

AMR po Tx srdce

Pavlík Petr CKTCH Brno

Akutní humorální
rejekce (AHR)
Acute
Antibodies-
mediated
Rejection (AMR)

- AMR se vyskytuje cca u 15% pacientů po TS typicky časně po TS – během prvního měsíce
- > 68% spojena s dysfunkcí graftu, (později jen u 13%)
- > 73% spojena s hemodynamickou nestabilitou
- 90% pacientů se vyléčí plazmaferézou a i.v. imunoglobuliny, ale s vysokým rizikem rekurence

Kazuistika – hospitalizace 22.11.2020 až 9.2.2021
Pacientka H.R. , narozená 1974

- **OA : st.p. op. DSS II (MICS)** na CKTCH Brno v lednu **2018**. Po op. pravostr. kard. dekomp., před propuštěním Tri regurgitace 2 st .
Hypochromní mikrocytární anemie v péči hematologa. Hiátová hernie , st.p. op. kotníku L.sin. po fraktuře a.a. CHOPN GOLD 2B, st.p. implantaci ICD; fibrilace síní. Anomální odstup tepen z aortálního oblouku; hiátová hernie, cholecystolitiáza, st.p. trombóze v. femoralis l.dx
- **Terapie:** Pradaxa, inhalační kortikoidy, terapie CHSS
- **Laboratoř:** mírná hyperbili, lehká mikrocytární anemie, N-látky v N, nízké zánětlivé markery
- **ECHO: EF LK 15- 20%**, diastol. dysfunkce LK, výrazná dilatace LS. PK výrazně dilatovaná, se sníženou longitud. kontraktilitou a hypokontraktilitou volné stěny, **předp. klidové plicní hypertenze - odhad syst TK v PK cca 35 mmHg. Význ. tri reg,,** Ao reg 1+, mi reg 1+, pulm reg 1+. Perikard bez výpotku.
- **Pravostranná katetrizace 7/2020:** Lehká postkapilární plicní hypertenze (**MPAP 29, PCWP 22, TPG 7, DPG -2**). Vysoké **CVP (20 mmHg)**, PVR 1,75 W.j., PAPI 0,75, RVSWi 3.

Kazuistika – hospitalizace 22.11.2020 až 9.2.2021
Pacientka H.R. , narozená 1974

- **OTS 23.11.2020** – nekomplikovaný výkon, kombin. podpora oběhu, uspokojivé ECHO, dominují vazokonstriktory, s.r., následně a-v disociace a epistimulace
- **silně pozitivní aktuální Cross-Match**
- **0.POD** současně **CVVHD** pro oligurii a známky hyperhydratace na ECHO bez významnější **TriR**, dobrá kontraktilita myokardu bez hypertrofie svaloviny
- Obvyklá **imunosuprese** – *methylprednisolon*, *antithymocytární globulin* kumulativně 5 mg/kg 4 dny po sobě, *mycofenolát-mofetil* v malé dávce, *tacrolimus* od 2. POD
Extubace za 7 hod. po výkonu, progresivně vysazena inotropika i vazokonstriktory

Kazuistika – hospitalizace 22.11.2020 až 9.2.2021

Pacientka H.R. , narozená 1974

- Luminex z 24.11.: silně pozit. DSA : I.tř.: A2 (MFI 24747), B57 (MFI 12214)

K zavedené imunosupresi časně PF denně (24.,25.,26.11.) + substituce endobulinem

- Luminex z 27.11.: pozit. DSA : A2 (MFI 11747), B57 (MFI 1872)
- EMB 27.11.: Závěr: Grade - 0(OR)
Suspektní AMR. Doplníme IHC vyšetření C4d a CD68, sdělíme formou dodatku.

27. – 30.11. ECHO nálezný uspokojivý, ukončena CVVHD, pacientka stabilní.

29.11. na ECHO ztlušťování myokardu, v průběhu 30.11. pokles EFLK na ECHO a rychle progredující kardiogenní šok – zavedeno VA-ECMO

- 30.11. dodatečně výsledek IHC EMB z 27.11.: IHC potvrzuje pAMR2
- Další 3 kúry PF + endobulin, + **eculizumab + rituximab + bortezomib**

pacientka zařazena na retransplantaci v urgentním pořadí s poznámkou:

V případě reOTS absolutní KI: dárce nositelem HLA A2, A68, A69, B57!!, hraniční KI je přítomnost B45 (MFI 3675, cut-off 3500)

Kazuistika – hospitalizace 22.11.2020 až 9.2.2021

Pacientka H.R. , narozená 1974

- **4.12.2020 akceptace orgánu od dárce krevní skupiny ABO 0 (příjemce A), orgánu s HLA-A31 LUMINEX 4.12. : DSA anti-HLA A31 6000 MFI**, ostat. anti- HLA ve vysokých titrech

reOTS bez větších komplikací, ECMO ex 1. POD, extubace 2. POD, na ECHO opakovaně dobrá kontraktilita myokardu bez ztlušťování stěn, středně významná TriR protrahovaně, proto nadále CVVHD s negativní BT. Recidivující SV arytmie.

- **7.12. PF + bortezomib + eculizumab**

- **9.12. EMB se závěrem mírné kombinované rejekce opakovaně LUMINEX s nadraničními hodnotami**

- 6 x PF + endobulin ob den (do 18.12.2020) + pulzní dávka methylprednisolonu 3x 500 mg

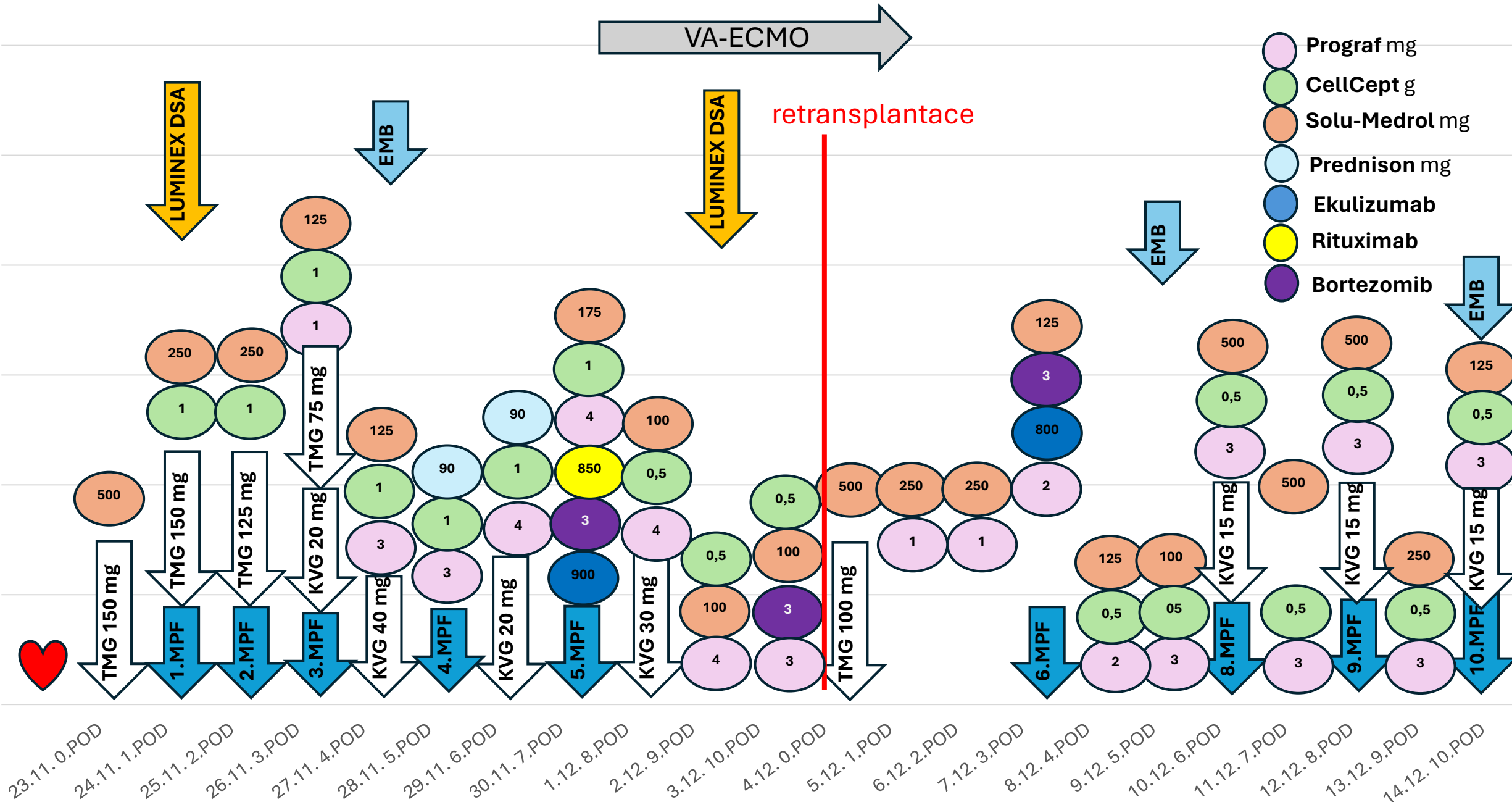
Progresivně vysazena farmakologická podpora oběhu, nástup diuréza a CVVHD ukončena 15.12.2020

Další průběh nekomplikovaný, i přes intermitentně vyšší hodnoty v kontrolních LUMINEX klinicky stabilní, uspokojivý ECHO nález

Kazuistika – hospitalizace 22.11.2020 až 9.2.2021

Pacientka H.R. , narozená 1974 výsledky LUMINEX po reTx

- 4.12. (akceptace orgánu s HLA-A31): **DSA anti-HLA A31 6000 MFI**, ostat. anti- HLA ve vysokých titrech -
- 6.12. **DSA anti-A31 12.800 MFI** (před PF)
- 9.12. **DSA anti- A31 6200 MFI**, z ostat. : vysoké titry anti-A2, A68, A69, B47-
- 11.12. **DSA antiA31: 19.000 MFI**
- 14.12. **DSA anti-A31 13.000**, přetrvávají vysoké nonDSA- anti-A2,68,69 kolem 50.000 MFI
- 17.12.: **DSA anti-A-31 11.347 MFI**, nově se objevuje anti A1 1481 MFI a další, zatím nespecifikované neshody ve II.tř.
- 22.12 **DSA anti A31 - 8.000 MFI**,
- 28.12. **DSA anti A31 9280 MFI**,
- 18.1. **DSA anti A31 8.910 MFI** , II třída a anti MICA nedetekovány.
- 16.2. **DSA anti A31 11.750 MFI**, II.třída a ani MICA nedetekovány



Imunologické okénko celulární imunita

- **T-lymfocyty**
- **Imunologická monitorace** – aktivační povrchové markery na subpopulacích T-lymfocytů (**efekt imunosuprese, riziko rejekce/infekce**)
 - absolutní a relativní počty subpopulací T-lymfocytů – flowcytometrická detekce povrchových markerů (CD3, CD4, CD8, CD4/CD8, CD25, CD14-DR, CD8-38)
- **EMB – endomyokardiální biopsie**
Mikroskopické vyšetření s hodnocením přítomnosti abnormální celularity, invazí imunokompetentních elementů, stavu endotelu cév, edému tkání
Výsledek referován jako celulární rejekce Grade

Imunologické okénko

Protilátkami zprostředkovaná imunitní reakce a jejich diagnostika

- **B lymfocyty**

Anti-HLA protilátky

- **Anti-HLA protilátky, vyvolané účinkem HLA antigenů** jsou nejčastěji lymfocytotoxiny, méně často leukoaglutininy. **Lymfocytotoxiny** jsou protilátky aloimunní, vzniklé nějakým imunizačním mechanismem:
 - v průběhu těhotenství (u cca 10 – 20% těhotných žen)
 - po transfuzích koncentrátů erytrocytů, trombocytů, plazmy
 - u dialyzovaných pacientů
 - po transplantaci
- **Protilátky** vznikají tehdy, obsahuje-li **imunizační faktor HLA antigeny odlišné od osoby vystavené jeho účinku**. HLA protilátky jsou imunoglobuliny třídy IgG a IgM. Přirozené HLA cytotoxiny jsou velmi vzácné.
- Aloimunizovaní jedinci mohou vytvářet **protilátky proti jakémukoliv HLA epitopu**, který není přítomen v jeho vlastním fenotypu

Imunologické okénko Protilátkami zprostředkovaná imunitní reakce a jejich diagnostika

- produkty genů **HLA I. tř.** - nalezeny na všech jaderných buňkách
- plazma – solubilní HLA antigeny

- **HLA antigeny II. tř.** – omezená distribuce: B lymfocyty, makrofágy, dendritické buňky, Langherhansovy buňky kůže, některé endoteliální buňky

- exprese HLA antigenů I. a II. třídy může být zvýšena během zánětu, ale také může být indukována na určitých buňkách, na kterých se normálně neexprimují (myocyty, hepatocyty).
- Nová exprese HLA antigenů za určitých podmínek pravděpodobně hraje majoritní roli v patogenezi rejekce transplantovaného štěpu a u určitých typů autoimunitních onemocnění.

Imunologické okénko Protilátkami zprostředkovaná imunitní reakce a jejich diagnostika

- **B lymfocyty**

Před Tx, pacienti zařazení na WL čekatelů na Tx

- **Complement –Dependent Cytotoxicity Assay (CDC) = Lymfocytotoxický test (LCT)**

- proti panelu 50 potencionálních dárců
- kvantitativní výsledek - v procentech (PRA %)

Princip: zachycuje **lymfocytotoxiny**, protilátky, vážící komplement **s následnou lýzou buněk**. **Reakce** probíhá **mezi protilátkou v séru pacienta a antigenem buněčné membrány typových lymfocytů**. Je-li v séru pacienta přítomna protilátka vznikne imunní komplex antigen-protilátka, který aktivuje dodaný králičí komplement. Aktivací vzniklý enzym fosfolypáza 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.

Imunologické okénko Protilátkami zprostředkovaná imunitní reakce a jejich diagnostika

- **B lymfocyty**

Před i po Tx

- **LUMINEX - detekce anti-HLA protilátek pomocí průtokového analyzátoru**
 - protilátky v I. a II. třídě
 - Pl kvantitativně proti jednotlivým antigenům
 - nutnost zhodnotit klinický význam
 - I. a II. Třída, **DSA po Tx, cut off**
 - četnost jednotlivých Ag v populaci
 - riziko falešně pozitivních výsledků (parainfekční Pl, antibiotika, iatrogeně – imunoglobuliny, krevní deriváty....)

Princip: metoda využívající **navázané HLA glykokoproteiny na 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

I Výsledky - pacient H. R. (nar. 74)

LUMINEX- protilátky	Výsledek			Metoda	Číslo vzorku
	HLA I.tř.	HLA II.tř.	MICA		
Screening	Pozitivní	Negativní	Negativní	#LUMINEX	S8482/20-1
Specifická HLA I.tř. (MFI)	A69 (26677), A68 (26293), A2 (23743), B57 (20646), B58 (17379), A34 (12088), A29 (11616), A31 (11232), A3 (10888), A80 (10070), A33 (9306), A30 (9188), A24 (8283), A23 (7020), B45 (6433), A74 (5369), B76 (5073), B44 (5061), A32 (4388), B82 (2598), A36 (2225), A66 (1894), A11 (1456), B63 (1273)			#LUMINEX	S8482/20-1
DSA proti HLA I.tř. (MFI)	A31 (11200 MFI)			#LUMINEX	
Specifická HLA I.tř. C1q (MFI)	A2 (49414), A69 (49368), A68 (45787), B57 (34719), A34 (24613), A29 (23440), B58 (20406), A31 (18880), A24 (17487), A3 (14625), A80 (14545), A33 (13378), A30 (9908), A23 (1616)			#LUMINEX	S8482/20-1
DSA proti HLA I.tř. C1q (MFI)	A31 (18900 MFI)			#LUMINEX	
Specifická HLA II.tř. (MFI)	Negativní			#LUMINEX	S8482/20-1
DSA proti HLA II.tř.	Negativní			#LUMINEX	

Výsledky vyšetření pacienta

Anti-HLA I.třída, II.třída, anti-MICA

HLA protilátky I. třídy IgG

Pozitivní

zadáno: 2001.202113.02.12 (s) 2190347

Vyšetřeno dle: SOP R/4043/20009

Identifikace HLA protilátek I.třída **A69, A2, A68, B57, B58, A29, A34, A31, A3, A24, A33, A80, A30, A23, A74, A32, B45, A66, B44, B76, A82, A36**

HLA protilátky II.třída IgG

Negativní

MICA protilátky

Negativní

Závěr: HLA pacient: A26; B18, 49; DR1, 11
 HLA dárce: A1, 31; B35, 37; DR1, 4; DQ5, 8
 HLA neshody: A1, 31; B35, 37; DR4; DQ8

V séru pacienta detekujeme anti-HLA protilátky I. třídy (MFI 23 113 -1 607) s DSA A31 (MFI 8 910). Anti-HLA protilátky II. třídy a anti-MICA protilátky nedetekovány.

I Výsledky - pacient H. R. (nar. 74)

LUMINEX- protilátky	Výsledek			Metoda	Číslo vzorku
	HLA I.tř.	HLA II.tř.	MICA		
Screening	Pozitivní	Negativní	Negativní	#LUMINEX	S8482/20-1
Specificita HLA I.tř. (MFI)	A69 (26677), A68 (26293), A2 (23743), B57 (20646), B58 (17379), A34 (12088), A29 (11616), A31 (11232), A3 (10888), A80 (10070), A33 (9306), A30 (9188), A24 (8283), A23 (7020), B45 (6433), A74 (5369), B76 (5073), B44 (5061), A32 (4388), B82 (2598), A36 (2225), A66 (1894), A11 (1456), B63 (1273)			#LUMINEX	S8482/20-1
DSA proti HLA I.tř. (MFI)	A31 (11200 MFI)			#LUMINEX	
Specificita HLA I.tř. C1q (MFI)	A2 (49414), A69 (49368), A68 (45787), B57 (34719), A34 (24613), A29 (23440), B58 (20406), A31 (18880), A24 (17487), A3 (14625), A80 (14545), A33 (13378), A30 (9999), A26 (1616)			#LUMINEX	S8482/20-1
DSA proti HLA I.tř. C1q (MFI)	A31 (18900 MFI)			#LUMINEX	
Specificita HLA II.tř. (MFI)	Negativní			#LUMINEX	S8482/20-1
DSA proti HLA II.tř.	Negativní			#LUMINEX	

Výsledky vyšetření pacienta

Anti-HLA I.třída, II.třída, anti-MICA

HLA protilátky I. třídy IgG

Pozitivní

zadáno: 2001.202113:02:12 (s) 2190347

Vyšetřeno dle: SOP R/4043/20009

Identifikace HLA protilátek I.třídy **A69, A2, A68, B57, B58, A29, A34, A31, A3, A24, A33, A80, A30, A23, A74, A32, B45, A66, B44, B76, A82, A36**

HLA protilátky II.třídy IgG

Negativní

MICA protilátky

Negativní

Závěr: HLA pacient: A26; B18, 49; DR1, 11
 HLA dárce: A1, 31; B35, 37; DR1, 4; DQ5, 8
 HLA neshody: A1, 31; B35, 37; DR4; DQ8

V séru pacienta detekujeme anti-HLA protilátky I. třídy (MFI 23 113 -1 607) a DSA A31 (MFI 8 910). Anti-HLA protilátky II. třídy a anti-MICA protilátky nedetekovány.

Imunologické okénko Protilátkami zprostředkovaná imunitní reakce a jejich diagnostika

- **B lymfocyty**

vyšetření bioptického materiálu (**EMB**)

- **Imunohistochemické (EMB IHC)**

- C4d, CD68

- **Molecular Microscopic Diagnostic System Report („MMDx) - RNA imunoassay**

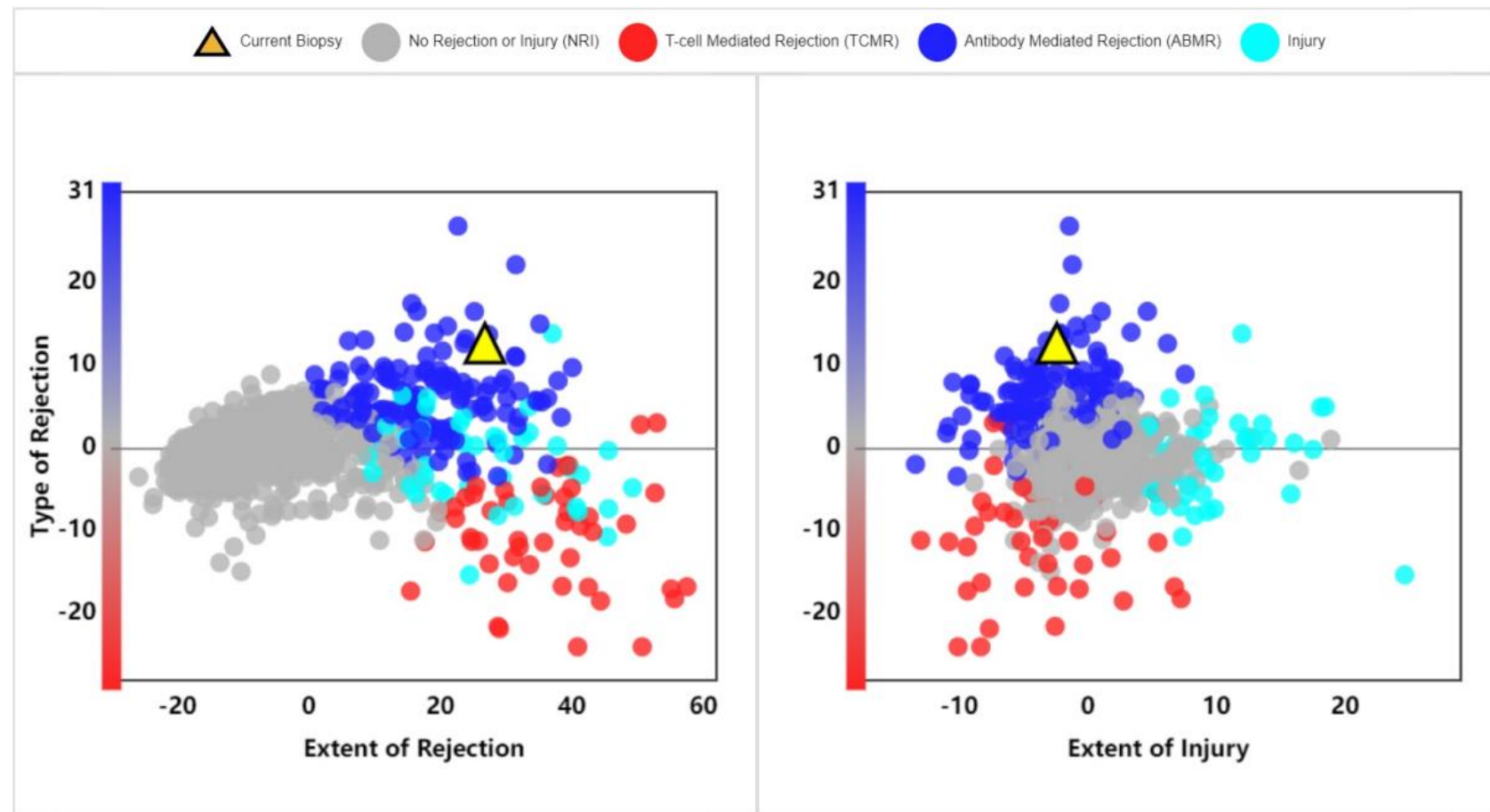
– pravděpodobnost přítomnosti celulární/humorální reakce/poškození stěpu jiné etiologie

- AI – systém se učí a zvyšuje přesnost

- shoda s LUMINEX

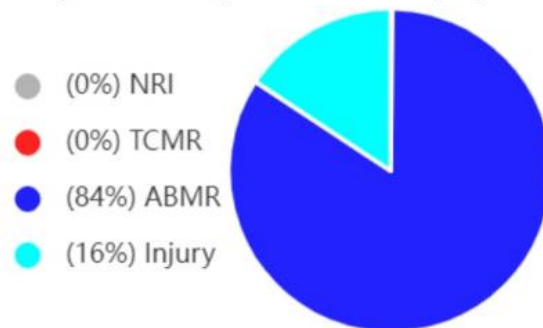
Imunologické
okénko
Protilátkami
zprostředkovaná
imunitní reakce a
jejich diagnostika

Result Details



Imunologické okénko Protilátkami zprostředkovaná imunitní reakce a jejich diagnostika

Proportion Rejection and Injury



Probable Rejection Diagnosis

No Rejection or Injury	0.01% Probable
T-cell Mediated Rejection	0% Probable
Antibody Mediated Rejection	100% Probable

Molecular Phenotype

	Classifier / Gene Sets	Biopsy Score	Normal Limit	Interpretation
ABMR Related	DSA-selective (DSAST)	0.92	< 0.09	Abnormal
	Endothelial DSA-selective (eDSAST)	0.63	< 0.16	Abnormal
	NK cell Burden (NKB)	1.38	< 0.12	Abnormal
	ROBO4	10.74	< 9.49	Abnormal
TCMR Related	Cytotoxic T cell transcripts (QCAT)	1.57	< 0.15	Abnormal
	T cell burden (TCB)	1.3	< 0.32	Abnormal
	Enzyme (ADAMDEC1)	3.24	< 2.96	Slightly Abnormal
	Cytokine (CXCL13)	4.84	< 5.2	Normal
	Interferon gamma (IFNG)	4.99	< 4.13	Abnormal
	Checkpoint (CTLA4)	4.01	< 3.66	Slightly Abnormal
Rejection Related	IFNG inducible (GRIT)	1.08	< 0.11	Abnormal
Injury Related	Heart transcripts (HT1)	-0.37	> -0.05	Abnormal
	Injury transcripts (IRRAT)	0.88	< 0.24	Abnormal
	Injury cluster (S4)	0.16	< 0.1	Slightly Abnormal
	Microphage transcripts (QCMAT)	0.64	< 0.14	Abnormal
	Damage transcripts (DAMP)	-0.11	< 0.23	Normal

Léčba humorální rejekce

Plasmaferéza

Endobulin

Antithymocytární globulíny

Protilátky – biologické léčba

eculizumab - monoklonální Pl, inhibice komplementu (vedlejší účinky)

rituximab – vazba na transmembránový Ag CD20 B lymfocytů, vede k lýze b., dlouhodobý účinek

Aktuální management pacienta s rizikem/výskytem AMR

- **Screening rizika** při zařazení pacienta na WL čekatelů Tx srdce
 - **LUMINEX** s kvantitativním hodnocením přítomnosti imunologicky závažných PI
 - pacient s pozitivním nálezem matchován při výběru dárce – **virtuální Cross-Match**
 - možnost **preemptivních** elektivních kúr **PF** (před vlastní Tx srdce časově problematické)
- **Modifikace imunosupresivní terapie Tx srdce** – časně PF, imunoglobuliny, event., u silně sensitizovaných, ihned „biologická léčba“ – rituximab, eculizumab, (bortezomid)... ad
- **Monitorace** – časně EMB včetně IHC, kontrolní LUMINEX DSA, MMDx



Děkuji za pozornost

