

Трансплантационный иммунитет

*д.м.н., профессор М.П. Потапнёв
Минск, Беларусь*

Основные вопросы

- Трансплантация органов.
- Трансплантация костного мозга
- Трансплантация стволовых клеток.
- Переливание крови.

Трансплантация органов и тканей в Республике Беларусь

Вид трансплантации	Количество проведенных трансплантаций по годам					
	2007	2008	2009	2010	2011	2012
почки (с 1970 г.)	40	70	100	115	175	201
печень	0	<u>9</u>	25	32	43	52
КОСТНЫЙ МОЗГ (с 1993 г.)	65	127	127	159	172	191
сердце	0	0	<u>11</u>	22	21	21

Виды трансплантатов.

- Трансплантат:



аутологичный,



сингенный,



гаплоидентичный,



аллогенный,



ксеногенный.

Органная трансплантация.

- Условия успешной трансплантации:

- возраст донора – до 45 лет;

- проведение трансплантации органа в течение 4 часов с момента забора у донора (либо прижизненный забор парных органов и тканей у родственников);

- контроль донора на маркеры инфекций;

- по-возможности, совместимость по группам АВ0 крови;

- совместимость по антигенам гистосовместимости класса HLA-I и HLA-II при трансплантации органов менее значима, чем для пересадки костного мозга (КМ), (значимость: КМ>>>> почка >, печень, поджел. железа, сердце, легкое).

Приживление трансплантатов. Иммуносупрессивная терапия.

- Антилимфоцитарный иммуноглобулин,
- Антитимоцитарный иммуноглобулин.
- Циклоспорин А.
- Метотрексат.
- Tacrolimus.
- Campath -1 (Alemtuzumab (α-CD52)).
- Sirolimus (IL-2 + rapamycin).
- Антагонист рецептора к ИЛ-2.
- Введение лейкоцитов или МСК донора трансплантата.
- Эффективность : 5 – летняя выживаемость = 55-80% пациентов, снижение острой реакции отторжения - с 45% до 5-9%

Трансплантационный иммунитет: 1. *распознавание*

- Распознавание аллогенных антигенов системы HLA-I трансплантата CD8+ Т клетками реципиента.
- Распознавание аллогенных антигенов системы HLA-II трансплантата CD4+ Т клетками реципиента с последующим формированием Th1 типа иммунного ответа.
- Распознавание минорных антигенов HLA трансплантата Т клетками реципиента.
- Распознавание отсутствия классических антигенов HLA-I трансплантата ЕК клетками реципиента.
- Распознавание ксеноантигенов системой комплемента и рецепторами макрофагов/моноцитов.
- Распознавание чужеродных молекул IgM (нормальными Ат) и IgG (при наличии предшествующей сенсибилизации).

Трансплантационный иммунитет:

2. поддержание иммунологической толерантности к трансплантату

- Уровень естественных и индуцированных T reg клеток повышен.
- Баланс Th1/Th2 CD4+ клеток снижен.
- Уровень Th17/T reg CD4+ клеток снижен и продукция ИЛ-17 подавлена, а ИЛ-10 и TGF- β 1 - повышена.
- Нет распада тканей и поэтому низкий уровень креатинина, (%) донорской ДНК, белка HMGB1 в крови.
- Низкий уровень пролиферации клеток донора при смешивании с клетками трансплантата (СКЛ), слабый уровень цитотоксичности CD8+ T киллеров.
- При пересадке почки – переливание крови реципиента.

Трансплантационный иммунитет.

3. Механизмы отторжения аллогенного трансплантата.

- **Сверхострое отторжение трансплантата –** развивается в течение 0-24 часов после пересадки, связаны с наличием предрасполагающих Ат к HLA донора и Т-клет. сенсбилизации.
- **Острое отторжение трансплантата -** проявляется в течение первых 2-7 дней, обычно вызвана несовместимостью по ... минорным антигенам HLA-I и HLA-II). Реакция определяется цитотоксическими Ат, CD8+ Т кл.(лизис АПК трансплантата), также CD4+ Т кл. (ГЗТ), ЕК кл. (АЗКЦ). (35% - при пересадке легких).
- **Классическое отторжение трансплантата –** развивается в течение 1 месяца, определяется CD8+Т клетками, CD4+ Т клетками, макрофагами, ЕК клетками.
- **Хроническое отторжение трансплантата -** проявляется в срок более 1 месяца после трансплантации как реакция фиброзирования в ткани трансплантата, в результате несовместимость по АГ гистосовместимости (минорным, не HLA). Реакция определяется CD4+ Т кл., ЕК кл.

Причины отторжения почки

(по данным гистохим. анализа биопсии , Selares, 2012)

Гистологический диагноз	Количество биопсий (%) с клин. подтверждением диагноза			
	0-6 нед.	6 нед.- 6 мес.	6-12 мес.	> 12 мес.
Антитело-зависимое отторжение	5%	2%	2%	29%
T-клеточное отторжение	9%	24%	12%	4%
Нефропатия, вызванная полиомавирусом	0	5%	17%	1%
Атрофия-фиброз	0	5%	8%	11%

Иммунодиагностика реакции отторжения трансплантата почки.

- Биопсия трансплантата.
- Уровень креатинина, анти- HLA антител в сыворотке крови,
- Уровень белка HMGB1, аллогенной ДНК (2%) в сыворотке крови.
- Уровень в крови и моче sVCAM-1, TNFR1, sIL-6R, IL-6.
- Баланс в крови Th17/Treg клеток резко повышен при угрозе отторжения и снижен при приживлении трансплантата.
(Th17 клетки: mRNA ROR γ t; IL17, IL23, IL-6;
T reg клетки: mRNA Foxp3; TGF-b1,IL-10).

***Трансплантация
костного мозга
(ТКМ).***

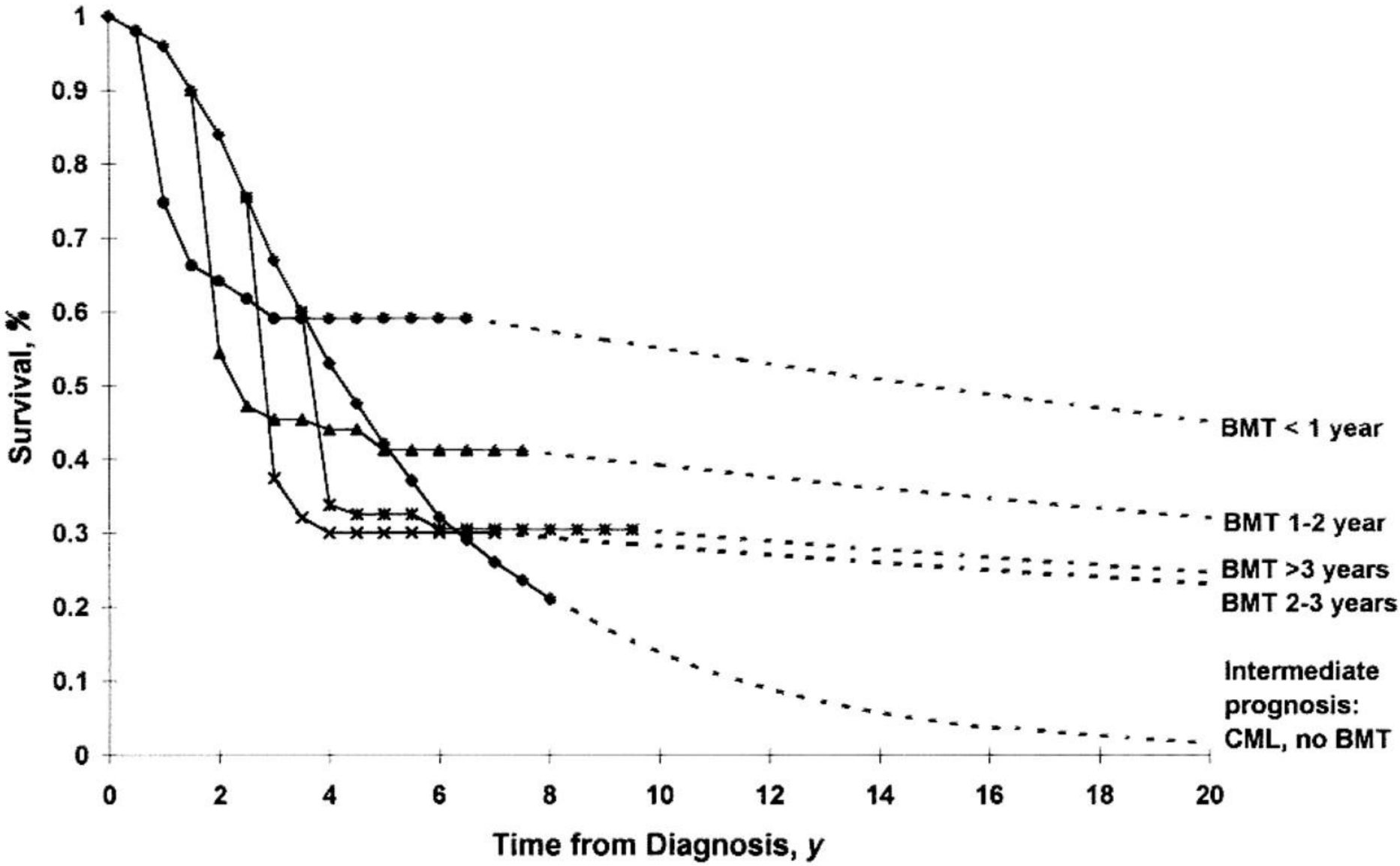
ГЕМОПОЭТИЧЕСКИЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ КОСТНОГО МОЗГА

- 1950-ые годы – разработка теории кроветворения.
- 1972 г. – первая успешная трансплантация костного мозга(ТКМ).
- 1980-ые годы – проведение успешных ТКМ у больных с лейкозами и острой лучевой болезнью.
- 1990-ые годы – проведение успешных ТКМ при аутоиммунных заболеваниях, иммунодефицитах, онкологических заболеваниях человека.

Трансплантация костного мозга (гемопоэтических стволовых клеток).

- Источник ГСК:
 - костный мозг (аутологичный, гаплоидентичный, аллогенный);
 - мобилизованная периферическая аутологичная ГСК (цитостатики + Г-КСФ);
 - пуповинная кровь.
- Количество - >2,0 млн. ЯСК /кг веса.
- Миелоаблативное состояние костного мозга.
- Гистосовместимость – обязательное предварительное гистотипирование донора и реципиента по молекулам HLA- A,B, HLA-DR.

Неродственная (HLA-идентичная) ТКМ при ХМЛ.



- **Банк данных доноров костного мозга.**

В мире имеется более 17,5 млн. персонифицированных данных потенциальных доноров костного мозга, что обеспечивает подбор совместимого трансплантата для 50% нуждающихся (2014 год).

- **Банки хранения пуповинной крови.**

В мире имеется более 550 тыс. образцов клеток пуповинной крови для трансплантации (2014 год).

Необходимые условия для успешной ТКМ.

- **1. HLA- совместимость донора и реципиента.**
- **2. Иммунный мониторинг тканевого химеризма.**
- **3. Проведение иммуносупрессивной терапии после (аллогенной) ТКМ .**
- **4. Иммунный мониторинг отторжения трансплантата.**
- **Профилактика и ранняя диагностика РТПХ.**

Тестирование HLA- совместимости донора и реципиента.

- 1. HLA-A, B серологическое типирование (в микролимфоцитарном тесте).
- 2. HLA- DR B1 генетическое типирование (в ПЦР).
- 3. Дополнительно – HLA-Cw и HLA-DQB1 типирование в ПЦР с использованием “low” или “high” разрешающими панелями праймеров.

ЦЕЛЬ: достичь 5-6/6 (п.1-2) совместимости, что обеспечивает 60-65% 5-летней общей выживаемости, низкий риск острой РТПХ, толерантность к HLA mismatch.

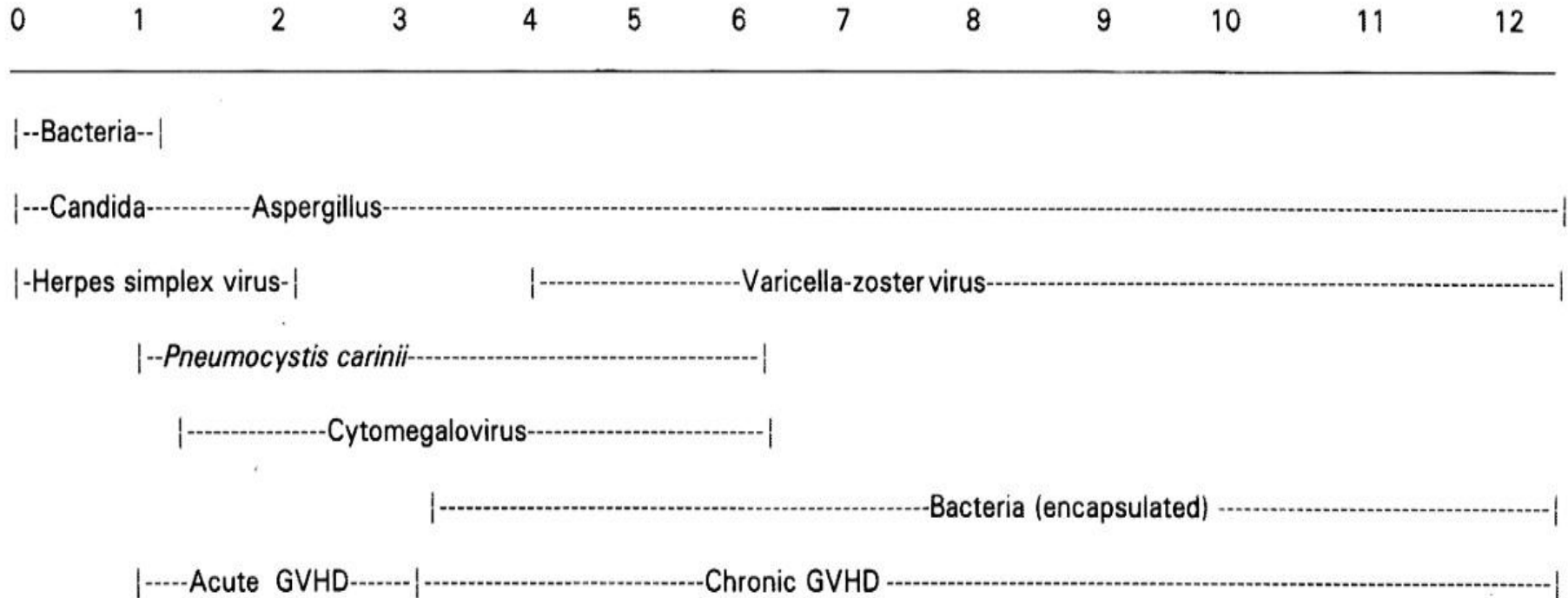
достичь 10/10 (п.1-3) совместимости, что обеспечивает 88,8% 5-летней общей выживаемости без острой РТПХ.

Иммunosupрессивная терапия при (после) ТКМ.

- Antilymphocytic immunoglobulin, antithymocytic immunoglobulin.
- Cyclosporin A.
- Mithotrexate.
- Tacrolimus.
- Campath -1/Alemtuzumab (α -CD52).
- Sirolimus (IL-2 + rapamycin).
- Антагонисты of IL-2 Receptor (CD25).
- Переливание лейкоцитов или МСК донора костного мозга.

Осложнения после ТКМ.

Months after Marrow Transplantation



Трансплантационный иммунитет.

4. реакция трансплантат против хозяина.

- **Сверхострая РТПХ** - при наличии антител и реактивных Т клеток в результате предварительной сенсibilизации реципиента антигенами донора (в срок 0-7 дней). Реакция определяется CD4+ Т кл., CD8+ Т кл., ЕК кл.
- **Острая РТПХ** - проявляется в первые 3 месяца после аллогенной ТКМ (кожная, кишечная, смешанная формы, обычно вызвана несовместимостью по ... минорным антигенам HLA-I и HLA-II). Реакция определяется CD4+ Т кл. (ГЗТ), CD8+ Т кл.(лизис АПК трансплантата), ЕК кл. (АЗКЦ), Ig/ЦИК. Степени: 0-I (75%), II (11%), III-IV (13%).
- **Хроническая РТПХ** - проявляется в срок более 3 месяцев (>100 дней, до 2-5 лет) после алло-ТКМ (как склеродермия, хр. гепатит, энтероколит, пульпит, эзофагит) в результате несовместимости по АГ гистосовместимости (минорным, не HLA). Реакция определяется CD4+ Т кл., макрофагами, ЕК кл.

КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ И РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА

Стволовые клетки человека

по своему происхождению разделяют на:

1. Стволовые клетки **эмбриональные** (ЭСК).

2. Стволовые клетки **взрослого человека**:

а) гемопоэтические (ГСК),

б) мезенхимальные (МСК)

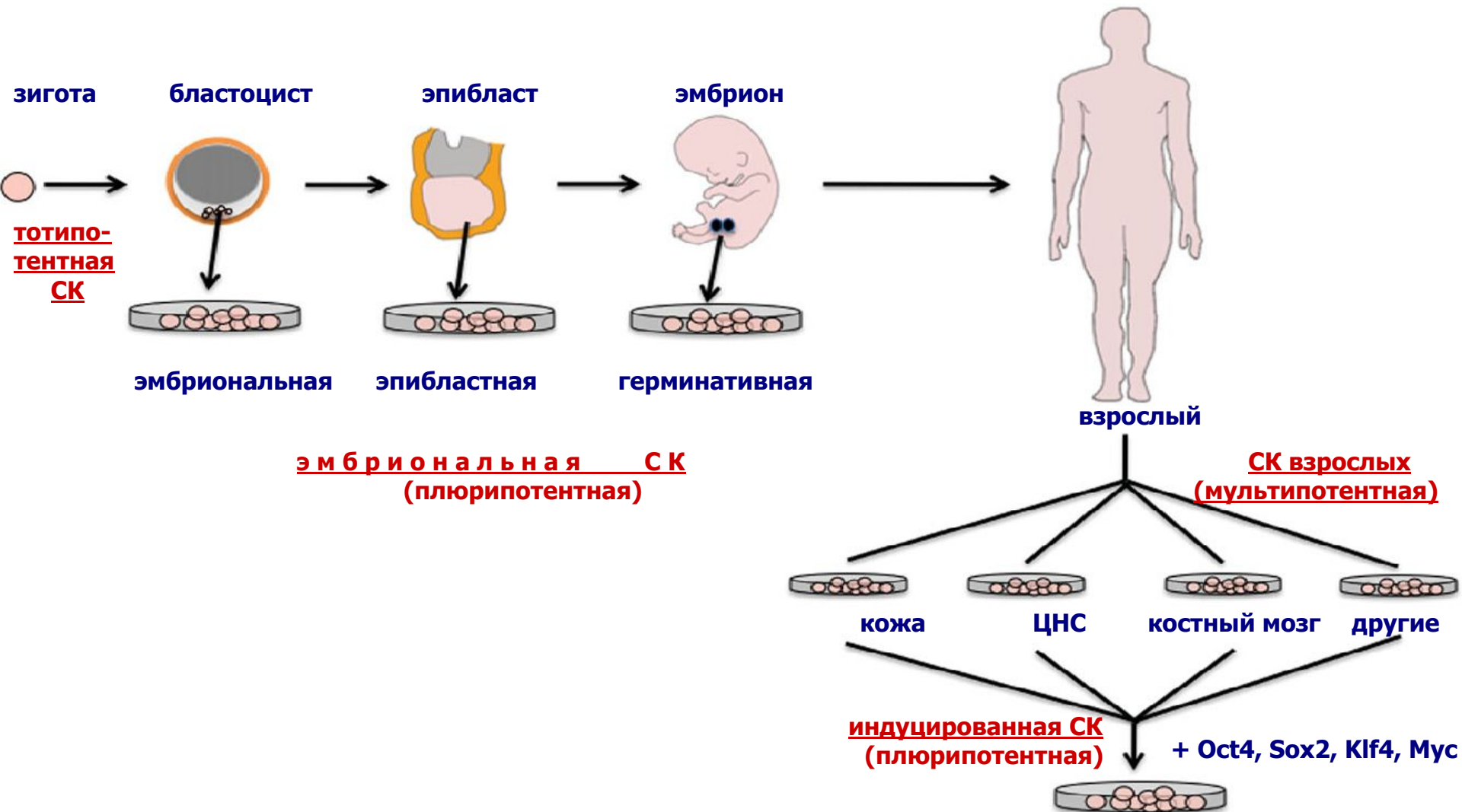
2а. стволовые клетки **пуповинной крови** (ГСК пуповинной крови)

2б. индуцированные стволовые клетки (ИСК)

– стволовые клетки, полученные из дифференцированных клеток

ПРОИСХОЖДЕНИЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

(Phil,2010)



МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ

- Присутствуют во всех органах и тканях.
- Имеют фенотип CD45-CD34-CD90+CD105+.
- Слабо экспрессируют молекулы HLA -A,B;
не экспрессируют молекулы HLA класса II.
- Способны к многократному делению.
- Способны дифференцироваться в специализированные типы клеток.
- Частота обнаружения СК – 1: 10 000 у новорожденных, 1: 300 000 у взрослых.

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫЕ (аутологичные, гаплоидентичные, аллогенные)

Основные механизмы действия при трансплантации:

- -противовоспалительное,
- -иммуносупрессорное.

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫЕ (аутологичные, гаплоидентичные, аллогенные)

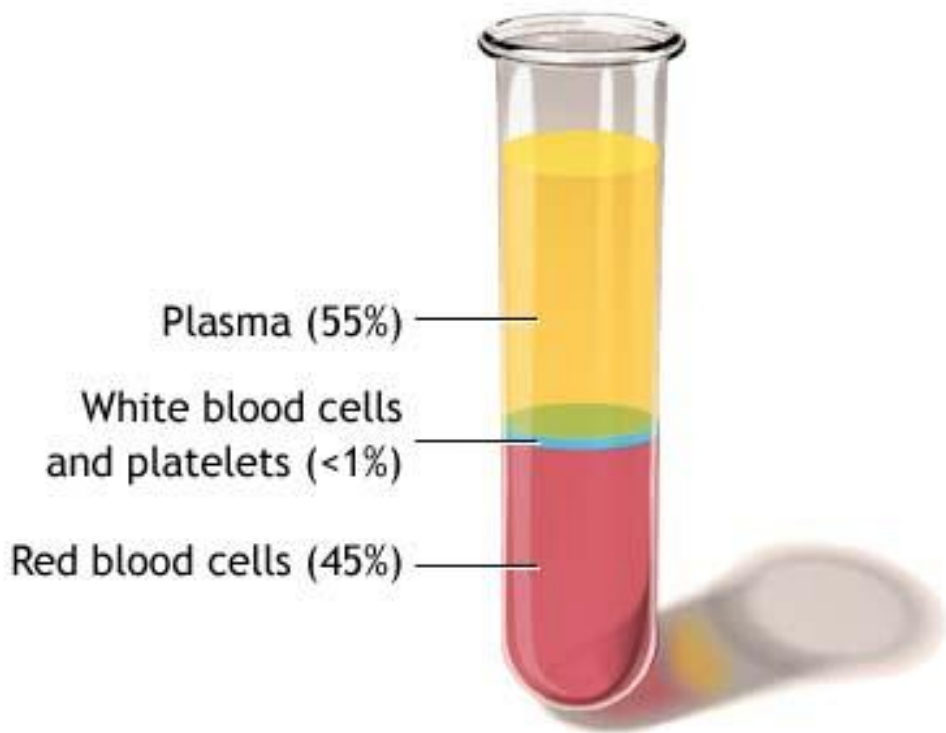
Механизмы действия при трансплантации:

- -заместительное,
- -паракринное выделение ростовых тканевоспецифических факторов.

Используются для трансплантации как клеточная взвесь или в составе многокомпонентных клеточных трансплантатов.

Переливание крови (гемотрансфузия) –
это операция трансплантации ткани
(крови) от донора к реципиенту с
лечебной целью.

Стандартное распределение компонентов крови при центрифугировании



Используемые компоненты крови

- Эритроцитная масса (станд. доза = 240 мл \pm 10%) .
- Плазма свежезамороженная (расчетная доза = 220-300 мл).
- Концентрат тромбоцитов (30-40мл = $>50 \times 10^9$ из дозы крови; 200 мл = $>2-2,5 \times 10^{11}$ - при цитаферезе)
- Криопреципитат (1 флакон - 2 дозы = 200 МЕ FVIII)

МЕЖДУНАРОДНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ К СЕРОЛОГИЧЕСКОМУ ТЕСТИРОВАНИЮ ДОНОРСКОЙ КРОВИ

НЕИНФЕКЦИОННЫЕ МАРКЕРЫ

ABO - принадлежность

Rh - принадлежность

Антиэритроцитарные антитела

Биосовместимость крови донора и реципиента

ИНФЕКЦИОННЫЕ МАРКЕРЫ

ВИЧ

ВГВ

ВГС

Сифилис

ПАТОФИЗИОЛОГИЯ

- В настоящее время известно 29 групп крови и более 600 эритроцитарных антигенов (Hosoi, 2008).

Определение группы крови по системе АВ0

ABO Blood Reactions

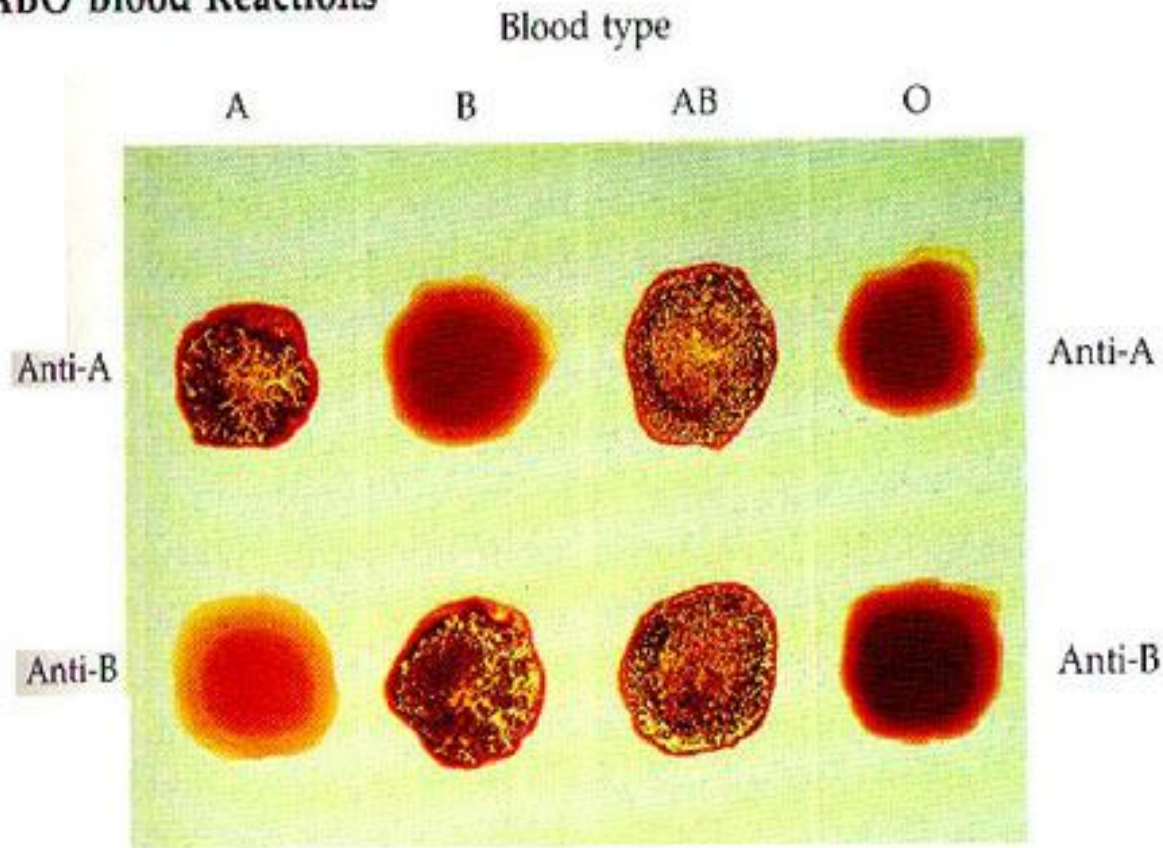
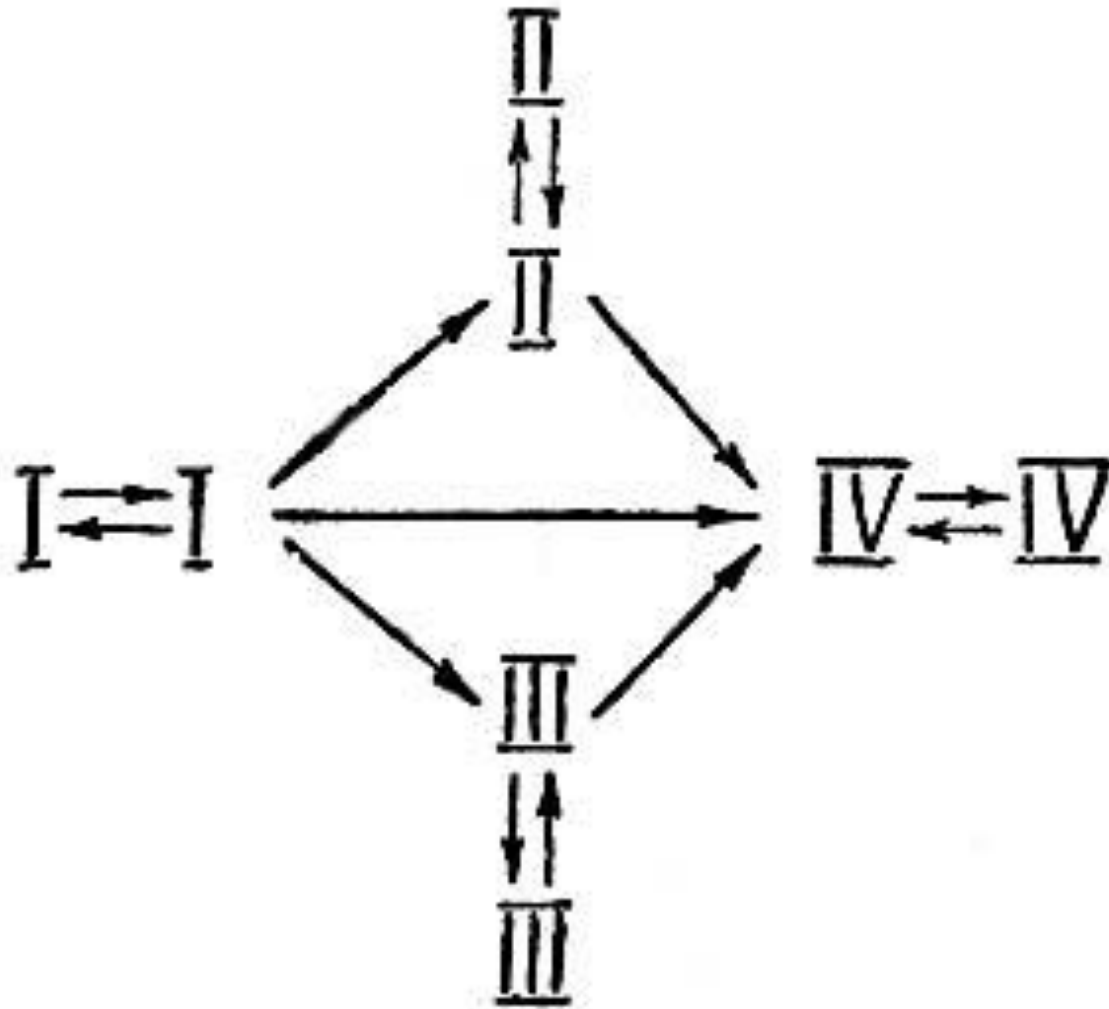


Схема совместимости групп крови для переливания



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- 1. Трансплантация органов и тканей становится стандартной медицинской практикой лечения тяжелых заболеваний.
- Трансплантация органов человека требует обеспечения инфекционной безопасности до пересадки и иммуносупрессивной терапии после пересадки.
- Трансплантация костного мозга (гемопоэтических клеток) требует совместимости донора и реципиента по системе HLA I и II классов.
- Все большую популярность в медицинской практике получает введение пациентам мезенхимальных стволовых клеток.
- Переливание донорской крови надо рассматривать как процедуру введения аллотрансплантата, требующей совместимости по антигенам систем ABO и Rh.