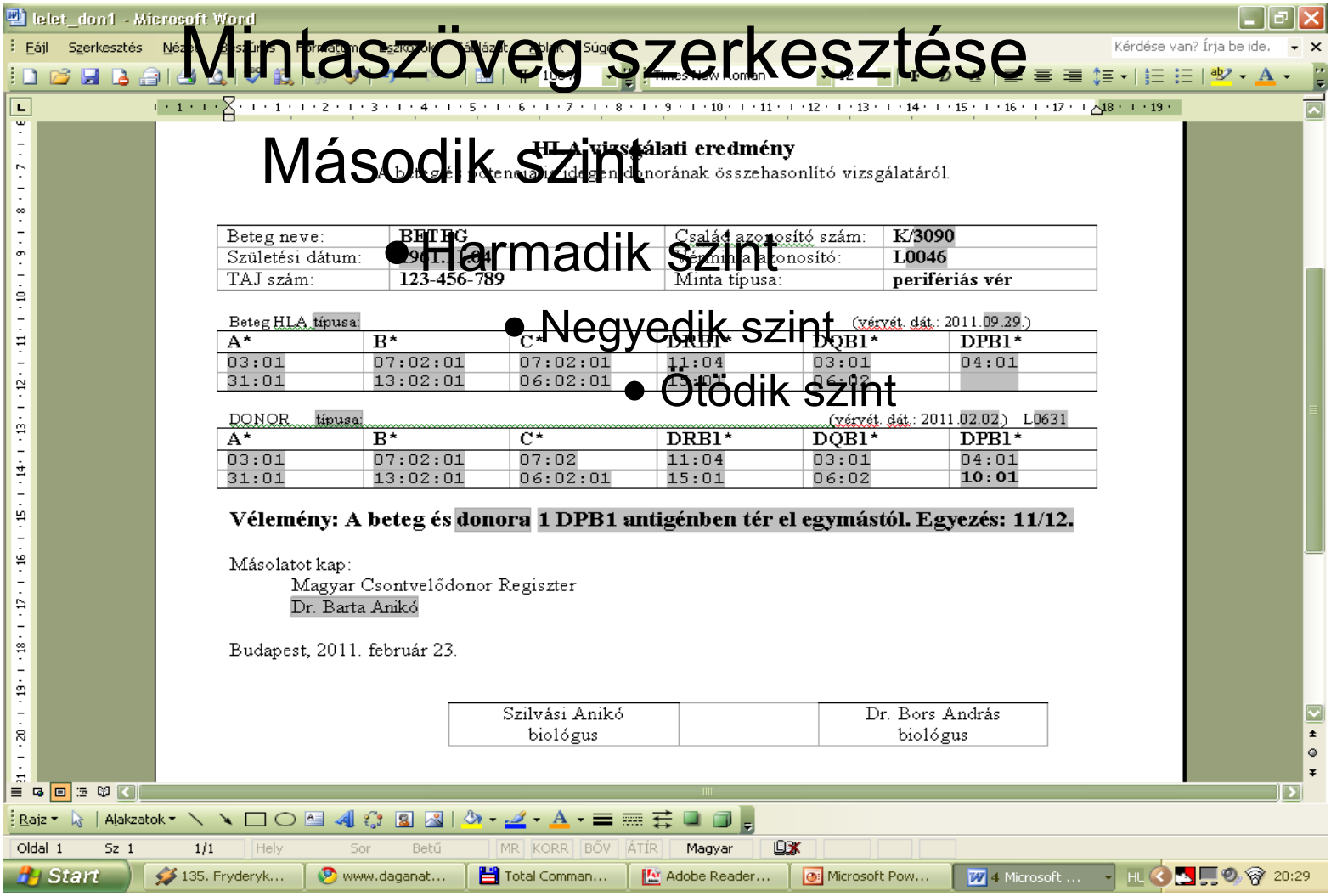
- Harmadik szint
- Negyedik szint
- Ötödik szint



Mintaszöveg szerkesztése

Második szint

- Harmadik szint
- Negyedik szint
- Ötödik szint



Immunizálódás a HLA molekulák ellen

Immunizációs események: minden olyan alkalom, amikor a szervezet idegen magvas sejtekkel vagy immunsejtekkel találkozik

- terhesség
- transzfúzió (vérkészítmények fvs-mentesítése)
- transzplantáció
- súlyos fertőzések, sepsis
- autoimmun kórképek?
- műszív-kezelés, anti-thymocita globulin terápia

HLA antigének szerepe szolid szerv átültetésnél

Veseátültetés

- minél nagyobb a HLA eltérés a donor és a recipiens között, annál rövidebb a grafttúlélés
- vesebetegségek nagy transzfúziós igénye miatt nagy az immunizációs rizikó
- retranszplantációk
- Kb.1000 vesebeteg van Mo-n a Vesetranszplantációs Várólistán, ebből kb. 300/100 beteg immunizált
- Komplementkötő ellenanyag jelenléte esetén hiperakut rejekció jelentkezhet.
- Ellenanyag jelenléte esetén akut és krónikus rejekció alakulhat ki.

A hosszútávú szervtúlélés biztosítása:

- veseváról istára kerülő betegek előzetes kivizsgálása
- veseváról istán lévő betegek rendszeres, negyedévi szűrővizsgálata
- soronkívüli ellenanyagszűrés minden immunizációs eseményt követően
- CDC keresztpróba végzése a transzplantáció előtt a donor limfocitái és a betegek savói között perifériás vérmintából és lépmintából izolált sejtekkel
- a transzplantáció után a betegek antiteststátuszának követése DSA vizsgálattal

CDC vizsgálat

DTT nélkül

Lymphocyta izolálás – 1 óra

Szérum-sejt inkubálás – 30 perc

Komplement 1 óra

Fixálás – 20 perc

Kiértékelés

DTT jelenlétében

Lymphocyta izolálás + DTT

Szérum-sejt inkubálás – 30 perc

+ L-cisztin – 5 perc

Komplement 1 óra

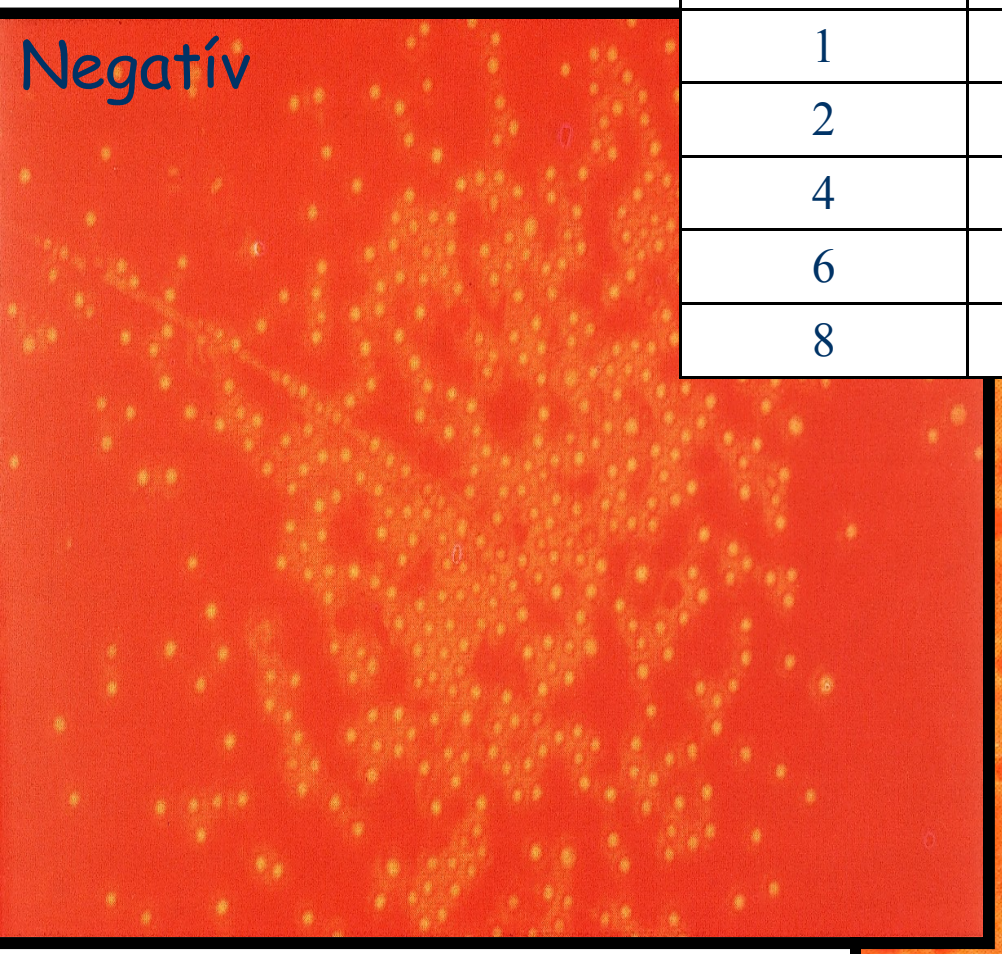
Fixálás – 20 perc

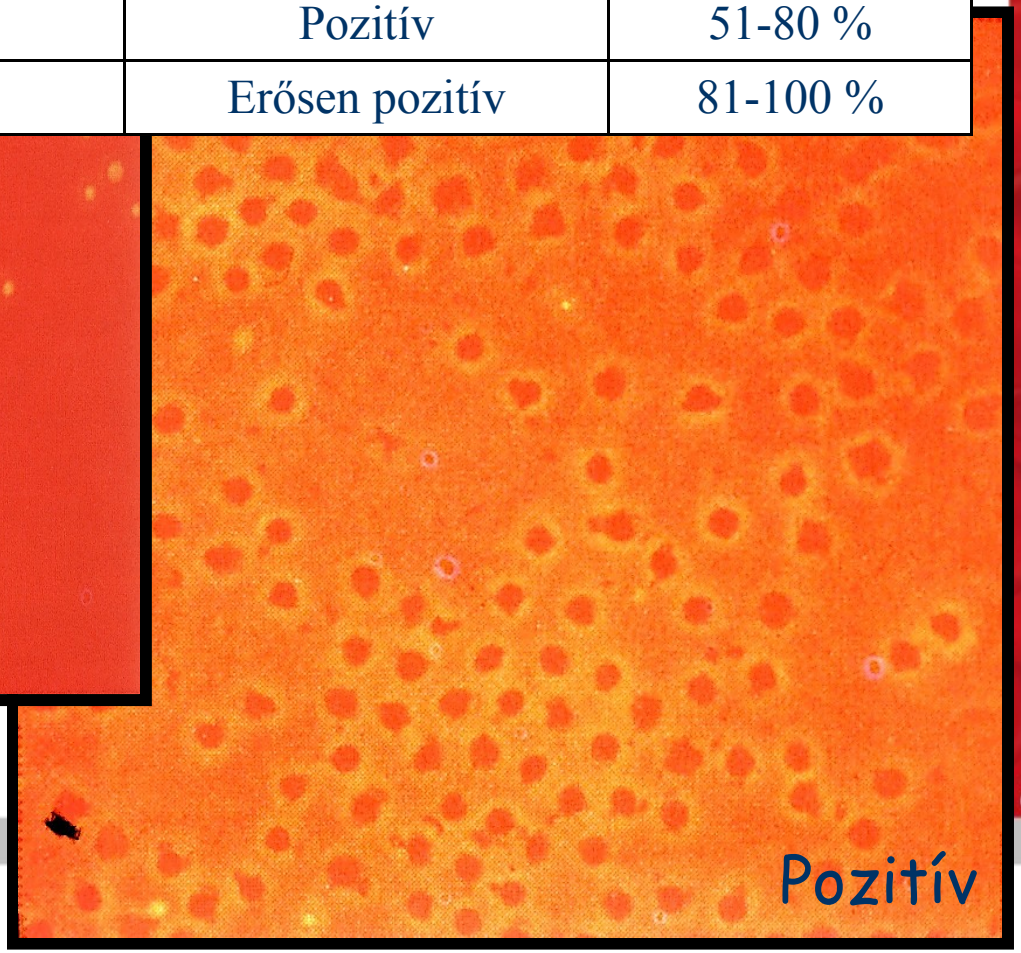
Kiértékelés

Időigény: 4 óra (kevert sejt esetén); DTT: dithiothreitol

CDC keresztpróba értékelése

Értékelés (pont)	Értelmezése	Pusztult sejtek aránya
0	Értékelhetetlen	
1	Negatív	0-10 %
2	Feltehetően negatív	11-20 %
4	Gyengén pozitív	21-50 %
6	Pozitív	51-80 %
8	Erősen pozitív	81-100 %





CDC PRA (panel reaktív antitest) szűrés

Vesebetegek: évente egyszer kötelező elvégezni; DTT jelenlétében és anélkül is.

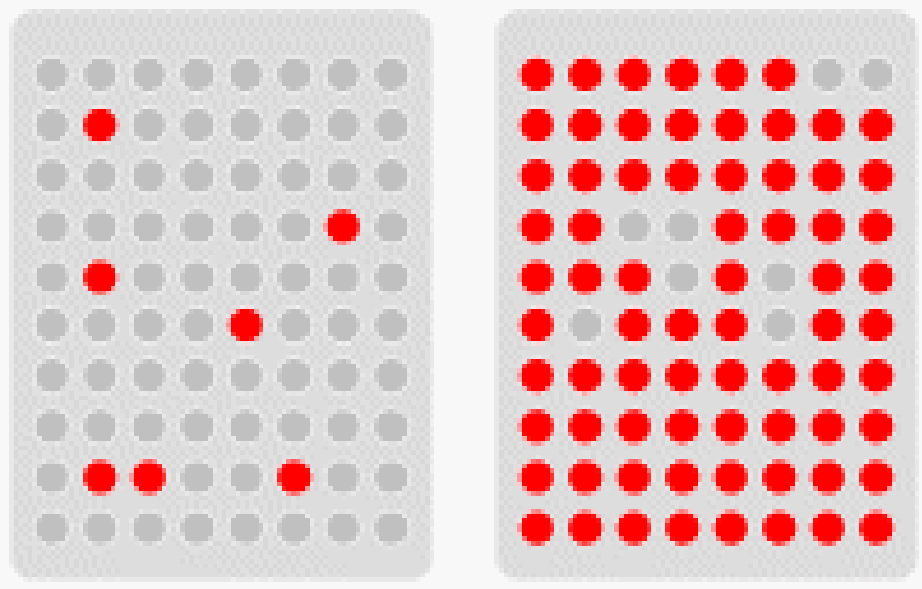
A módszer kivitelezése megegyezik a CDC keresztpróbájával.

Eltérés:

- ismert HLA antigént hordozó sejteket használunk
- 30-60 válogatott tag (sejt) alkotja a panelt

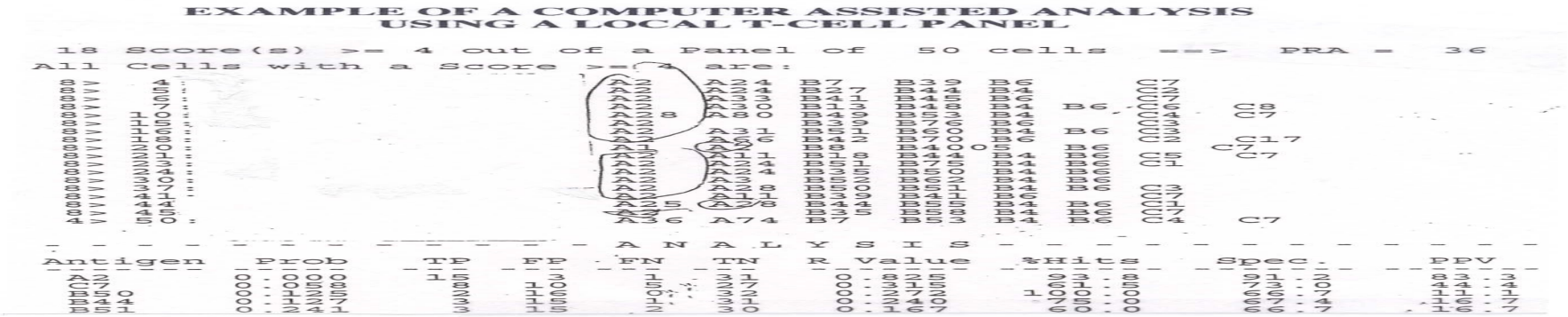
Típusai:

- „házi panel”: olcsóbb, a populáció összetételét jobban tükrözi
- Biotest gyári panel: drágább, jóval kényelmesebb



Kiértékelése:

- PRA%: pozitív reakciók aránya
- Specificitás: r érték alapján



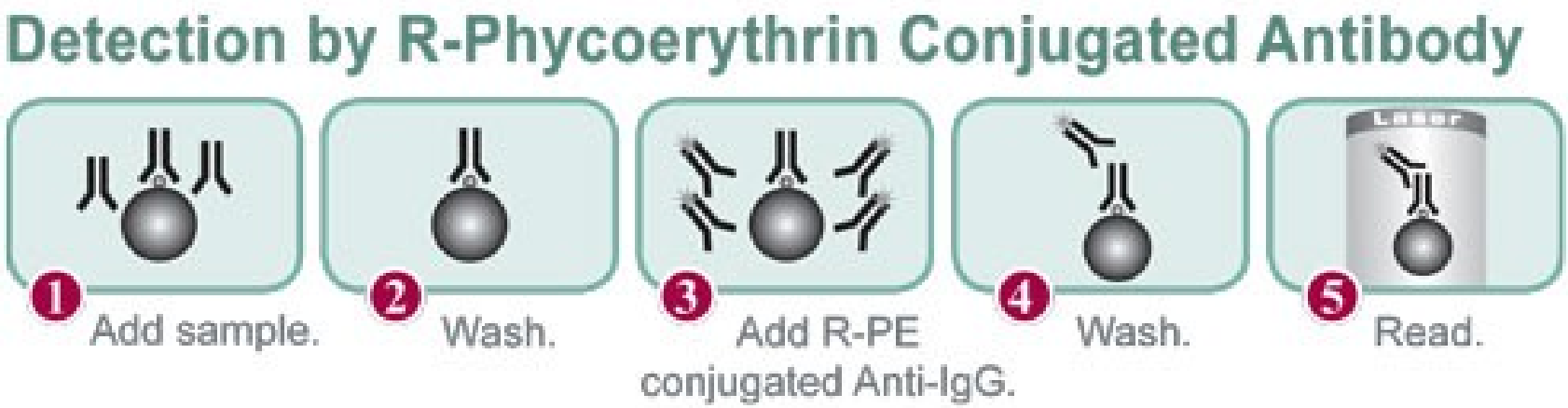
Luminex antitest vizsgálat

Kimutatott antitest:

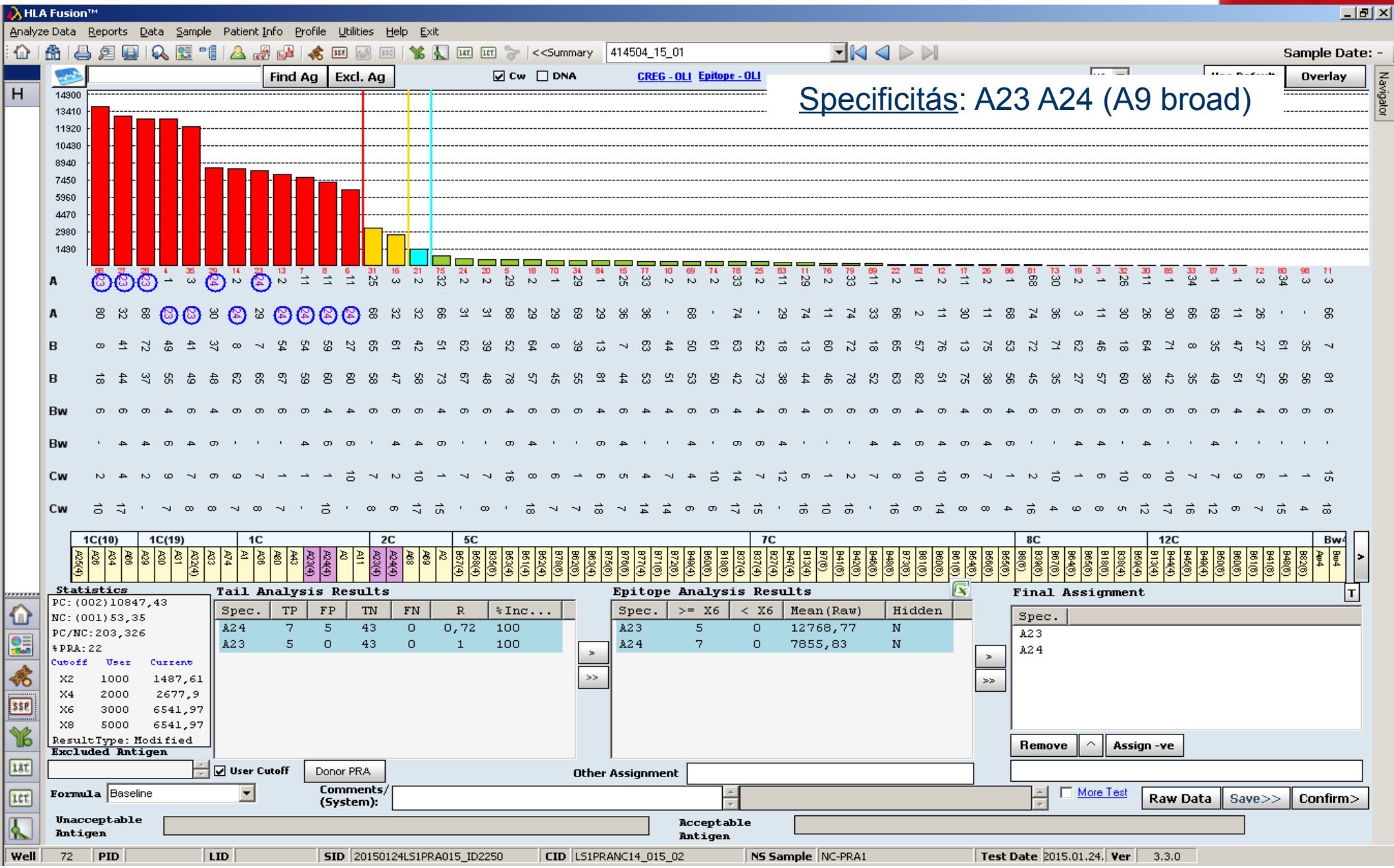
- HLA ellenes
- IgG izotípus
- Komplementkötő és nem kötő antitesteket egyaránt kimutatja (C1q differenciál)

A vizsgálatnak 3 szintje létezik:

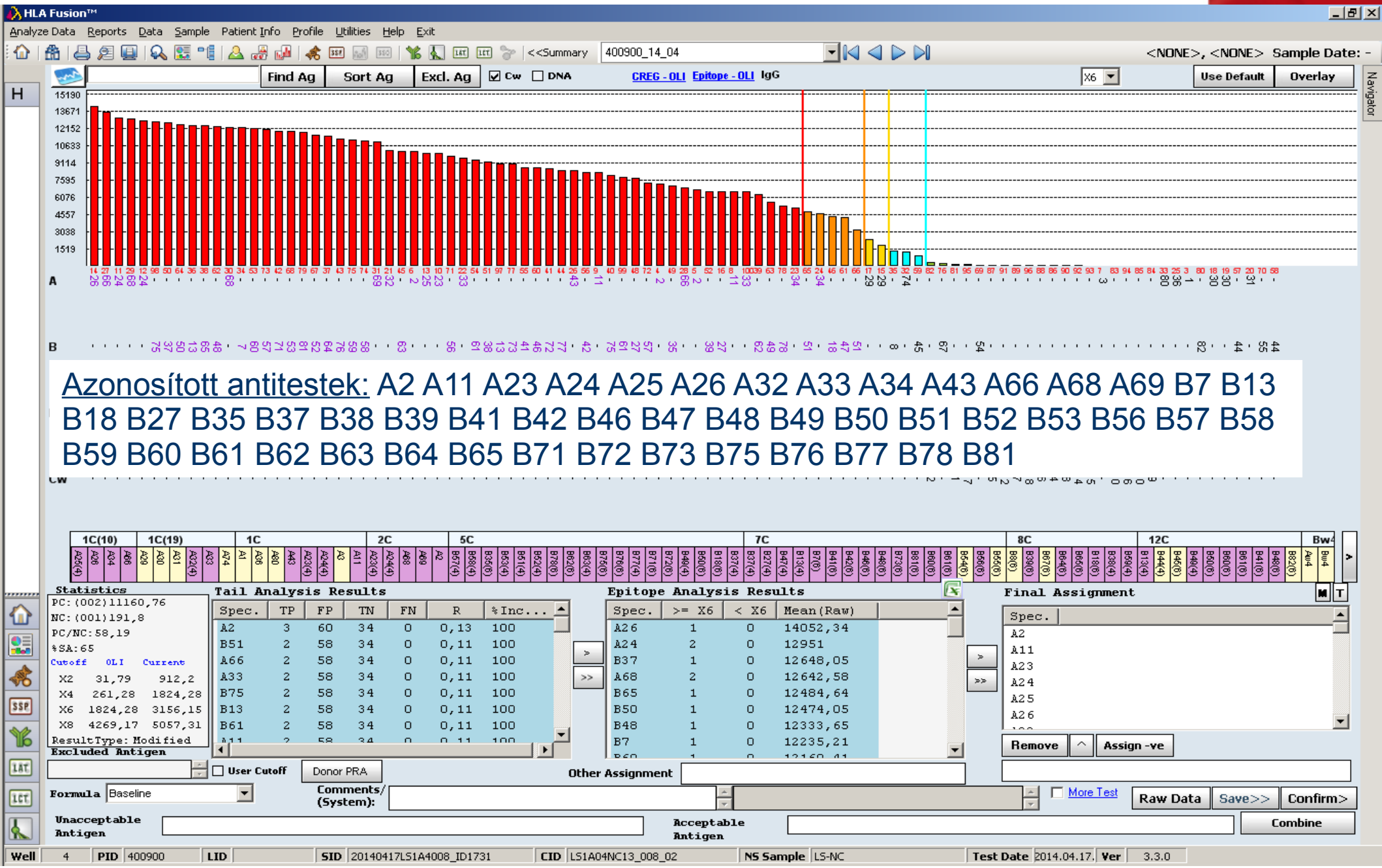
1. **Szűrő (screen, mix)**
2. **PRA**
3. **Single Antigen (SA, SAB)**



Luminex PRA I-es osztály – 22% PRA



Luminex Single Antigen teszt



Azonosított antitestek: A2 A11 A23 A24 A25 A26 A32 A33 A34 A43 A66 A68 A69 B7 B13 B18 B27 B35 B37 B38 B39 B41 B42 B46 B47 B48 B49 B50 B51 B52 B53 B56 B57 B58 B59 B60 B61 B62 B63 B64 B65 B71 B72 B73 B75 B76 B77 B78 B81

Májtranszplantáció

- A HLA szerepe kisebb, elsősorban az AB0 vércsoport kompatibilitás számít
- Várólistára kerülés előtt ellenanyagszűrés
- Transzplantáció utáni keresztpróba-eredmény – terápiát befolyásolja
- Transzplantáció utáni követés

Szívtranszplantáció

- A HLA szerepe kisebb, elsősorban az AB0 vércsoport kompatibilitás számít
- Transzplantáció utáni keresztpróba-eredmény – terápiát befolyásolja
- Transzplantáció utáni követés
- Retranszplantáció?

Tüdőtranszplantáció

- A HLA szerepe kisebb, elsősorban az AB0 vércsoport kompatibilitás számít
- Transzplantáció utáni keresztpróba-eredmény – terápiát befolyásolja
- Transzplantáció utáni követés