

IMUNOHEMATOLOGICKÁ VYŠETŘENÍ U PACIENTŮ PO TRANSPLANTACI KRVETVORNÝCH BUNĚK

Alena Pejchalová
Jaroslava Vinklárková
TTO FN Brno

Transplantace

- Přenos živých buněk, tkáně nebo orgánu z jedné části těla na jinou nebo z jednoho jedince na jiného
 - Transplantát/štěp ~ má/nemá vlastní cévní zásobení
- Transplantované orgány
 - Všechny lidské tkáně a buňky
 - Krvetvorné buňky (kostní dřeň, kmenové buňky z periferní krve, pupečnicková krev), ledviny, játra, srdce, pankreas, plíce, střevo, trachea, kůže, rohovka, končetiny
- Imunologické riziko transplantací ~ odhojovací reakce
 - Imunitní systém příjemce reaguje proti cizím buňkám transplantátu
 - Shoda v HLA antigenech mezi dárce a příjemcem
 - Zásadně ovlivňuje transplantace krvetvorných buněk
 - Významně ovlivňuje dlouhodobé přežití transplantovaných solidních orgánů (ledviny, pankreas)

Transplantační právo

- Směrnice EP a Rady o jakostních a bezpečnostních normách pro lidské orgány určené k transplantaci
- Směrnice pro darování, odběr, vyšetření, zpracování, skladování a distribuci orgánů
- Předpisy na technické požadavky, sledovatelnost a oznamování nežádoucích situací a další mezinárodní normy a úmluvy
- Základní český vnitrostátní právní předpis je transplantační zákon včetně podzákonné právní úpravy
 - Stanovuje pravidla organizace a provádění transplantací v ČR
 - Provádění výhradně za účelem léčebné péče
 - Posiluje právní záruky pacientů na nezneužití transplantací
 - Předepisuje dohled na dodržení správného postupu při nakládání s odebranými orgány
 - Upravuje i problematiku transplantace krvetvorných buněk
 - Neupravuje právní aspekty dárcovství krve, které jsou odlišné

Léčba pacientů transplantovaných krvetvornými buňkami

- Klinické aspekty transplantací krvetvorných buněk, procesy odběrů a výroby buněčných produktů i způsob jejich použití jsou řízené mezinárodními standardy, národními předpisy a postupy jednotlivých transplantačních center
 - Biologické a imunogenetické faktory transplantací, výběr dárců, registry, indikace pro jednotlivá onemocnění, principy léčby včetně léčby komplikací, monitorování, pozdní účinky, imunoterapie, metodologické studie, statistické údaje aj.
- Alogenní transplantace jako jediný potenciálně kurativní výkon pro rekonstituci normální hematopoézy, preferovaný pro GVL efekt / imunoreaktivitu T bb. dárce proti minor HLA nebo specifickým leukemickým epitopům

Transfuzní léčba pacientů transplantovaných krvetvornými buňkami

Standardy HSCT řeší téma intenzivní transfuzní podpory

- Problematicu související s potransfuzními komplikacemi, aloimunizacemi erytrocytárními antigeny a HLA
- Definují základní transfuzní postupy, podávají přehled o přípravcích, jejich výběru, vyšetření a použití, o preventivních opatřeních při refrakternosti na léčbu trombocyty, při TA-GvHD, přenosu infekcí, o použití granulocytární transfuze a o řízení ABO neshodných transplantací

Léčba transfuzními přípravky / díkce transfuzní služby

- Je řízená jednotlivými národními předpisy harmonizovanými s legislativou EU
- Zaměřená na minimalizaci rizik opakovaně transfundovaných pacientů
 - Hemolytické komplikace až u 68 % transplantovaných pacientů s ABO neshodou
 - Přitom 6 % pacientů čekajících na transplantaci má protilátky proti erytrocytům
- Definuje minimální rozsah vyšetření a algoritmus vyšetření

Vyšetření dárců krvetvorných buněk na krví přenosné infekce

- Mandatorní testy
 - Viry hepatitid: anti-HCV, HCV NAT, HBsAg
 - Viry HIV 1/2 : anti-HIV 1/2
 - Viry HTLV I/II: anti-HTLV I/II
 - Protilátky proti syfilis
- Doplnující testy
 - CMV sérologie
- Jiné/individuální požadavky na transfuzi
 - Paušálně leukodeplece
 - Patogenní inaktivace
- V ČR vyšetření v dikci transplantačního zákona dle přílohy 4 k vyhlášce č. 422/2008 Sb. (Vyhláška o stanovení bližších požadavků pro zajištění jakosti a bezpečnosti lidských tkání a buněk určených k použití u člověka – jsou odlišnosti, např. požadovaná laboratorní vyšetření dárců s výjimkou dárců reprodukčních buněk zahrnují vyšetření antigenu p24 a anti-HBc)

Imunohematologické vyšetření dárců krvetvorných buněk

- Krevní skupina AB0 RhD
- Imunní IgG protilátky proti známým krevním skupinám
 - Používají se standardní vyšetřovací techniky
- U pacientů s protilátkami nebo u vybraných diagnóz (AA, PNH, thalasémie, výhled dlouhodobých transfuzí) je vhodné použít erytrocyty s širší fenotypizací (K Fy Jk MNSs)

Transfuze při HSCT

- Erytrocyty v resuspenzním roztoku
 - Pretransplantačně AB0 RhD shodné / v dalších fázích dle typu Tx
 - Transfuze na základě provedeného předtransfuzního vyšetření
 - Sledování efektu substituce (dospělí hodnota Hb, děti výpočet z převedeného objemu)
- Trombocyty
 - Směsné z plné krve nebo aferetické
 - AB0 RhD shodné nebo kompatibilní dle typu Tx (inkompatibilita ↓ předpokládané zvýšení o 10- 30%)
 - Skupina 0 netestovaná na HT určena jen pro pacienty 0
 - D+ podané D- ženám preventivně substituovat Rhlg (250 IU na 5 TD /6 tý)
 - Při refrakternosti
 - Anti-HLA ⇒ dárce HLA shodní
 - Specifické anti-trc ⇒ podat 2-3 nebo více TD/den

Transfuze při HSCT

- Plazma/ Kryoprotein
 - Indikace u velkoobjemových transfuzí nebo při DIK
 - Využití pro obsah aktivity koagulačních faktorů
 - Faktor VIIIc, fibrinogen, von Willebrandův faktor, faktor XIII, fibronectin
- Granulocytový koncentrát
 - Aferetický nebo poolované buffy coaty od stimulovaného/ nestimulovaného dárce
 - Jako sekundární profylaxe při nonresponzivní antimikrobiální léčbě
 - Otazníky kolem rizika stimulace dárce
 - Chybí konkluzivní argumentace o přínosu podání GC

Transplantace a AB0 neshoda

- Přibližně 30 % HLA shodných příbuzenských Tx se neshoduje v AB0 skupině
 - U nepříbuzenských dárců více jak 50 % AB0 neshod
 - Odlišnosti také v jiných erytrocytárních antigenech
 - Odlišná chromozómová lokace genů pro HLA lokusy a expresi antigenů erytrocytů
- Dva základní typy neshod v krevních skupinách/nejen v AB0
 1. Transplantace přináší příjemci **nové antigeny**, proti kterým má protilátky = velká inkompatibilita (pac. 0 x dárce A, pac. K- x dárce K+)
 2. Transplantace přináší **nové protilátky** proti antigenům příjemce = malá inkompatibilita (pac. A x dárce 0, pac. D+ x dárce s anti-D)
 - Kombinace obou typů (pac A x dárce B) = oboustranná inkompatibilita

Mismatch antigenů a protilátek u pacienta → riziko hemolytických aj. komplikací v potransplantačním období

Faktory AB0 neshody, které rozhodují o přihojení v erytropoeze

- Immunologický charakter pravidelných AB0 protilátek
 - Důsledky protilátkového typu imunitní odpovědi
 - Protilátky ničí inkompatibilní erytrocyty i jejich prekurzory
 - Manifestní přibližně u 8 - 48 % neshod
- Použitý předtransplantační režim
 - Myeloablativní/nemyeloablativní



Doba přihojování týdny - měsíce

- Příjemce získá krevní skupinu dárce
- Protilátky přetrvávají řadu týdnů po transplantaci
- Prodlužují dobu přihojení na průměrně 41 dnů vs. 20 dnů u shodných Tx
- Příjemcovy AB0 protilátky slabé při chemoterapii nebo chybí / slabé inkompletní

Význam shody v krevních skupinách u transplantací krvetvorných buněk

- Vliv na klinické výsledky
 - Nejedná se o zásadní vliv
 - Stupeň HLA shody, zdroj krvetvorných bb., rizika infekce, věk a pohlaví dárce a příjemce
 - Přesto jsou výsledky u AB0 neshodných Tx považované za horší než u AB0 shodných
 - Celkové přežívání, počet relapsů, riziko GVHD, přihojení trombocytů a granulocytů, dětské VOD
 - Chybí srovnávací studie
 - Význam non-AB0 neshod menší / Rh K Jk M Le^b Di^a
 - U 1 - 8 % příjemců, adekvátní vlivu minor antigenů
 - Protilátky se tvoří bez ohledu na hlubokou imunosupresi navozenou u pacienta
 - Lymfocyty dárcovské infudované v graftu
 - Lymfocyty engraftované odvozené od dárce
 - Příjemcovy lymfocyty resistantní na conditioning
 - Vliv sekretorského statusu dárce a příjemce
 - Vliv věku příjemce a typu přípravného režimu
 - Většinou (kromě Jk event. D) nevýznamný klinický dopad

Velká AB0 neshoda

- Nejčastěji příjemce 0 / Dárce A,B,AB
- Méně často příjemce A,B / Dárce AB
 - Zvláště u režimů s redukovanou intenzitou
- Komplikace
 1. Akutní hemolýza erytrocytů dárce při infuzi graftu
 - Reakce protilátek přetrvávajících u příjemce se specifickým typem infundovaných dárcovských antigenů
 - Obsah erytrocytů v grafech se liší (co je bezpečné množství?)
 - Dle zdroje graftu / BM, PBSC, CB
 - Dle způsobu výroby / kryokonzervace
 2. Pozdní přihojení erytropoezy
 - Přetrvávající aglutininy brání normální maturaci prekurzorů erytrocytů ve dřeni / AB0 na úrovni CFU-E
 - Záleží na titru a clearance protilátky, množství antigenu, GVHD, předtransfuzním režimu, funkčnosti erytropoezy
 - Pokles retikulocytů, zvýšené nároky na transfuze
 3. Čistá erytrocytární aplazie
 - Selektivní deficit erytroblastů v kostní dřeni
 - U 6 – 30 % pacientů
 - Použitá munosuprese, DLI, erythropoetin, steroidy, rituximabu, výměna plazmy

Velká AB0 neshoda

- Prevence

1. Strategie deplece erytrocytů obsažených v graftu před transplantací

- Při obsahu ≥ 20 ml erytrocytů
- Nastavení parametrů aferetického odběru PBSC
- Metodou zpracování BM / nevýhodně redukuje počet progenitorových buněk

2. Strategie snížení titru protilátek u příjemce

- Výměna plazmy
- Imunoabsorpce aglutininů
- Použití infuze plazmy dárců / AB0 sekretorů k vysycení protilátek
- Použití pomalé transfuze erytrocytů dárcovského typu / zamítané pro hemolytické reakce

- Velká neshoda zřejmě nemá vliv na celkové výsledky transplantace

Malá AB0 neshoda

- Příjemce AB / Dárce A,B,0
- Příjemce A / Dárce B, 0
- Příjemce B / Dárce A, 0
 - Incidence záleží na zastoupení AB0 skupin v populaci
- Komplikace
 1. Hemolýza erytrocytů příjemce protilátkami dárceva typu
 - Akutní
 - Pozdní / PLS - Passenger Lymphocyte Syndrome
 - Tvorba protilátek imunokompetentními lymfocyty z graftu /sekundární imunitní odpověď
 - Ostatní rizikové faktory: příjemce skupiny A, PBSC s vyšším počtem CD 19+, mobilizace G-CSF s konverzí na TH2 odpověď, imunosuprese bez MTX, non-HLA shoda sourozenců
 2. Venooklusivní choroba jater
 - AB0 protilátky příjemce atakují antigeny na endotelu sinusů jater příjemce
 - Nekonzistentní výsledky klinických studií

Malá AB0 neshoda

- Strategie redukce objemu plazmy v graftu
 - Při titru protilátek u dárce ≥ 256
 - Není však prokázána přímá souvislost mezi titrem protilátek a hemolýzou
 - Jen 10 – 15 % pacientů má manifestní hemolýzu
 - U BMT nesnižuje počet B lymfocytů / neovlivňuje četnost PLS x použití rituximabu

Oboustranná neshoda

- Současně kombinuje oba typy neshod
- Příjemce B / Dárce A
- Komplikace obou typů
- ✓ Všechny typy vyžadují zvýšenou podporu transfuzemi
- ✓ Postupy pro různé situace s ohledem na možná rizika a benefity pro pacienta

Table 3 Serologic Investigation of Patients Presenting With Immune Hemolysis

Case No.	Maximum Hemolysis Day Post-BMT	ABO Group Rh Type		DAT Positive for:	Day Post-BMT DAT First Positive	Antibody in Eluate	Antibody in Serum	Day Post-BMT Serum Antibody Last Detected
		D	R					
1	+15	O+	A-	C3	+18	ND	Anti-A	+38*
2	+16	O+	A+	C3	+15	ND	Anti-A	+24*
3	+10	O+	B+	IgG+ C3	+10	Anti-B	Anti-B	+42*
4	+10	O+	A+	C3	+4	Anti-A	Anti-A	+30*
5	+12	B+	AB+	C3	+9	Anti-A	Anti-A	+42*
6	+13	A-	A+	IgG	+13	Anti-D	Anti-D	+70†

Abbreviations: BMT, bone marrow transplant; DAT, direct antiglobulin test; D, donor; R, recipient; ND, not done.

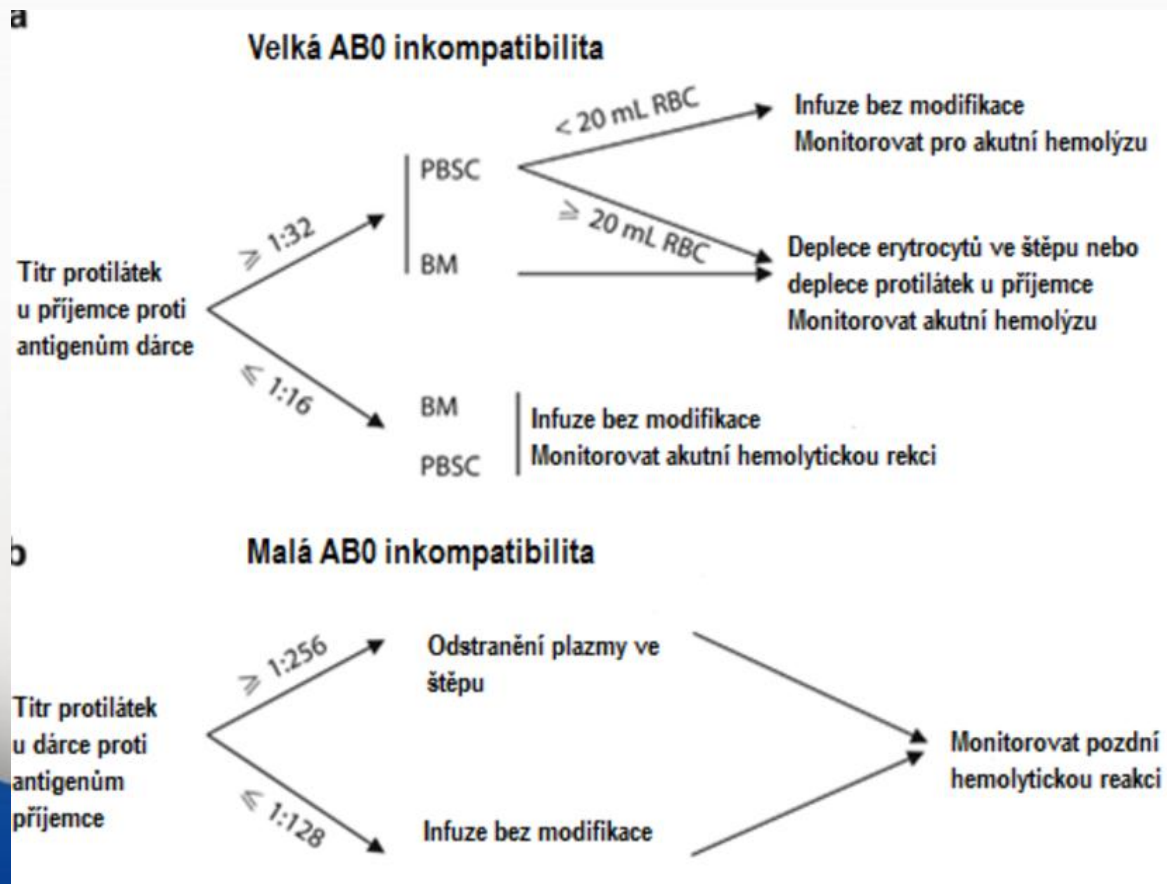
*Serum antibody not detectable in subsequent followup.

†Anti-D titer 256; later samples not tested.

Monitorování a transfuze

Strategie sledování titrů anti-A,-B pro IgM a IgG od D+4 včetně kontrol hodnot Hb a počtu rtc a dalších parametrů hemolýzy

- U pacientů s předtransplantačním titrem protilátek nad 128
 - Kontroly titru 2x týdně do doby jeho snížení na 1:16, poté kontroly 1x týdně



Monitorování a transfuze

2. Strategie výběru kompatibilních transfuzí včetně transfuzí trombocytových

- Připravená schémata pro volbu přípravků

Recipient	Donor	Phase I*	Phase II†					Phase III‡				
		All Products	RBCs	Platelets		Plasma		RBCs	Platelets		Plasma	
				First Choice	Second Choices	First Choice	Second Choices		First Choice	Second Choices	First Choice	Second Choices
O	A	Recipient	O	A	AB, B, O	A	AB	Donor	A	AB, B, O	A	AB
O	B	Recipient	O	B	AB, A, O	B	AB	Donor	B	AB, A, O	B	AB
O	AB	Recipient	O	AB	A, B, O	AB	NA	Donor	AB	A, B, O	AB	NA
A	AB	Recipient	A	AB	A, B, O	AB	NA	Donor	AB	A, B, O	AB	NA
B	AB	Recipient	B	AB	B, A, O	AB	NA	Donor	AB	B, A, O	AB	NA
A	O	Recipient	O	A	AB, B, O	A	AB	Donor	A	AB, B, O	A	AB
B	O	Recipient	O	B	AB, A, O	B	AB	Donor	B	AB, A, O	B	AB
AB	O	Recipient	O	AB	A, B, O	AB	NA	Donor	AB	A, B, O	AB	NA
AB	A	Recipient	A	AB	A, B, O	AB	NA	Donor	AB	A, B, O	AB	NA
AB	B	Recipient	B	AB	B, A, O	AB	NA	Donor	AB	B, A, O	AB	NA
A	B	Recipient	O	AB	B, A, O	AB	NA	Donor	AB	B, A, O	AB	NA
B	A	Recipient	O	AB	O, A, B	AB	NA	Donor	AB	A, B, O	AB	NA

Substituce erytrocytů u HSCT

- Řešení hemolýzy = transfuze erytrocytů skupiny 0 nebo erytrocytů kompatibilních s dárce + podpůrná léčba + medikace
- Různé transfuzní režimy zohledňují ABO antigeny i protilátky přítomné v krvi příjemce do doby přihojení štěpu ~ zabránění hemolýzy a udržení podmínek pro přihojení štěpu

■ *Velká neshoda*

- Erytrocyty 0 nebo skupiny příjemce (pokud je prokazovaná a je pozitivní PAT a/nebo přetrvávají původní protilátky)
- Plazma + trombocyty jako dárce

■ *Malá neshoda*

- Erytrocyty 0 nebo dárceva typu (dokud jsou prokazované erytrocyty příjemce)
- Plazma + trombocyty jako příjemce

■ *Oboustranná neshoda*

- Erytrocyty 0, plazma + trombocyty AB

■ *RhD negativní štěp = RhD negativní transfuze*

Buněčný chimérismus

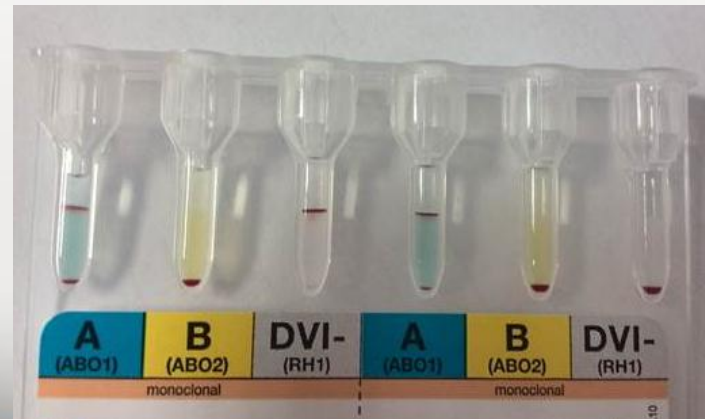
- Dva nebo více genotypů, které pochází od různých jedinců v jednom organismu
- U transplantací určuje podíl buněk dárce a příjemce
 - Dárcovský vs. smíšený chimérismus
- Důležitý faktor
 - Vliv na průběh potransplantačního období – u HSCT umožňuje určit dobu přihojení štěpu, aktivitu alogenní krve tvorby, autologní repopulaci
 - Informuje o četnosti a závažnosti GvHD a rejekcí, o podílu relapsů
 - Odlišný význam u transplantací krevetvorných buněk a orgánových
 - Detekce informativních markerů hematologicky, cytogeneticky, molekulárně geneticky
 - Stanovení erytrocytárního chimérismu fenotypizací

Chimérismus prokazuje odlišnost dárce a příjemce v polymorfních genetických znacích nebo jejich produktech (techniky volené dle senzitivity a specifiity - rozdílu pohlaví - typu nemoci)

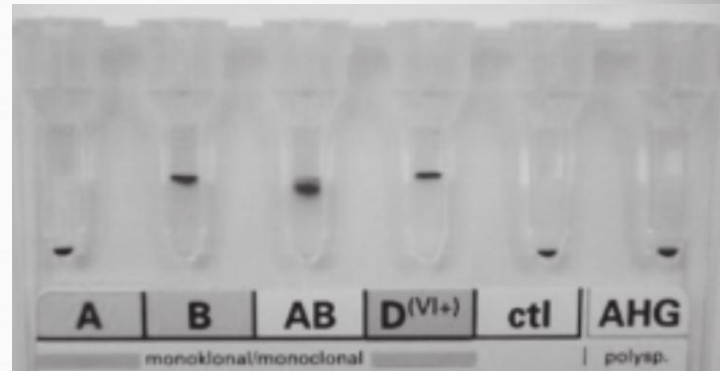
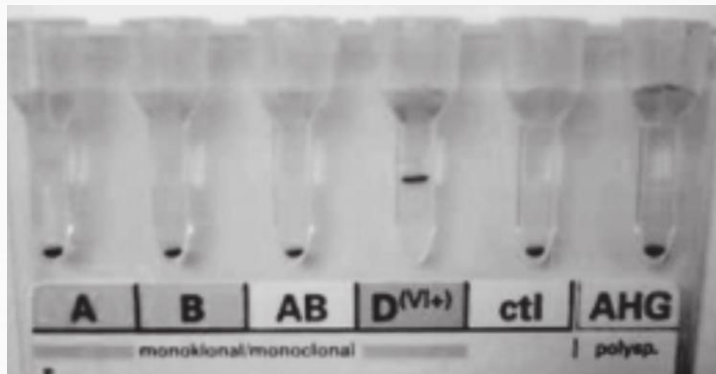
<i>Technique</i>	<i>Merits</i>	<i>Pitfalls</i>	<i>Sensitivity</i>	<i>Informativity</i>
Erythrocyte phenotyping	Simple, accurate and very sensitive technique. Very effective in case of CML	Less informative and blood transfusion can lead to confusion. Detects only one cell type	0.04–3%	Low
Cytogenetics	Very effective in cases of CML for monitoring Ph+ve cells	Evaluates only dividing cells, less sensitive, high false-positivity rate	5–10%	Low
FISH	Screen large number of cells, low false-positivity rate, high sensitivity	Restricted to sex-mismatched HSCT and needs more sample	0.7–5%	High
RFLP	Evaluates all nucleated cells, highly informative and needs small sample	Low sensitivity. Confusing results due to multiple restriction sites	5–10%	High
STR/VNTR	Highly informative and polymorphic regions. Neither sex mismatch nor HLA mismatch dependent	Low sensitivity due to same primer competition for both minor and major cell population	0.4–5%	Highest
Y-chromosome markers	Highly informative in sex mismatch HSCTs	Useful in case of female donor, cannot be used for sex-matched HSCTs	0.1–4%	High
X-chromosome markers	Highly informative in sex mismatch HSCTs	Useful in case of male donor, cannot be used for sex-matched HSCTs	0.1–4%	High
Amelogenin	Can be used with both male or female donor, highly informative	Useful in sex-mismatched HSCTs only. False positivity rate is high due to PCR errors in amplifying two different regions with the same set of primers	0.1–4%	High
Real-time quantitative PCR	Rapid, robust and exact quantification of cells is possible. Highly informative and most sensitive technique	Costly and efficient mainly with biallelic markers	0.1–1%	High

Erytrocytární chimérismus

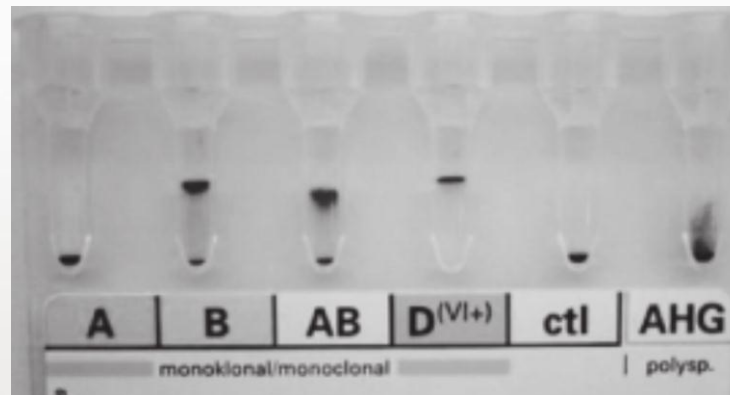
- Přibližně za dva týdny po transplantaci u skupinově shodných HSCT
 - Také u orgánových transplantací
 - Dočasný chimérismus u FMH nebo potransfuzní
- Detekce chiméry jako dimorfické populace erytrocytů
 - Atypické nálezy při vyšetření antigenů krevních skupin
 - Sloupcová aglutinace v gelu poskytuje ideální prostředí k vizualizaci
 - Při 2 – 5 % dárcovských erytrocytů v periferní krvi



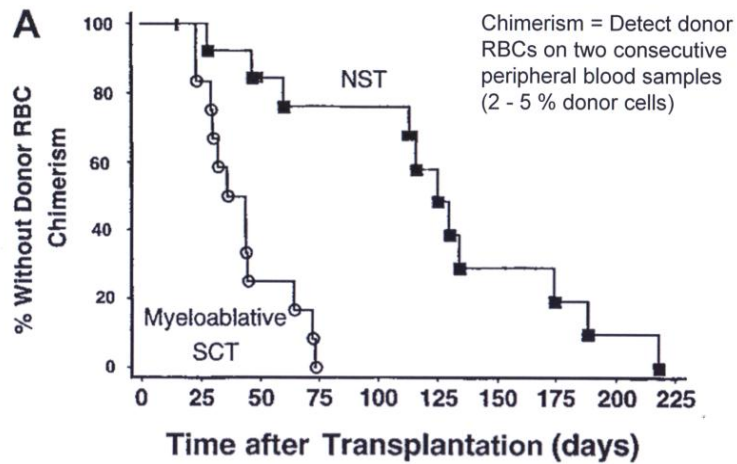
Dvojí populace erytrocytů Příjemce 0 / Dárce B



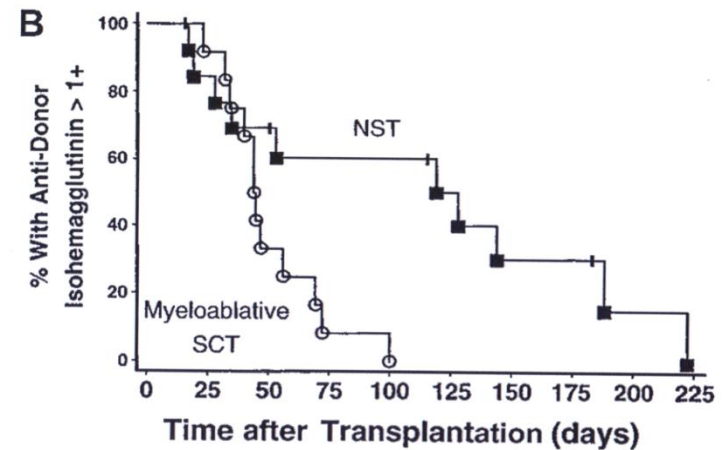
Potransplantační chiméra 0/B



Time to Donor RBC “Chimerism”



Time to absence of Isohemagglutinin



Erytrocytární chimérismus

„Komplikace“ při vyšetření AB0 skupiny
Transfuze mohou modifikovat skutečnou situaci

? Kritéria pro změnu krevní skupiny na dárcovský typ

- Přetrvává erythropoéza dárcova typu
- Zadní řada není ve shodě s přední řadou dárcovské skupiny, ale je s ní kompatibilní
- Molekulární studie vykazují 100 % dárcovský chimérismus
- Po dobu 120 dnů nebyla podána transfuze

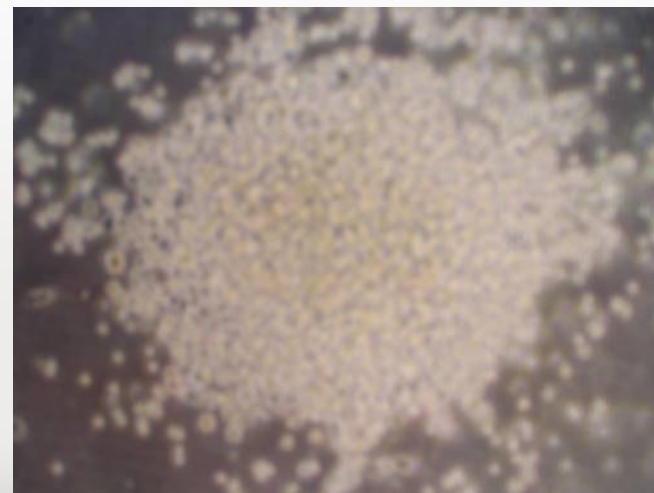
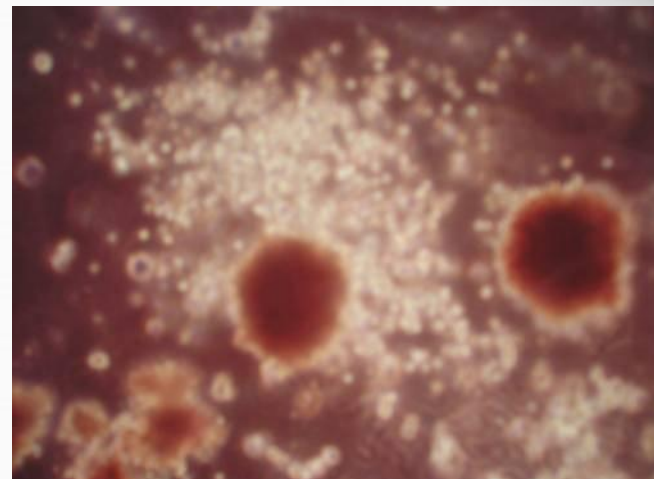
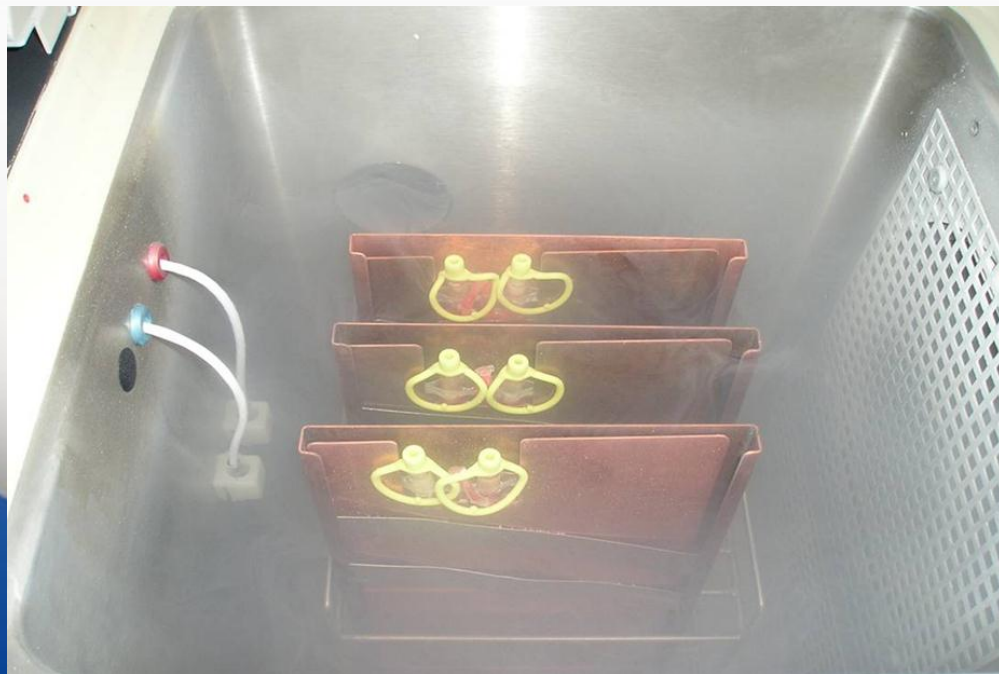
Transfuzní management pacientů transplantovaných krvetvornými buňkami - souhrn

- Komplex postupů
 - Zohledňují aktuální imunohematologickou situaci u příjemce
 - Preventivní účinek pro budoucí stav
 - Snaha zabránit / redukovat hemolýzu
- Neexistují konkrétní doporučení kromě postupů souvisejících přímo s podáním graftu
- Individuální plány a postupy jednotlivých transplantačních center pro řešení různých stavů / typů AB0 neshody
- Podmínkou je úzká spolupráce klinického pracoviště a krevní banky
 - Vyžaduje přesné informace o provedené transplantaci
 - Znalost povinných imunohematologických parametrů (AB0 RhD, nepravidelné protilátky proti erytrocytům) u příjemce i dárce
 - ☹ Riziko: V době Tx lze rozpoznat pouze krevní skupinu příjemce / transfuze však vyžadují přípravky kompatibilní pro příjemce i dárce
 - Někteří centra určují Rh, Kell, Kid, Lewis, titrují AB0 protilátky / individuální zvyklosti
 - ? Přínos testů kompatibility – dle zvyklostí pracoviště

Transfuzní a tkáňové oddělení FN Brno

Centrum pro transplantaci krevetvorných buněk
Interní hematoonkologické kliniky

Klinika dětské onkologie s transplantační
jednotkou



Centrum pro transplantaci krvetvorných buněk IHOK FN Brno

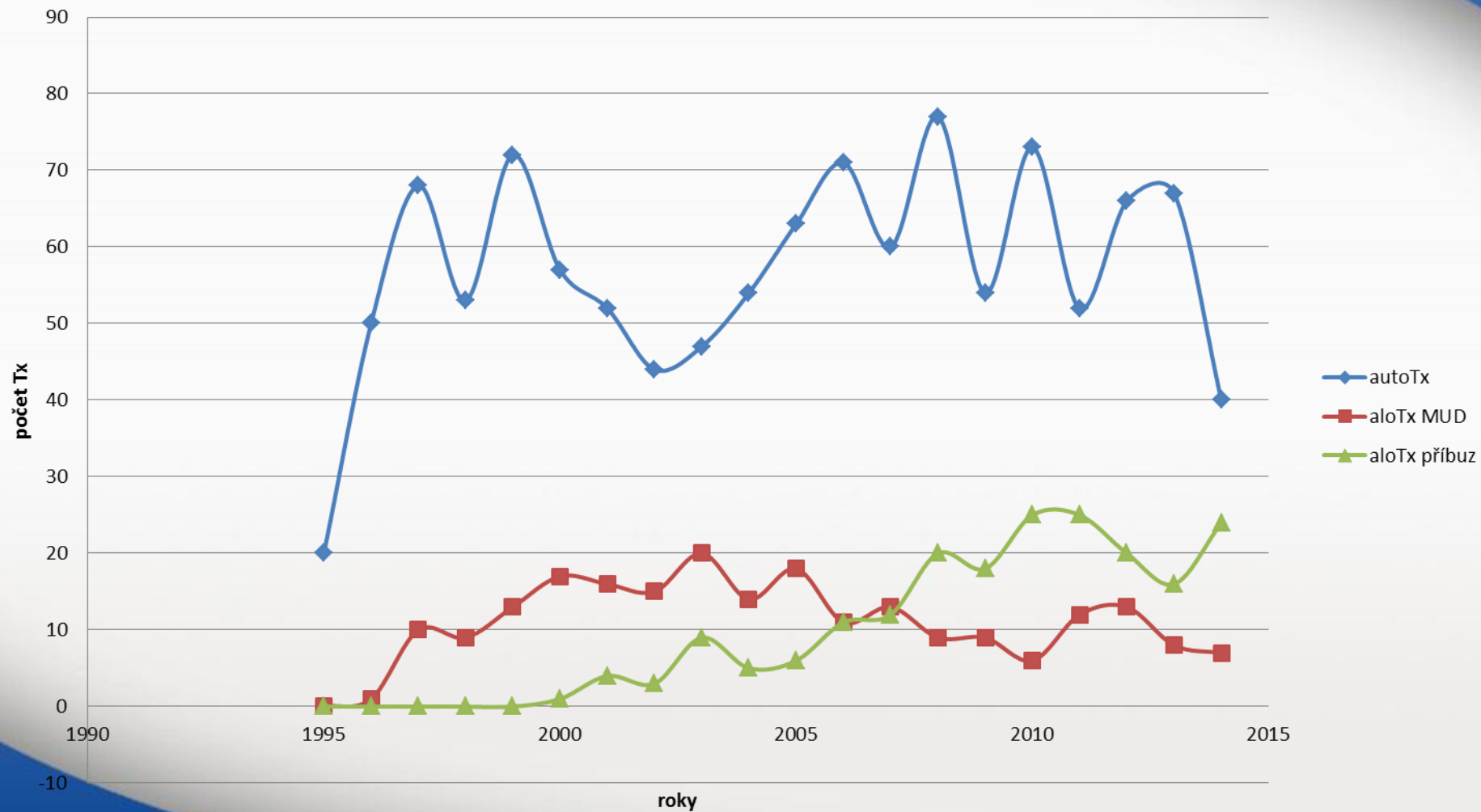
ROK	Auto Tx (PBSCT + BMT)	Auto re-Tx	Sekvenční protokol	Alo Tx		Alo re-Tx		CELKEM
				příbuz.	MUD	příbuz.	MUD	
1995	20	0	0	0	0	0	0	20
1996	50	0	0	1	0	0	0	51
1997	68	7	0	10	0	1	0	86
1998	53	8	0	9	0	2	0	72
1999	72	9	0	13	0	1	0	95
2000	57	11	0	17	1	2	1	89
2001	52	10	0	16	4	0	0	82
2002	44	3	0	15	3	8	0	73
2003	47	9	0	20	9	3	0	88
2004	54	13	0	14	5	2	1	89
2005	63	10	0	18	6	4	1	102
2006	71	23	0	11	11	0	2	118
2007	60	23	0	13*	12	3	2	113
2008	77	16	0	9***	20**	5	1	128
2009	54	16	0	9***	18**	2	5	104
2010	73	19	2	6	25	0	0	125
2011	52	20	1	12	25	0	0	110
2012	66	23	0	13	20	0	2	124
2013	67	42	0	8	16	0	5	138
2014	40	32	0	7	24	0	0	103
CELKEM	1140	294	3	221	199	33	20	1910

* dárce dcera, shoda 10/10

** pacient/ka zemřela v průběhu přípravného režimu před podáním MUD PBSC

***RELN – příbuzný s 1 neshodou (matka v 2008, sestra v 2009)

Transplantace krvetvorných buněk FN Brno



Předtransplantační vyšetření

- Vstupní vyšetření pacienta / 25 – 30 dní před transplantací
 - AB0 RhD
 - Antierytrocytární protilátky: enzym/NAT + PAT
 - Další vyšetření
 - KO, koagulace, anti-leu, biochemie, moč+sed, ekg, sérologie CMV-HSV-VZV-EBV-HIV-HAV-HBV-HCV-lues-toxoplasma, chimérismus, rtg P+S, ECHO srdce, sono břicha, HCG, fokusy, psychologické vyšetření...
 - Specializované odběry podle nastavení výzkumu
 - Posouzení transplantačního rizika /morbidity a mortality v souvislosti s transplantační léčbou
 - Index komorbidit/skórovací systém rizik dle přidružených chorob
 - Fenotypizace ostatních krevních skupin?
 - Sice benefiční pro bezpečnou hemoterapii
 - Není zájem kliniků transplantačního centra / organizační zajištění?
 - Imunohematologické komplikace nejsou
 - Dárci často vyšetřeni / dle zvyklostí jednotlivých odběrových center
 - U dětských pacientů stanovován fenotyp Rh-K

FAKULTNÍ NEMOCNICE BRNO FN Brno, Transfúzní oddělení a krevní banka, Jihlavská 20, 625 00 Brno
Telefon laboratoř: 532 232 545, telefon expedice: 532 232 626

ZÁDANKA O IMUNOHÉMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ A ERYTROCYTOVÉ PŘÍPRAVKY

Tržní (tržní): ☐ RUTINA ☐ STATIM ☐ VITAL ☐

Oddělení: ONK-JIP7 NS: 6432 Dob: 472
Tel: ZP: 205

Zdrav.pojišťovna: Odesílající zařízení: (razítko s IČP, telefon, NS)

Diagnóza:

Hybešova 113
Datum odběru vzorku: 13/11/14
Podpis sestry: *M. K.*
Jmenovka lékaře: *FUDR Kupaš*

Imunohematologická anamnéza: Krevní skupina (uvedte, je-li známá): *A+*
Předchozí transfuze: ☐ ANO (kdy) Gravidita (týden): *AB+*
Reakce po transfuzi: ☐ ANO (jaká) Porody:
Jiné nálezy (protilátky): Anti-D profylaxe (kdy):

Transplantace dne: Krevní skupina dárce:

Požadovaná vyšetření (zaškrtněte): *Výsadní laboratoř*
☒ Předtransfúzní vyšetření ☐ Přímý antiglobulinový test
☐ Krevní skupina ☐ Identifikace protilátky
☐ Protilátky proti erys ☐ Jiné vyšetření

Požadavky na erytrocytové transfúzní přípravky (zaškrtněte, vyplňte):

Počet TU	Deleukotizace	Ozáření	Datum a čas výdeje přípravku (nebo uvedte deponování)
<i>2 TU</i> <i>ERD</i>	☒ ANO	☒ ANO	<i>13/11/14 DODAT NA K20-TJ 7</i>
	☐ ANO	☐ ANO	

FAKULTNÍ NEMOCNICE BRNO FN Brno, Transfúzní a krevní oddělení, Jihlavská 20, 625 00 Brno
Telefon laboratoř: 5 3223 2545, telefon expedice: 5 3223 2626

ZÁDANKA O IMUNOHÉMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ A ERYTROCYTOVÉ PŘÍPRAVKY

Jméno, příjmení: *15.31.25*
Naléhavost požadavku: ☐ Rutina ☐ Statim ☐ Vital ☐

Zdravotní pojišťovna: Požaduje (IČP, telefon, adresa, NS):
Diagnóza: *1010*

Datum a čas odběru: Odběr provedl: *1010*

Imunohematologická anamnéza: Krevní skupina pacienta (uvedte, je-li známá): *A-*
Předchozí transfuze: ☐ ANO (kdy) Gravidita (týden):
Reakce po transfuzi: ☐ ANO (jaká) Porody:
Jiné nálezy (protilátky): Anti-D profylaxe (kdy):

Transplantace dne: *28.5.14* Krevní skupina dárce transplantátu: *A-*

Požadovaná vyšetření služby (zaškrtněte):
☒ Předtransfúzní vyšetření ☐ Přímý antiglobulinový test
☐ Krevní skupina ☐ Identifikace protilátky
☐ Protilátky proti erys ☐ Opis krevní skupiny
☐ Jiné vyšetření

Požadavky na erytrocytové transfúzní přípravky (zaškrtněte, vyplňte):

Počet TU	Deleukotizace	Ozáření	Datum a čas výdeje přípravku (nebo uvedte deponování)
<i>2 TU</i> <i>ERD</i>	☒ ANO	☒ ANO	<i>11/10/14</i>
	☐ ANO	☐ ANO	

Pediatrická TU: Objem (ml): *100* *Prjác 28*

Převod štěpu (transplantace)

- Předání štěpu a průvodní dokumentace kurýrem v TTO
- Při AB0 neshodě (AB0 protilátky u dárce) separace plazmy ve štěpu a její náhrada albuminem
- Dodání štěpu z TTO na oddělení (časování dle dopravy z odběrového centra - nativní - kryokonzervované buňky)
- Kontroly a vyplňování řady formulářů souvisejících s výkonem
- Dokončení přípravy pacienta před podáním štěpu /hydratace, antihistamnika, kortikoidy, Ca gluconicum aj.
- Podání štěpu v i. v. infuzi cca během 1 hodiny pod dohledem transplantačního lékaře (monitorování ekg, TK, pO₂, dechové frekvence)
- Zaznamenání průběhu transplantace, prohlášení svědka

Potransplantační vyšetření

- Dle stanovených schémat /denně + určené konkrétní dny
 - KO+diff, koagulace, biochemie základní a rozšířená, hladiny léků, stěry ze sliznic na kultivaci
 - Při vzniku komplikací další cílená vyšetření (volný Hb, haptoglobin při hemolýze)
- Chimérismus od 14. dne (detekce informativních polymorfismů u dárce a příjemce - vyjadřuje % zbytkové krvetvorby pacienta)
- Vyšetření krevní skupiny v rámci předtransfuzního vyšetření
- Jako cílené vyšetření AB0 RhD jen vzácně
 - Při komplikacích (dle klinických a laboratorních nálezů)
 - Při další hospitalizaci (pokud chybí výsledek krevní skupiny)
- Hemolýza jako klinicky manifestní nález je unikátní jev

Schéma pro substituci IHOK/TTO

Neshoda	dárce	příjemce	erytrocyty	plazma a trombocyty
Malá	0	A	0	A nebo AB
	0	B	0	B nebo AB
	A	AB	A nebo 0	AB
	B	AB	B nebo 0	AB
Velká	A	0	0	A nebo AB
	B	0	0	B nebo AB
	AB	0	0	AB
	AB	A	A nebo 0	AB
	AB	B	B nebo 0	AB
Kombinovaná	A	B	0	AB
	B	A	0	AB

RhD	RhD+	RhD-	RhD+ nebo RhD-	RhD+ nebo RhD-
	RhD-	RhD+	RhD-	RhD-

Kazuistika AB0 neshoda

- Pacient s NHL po příbuzenské PBSCT
- Měsíc po transplantaci laboratorní markery hemolýzy
- Příjemce 0-, přetrvávají u něho AB0 protilátky
- Dárce A+
- Přibližně á 3 týdny prováděno imunohematologické vyšetření
 - 1. vyšetření 0- anti-A,-B PAT- Abs-
 - 2. vyšetření A+ anti-A,-B PAT+ Abs- /v eluátu anti-A
 - 3. vyšetření A+ anti-A,-B PAT- Abs - /v eluátu anti-A
 - 4. vyšetření A+ anti-B PAT- Abs- / eluát nereaktivní
- Vyšetřením eluátu verifikovaná hemolýza A erytrocytů dárce při preexistujících AB0 protilátkách u příjemce

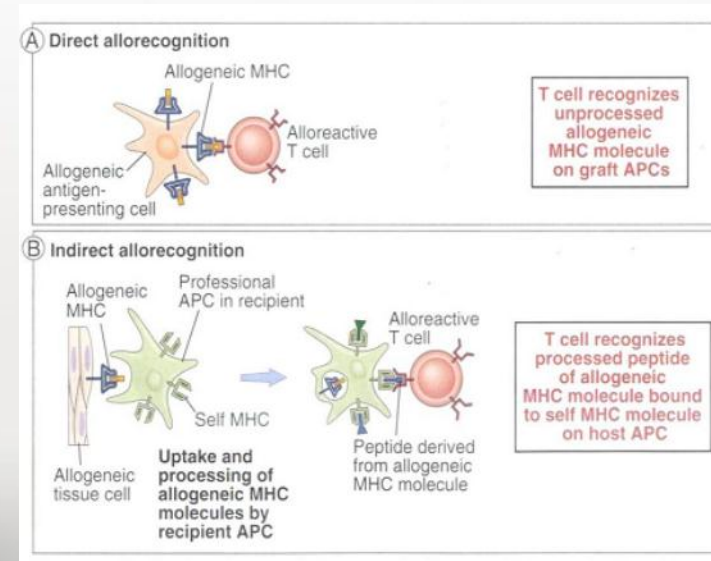
Kazuistika non-AB0 neshoda

- Pacientka RhD pozitivní
- Bifenotypická T/myeloidní leukémie
- AloTx červen 2013, TBI/CA/ATG
- MUD 10/10, RhD negativní
- Nebyly zjištěny protilátky proti erys u pacienta ani u dárce
- Září 2013 relabující nemoc, salvage CHT
- Červen 2013 RhD negativní, Abs negativní

- Říjen 2014 RhD negativní, v plazmě anti-D
- Vznik protilátky nebyl podchycený

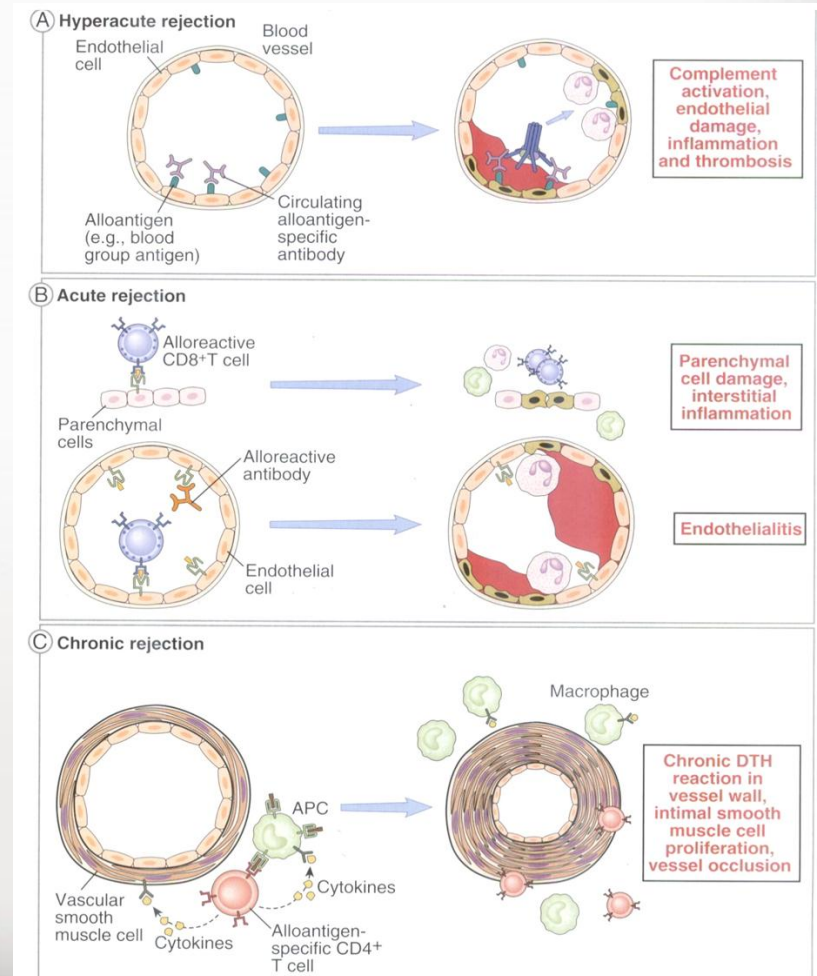
Transplantace solidních orgánů

- Zásadní problém: Velká AB0 neshoda (tzv. AB0 bariéra) mezi dárce a příjemcem
 - Expres AB0 imunodominantních sacharidů na různých tělních bb. (krevních, endoteliálních bb. cév a orgánů) a v plazmě
 - Riziko rejekce štěpu jako reakce T+B lymfocytů příjemce na antigeny geneticky odlišného dárce / HVG reakce
 - Riziko humorální rejekce graftu
 - AB0 protilátky příjemce reagují s aloantigenem graftu – aktivace C – poškození graftu
 - Vysoká mortalita (Tx ledvin, srdce)
 - Výjimky: Imunologicky privilegované tkáně (CNS, rohovka, gonády)
- Testy před orgánovými transplantacemi
 - Zaměřené na transplantační imunitu ke zjištění MHC odlišnosti mezi jedinci a na detekci preformovaných cytotoxických protilátek u příjemce (MLR, C-M)



Rejekce graftu příjemcem

- Hyperakutní
 - Reakce protilátky + C3 komplementu
 - Hyperakutní průběh
 - Zánětlivá reakce graftu/trombóza
- Akutní
 - CD8+ T bb. vedou k lézi parenchymu
 - Současně protilátkové léze
- Chronická
 - CD8+ spolu s CD4+ T bb.
 - Fibroblastické změny
- Prevence
 - Výběr vhodného dárce
 - Imunosupresivní léčba
 - Deplece T bb. dárce z graftu



Kazuistika

- Transplantace ledvin a jater
- Několik pacientů krevní skupiny A nebo B vs. dárce krevní skupiny 0
- Přibližně do týdne po Tx pokles hodnoty Hb + požadavek na transfuzi
- Předtransfuzní vyšetření
 - Ověření skupiny bez problémů
 - Negativní screening protilátek
 - Pozitivní všechny testy kompatibility se stejnoskupinovými erytrocytovými přípravky
 - PAT obvykle negativní
- Průkaz anti-A/anti-B imunní event. i kompletní protilátky pozitivní
- Vyšetření eluátů pozitivní pro anti-A/anti-B
- Transfuze erytrocytů skupiny 0 lze použít

Rozdíly

- **Orgánová transplantace**
- Původní AB0 skupina příjemce určuje AB0 skupinu graftu
 - Úspěšné přihojení ~ navození akomodace
 - Tzn. získání resistance vůči humorálnímu poškození cév orgánu a vůči rejekci
 - AB0 gen pro krvetvorbu příjemce suprimuje protipólový AB0 gen ve štěpu → inhibuje produkci ABH transferázy v orgánu → snížení tkáňové antigenicity
 - Vyžaduje trvalé potlačení imunitní reakce příjemce
- **Transplantace krvetvorných buněk**
- Nová AB0 skupina dárce suprimuje a nahrazuje AB0 skupinu příjemce
 - Kromě krve nenastává změna AB0 skupiny v jiných tkáních
 - Vyžaduje přechodně/engraftment potlačení imunitní reakce příjemce

Děkuji za pozornost

