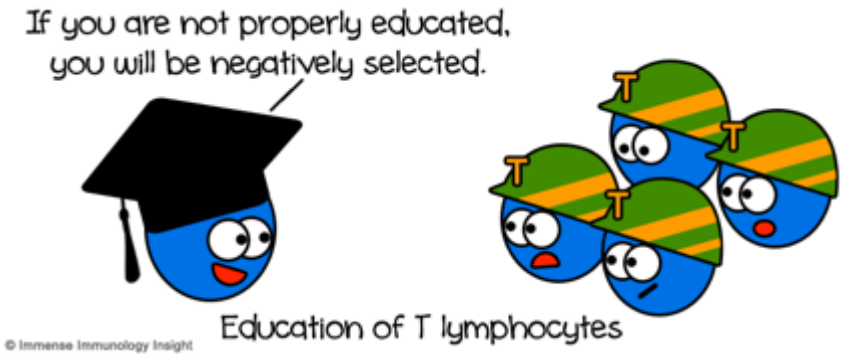
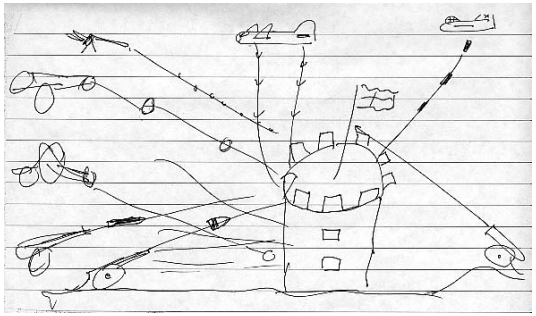
Transplantationsimmunologi för barnnefrologer

(och för Transplantationskirurger)





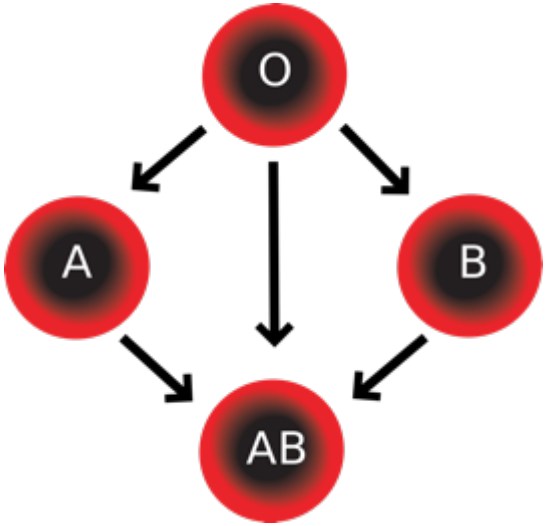
CG Groth, 1994

Lars Wennberg

(och Dan Hauzenberger)

Kompatibilitet?

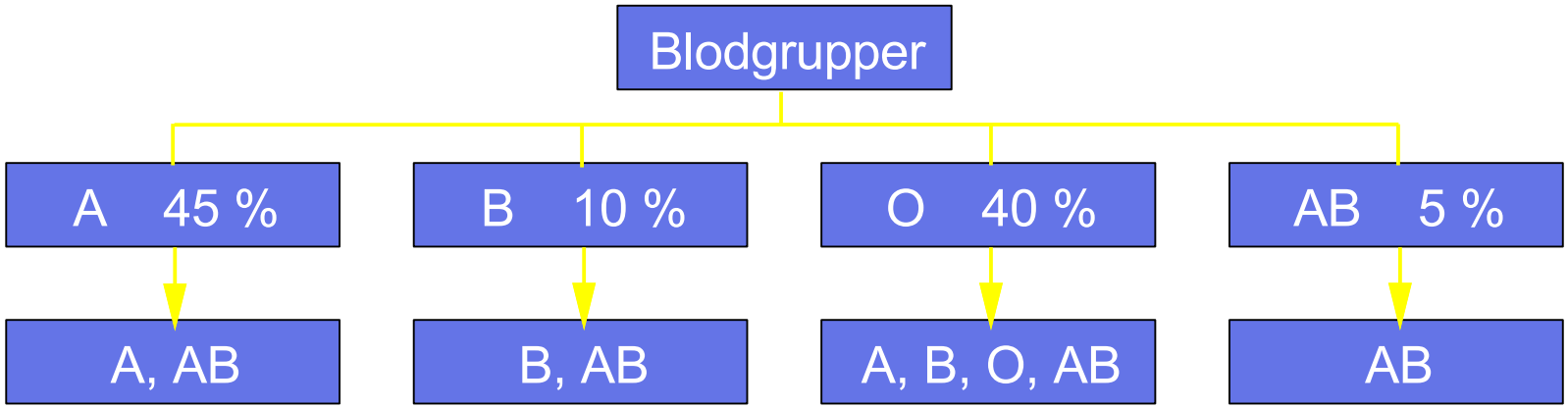
- AB0
  - Antikroppar mot donatorns blodgrupp
    - Autoantikroppar (bildas tidigt)
  - Kan avlägsnas effektivt
  - Goda resultat
  - Vanligen inget hinder mot NTx (LD)
    - Svårt hantera vid AD (om inte låga titrar)



- HLA
  - Anti-HLA antikroppar
    - Inducerade antikroppar
    - Transplantation, blodtransfusion, graviditet
    - DSA
  - Positivt korstest
  - Svårt avlägsna långvarigt
  - Osäkra/tveksamma resultat
  - Ofta ett hinder mot NTx (LD och AD)
  - Lång väntetid

AB0

Njurtransplantation: AB0-kompatibilitet

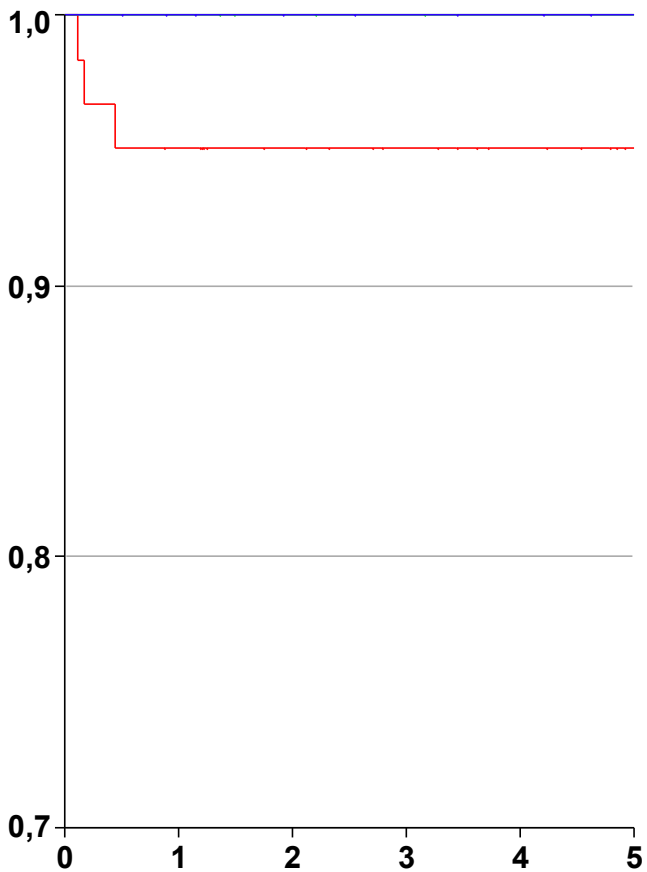


Blodgruppsinkompatibla njurtransplantationer utförs sedan 2001, inklusive pediatriska

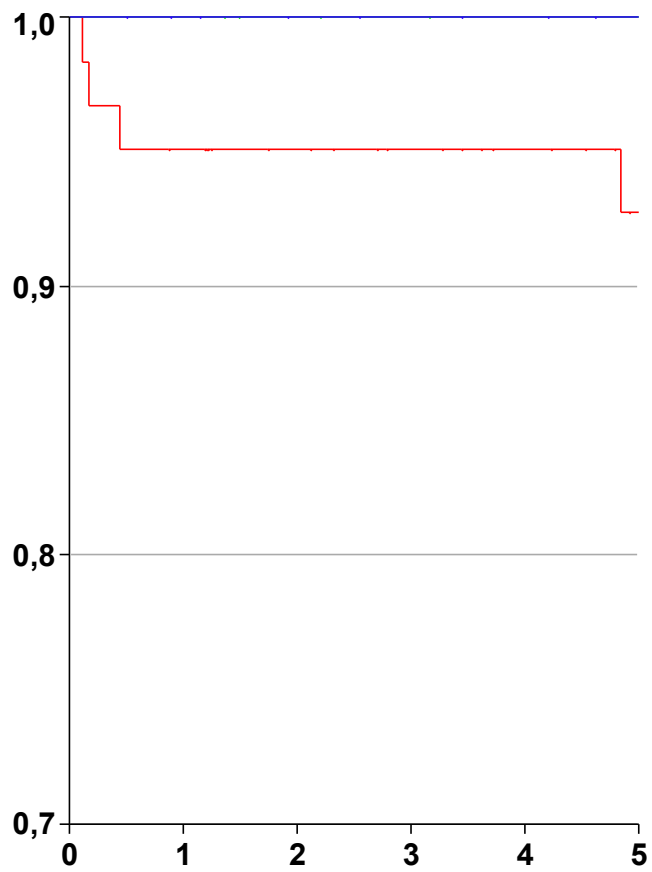
Baseras på speciell förbehandling
- AB0-specifik aferes
- Anti-CD20 (rituximab)
- Vanlig immunosuppression

Pediatric patients (< 16 years) transplanted between Sept 2001 and Sept 2012 in Stockholm (LD)

Cumulative patient survival



Cumulative graft survival



ABOi, n = 13

ABOc, n = 61

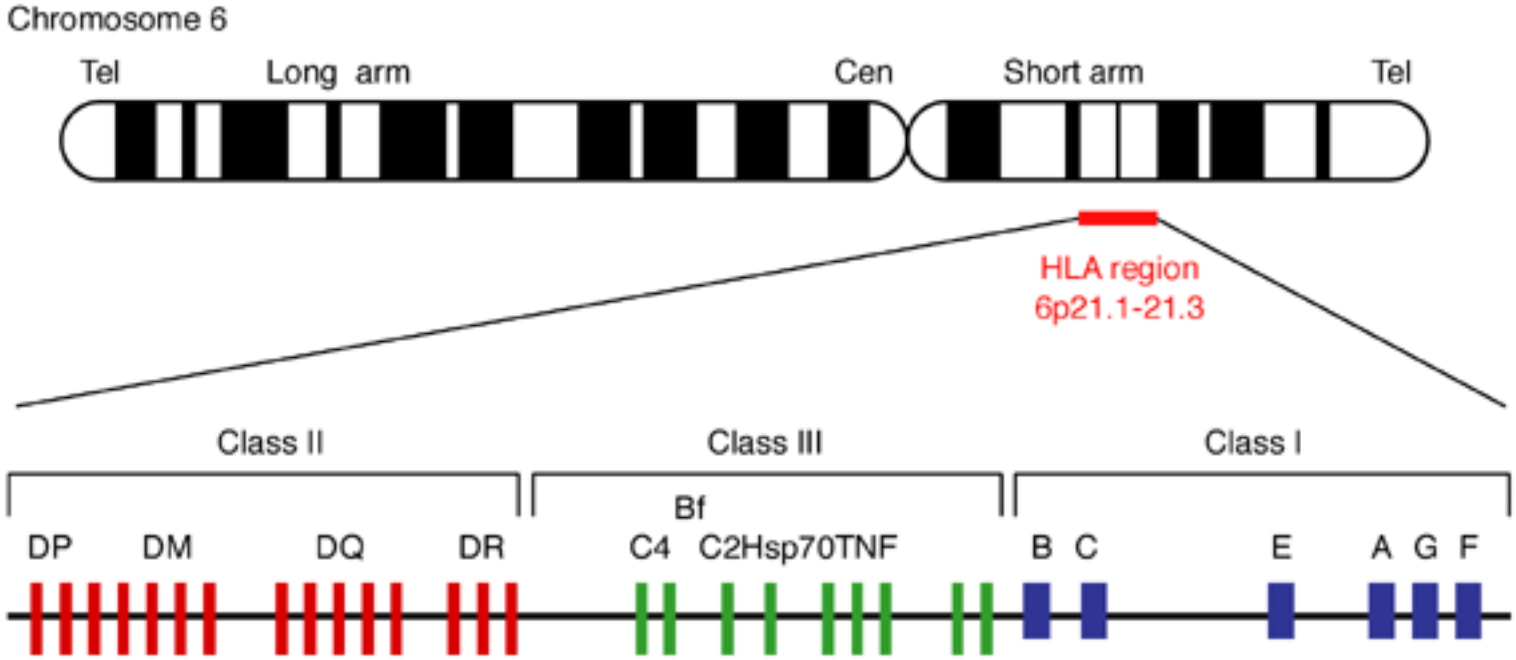
HLA

HLA

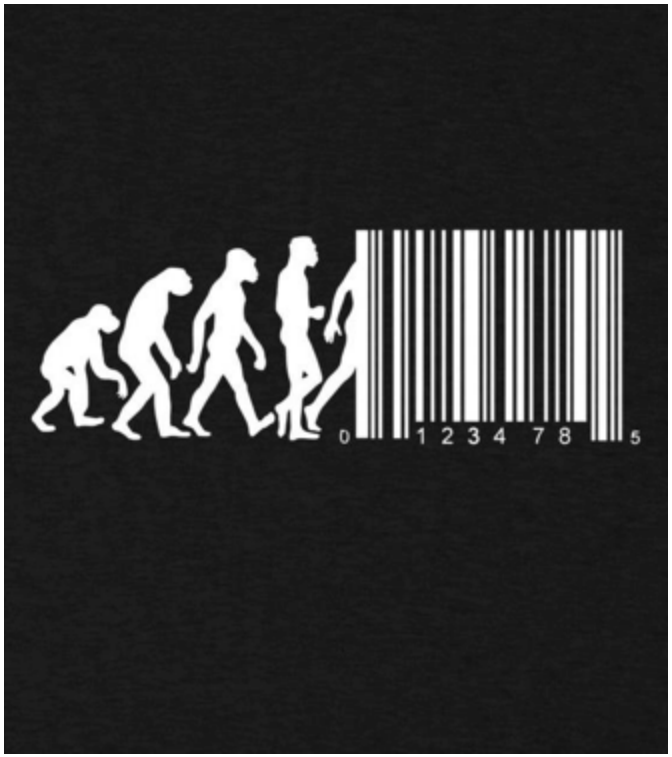
- HLA = Humant leukocyt antigen
- HLA uppsättning = vävnadstyp
- Unikt för varje individ
  - Enäggstvillingar undantagna
- Finns på alla (kärnförande) celler i kroppen

- HLA = vävnadens ”streckkod”
- Immunförsvarets celler kan läsa av ”streckkoden”

HLA bestäms av arvsmassan (DNA)

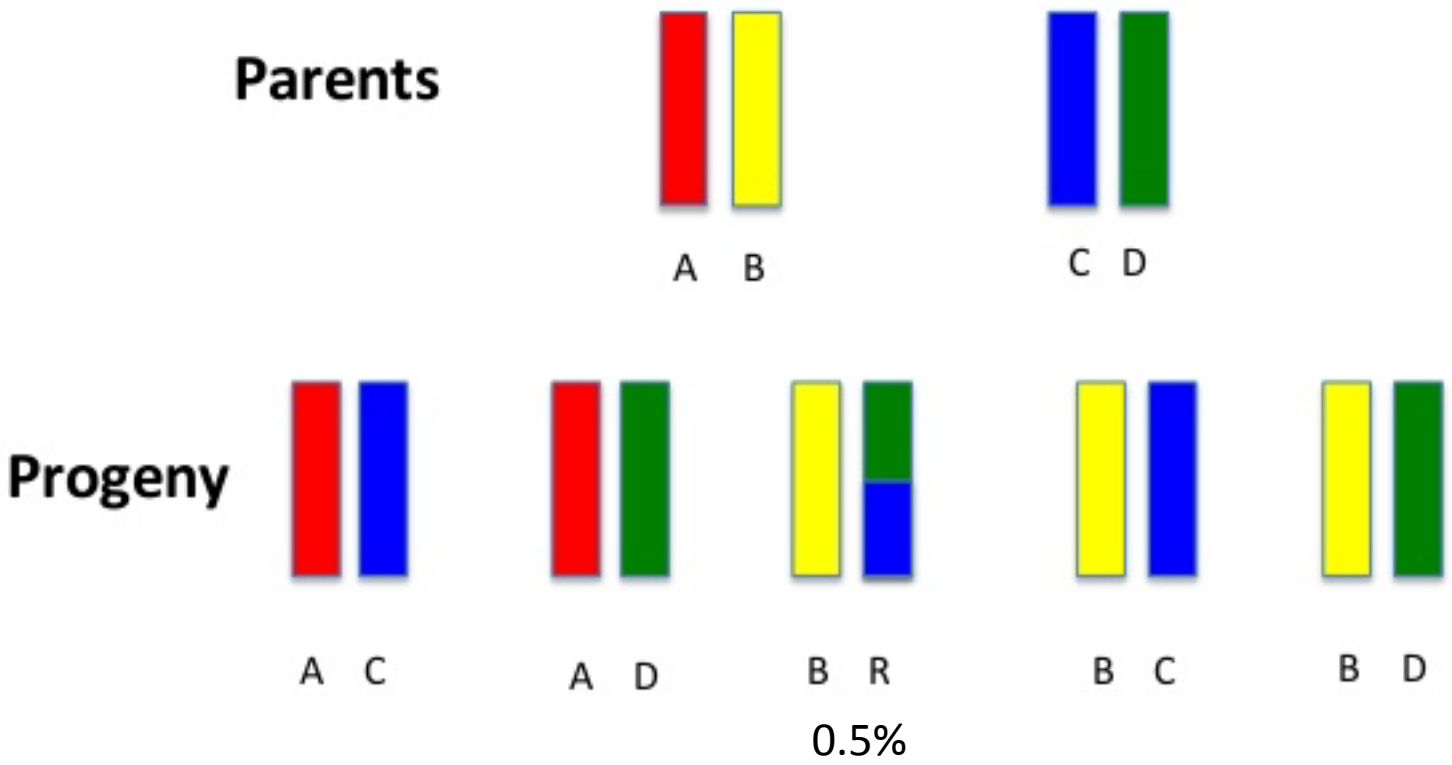


HLA typen ärvs från föräldrarna



HLA-generna bland de mest polymorfa (formskiftande) gener som existerar, med hundratals olika alleler i den mänskliga populationen

Inheritance of HLA-Haplotypes

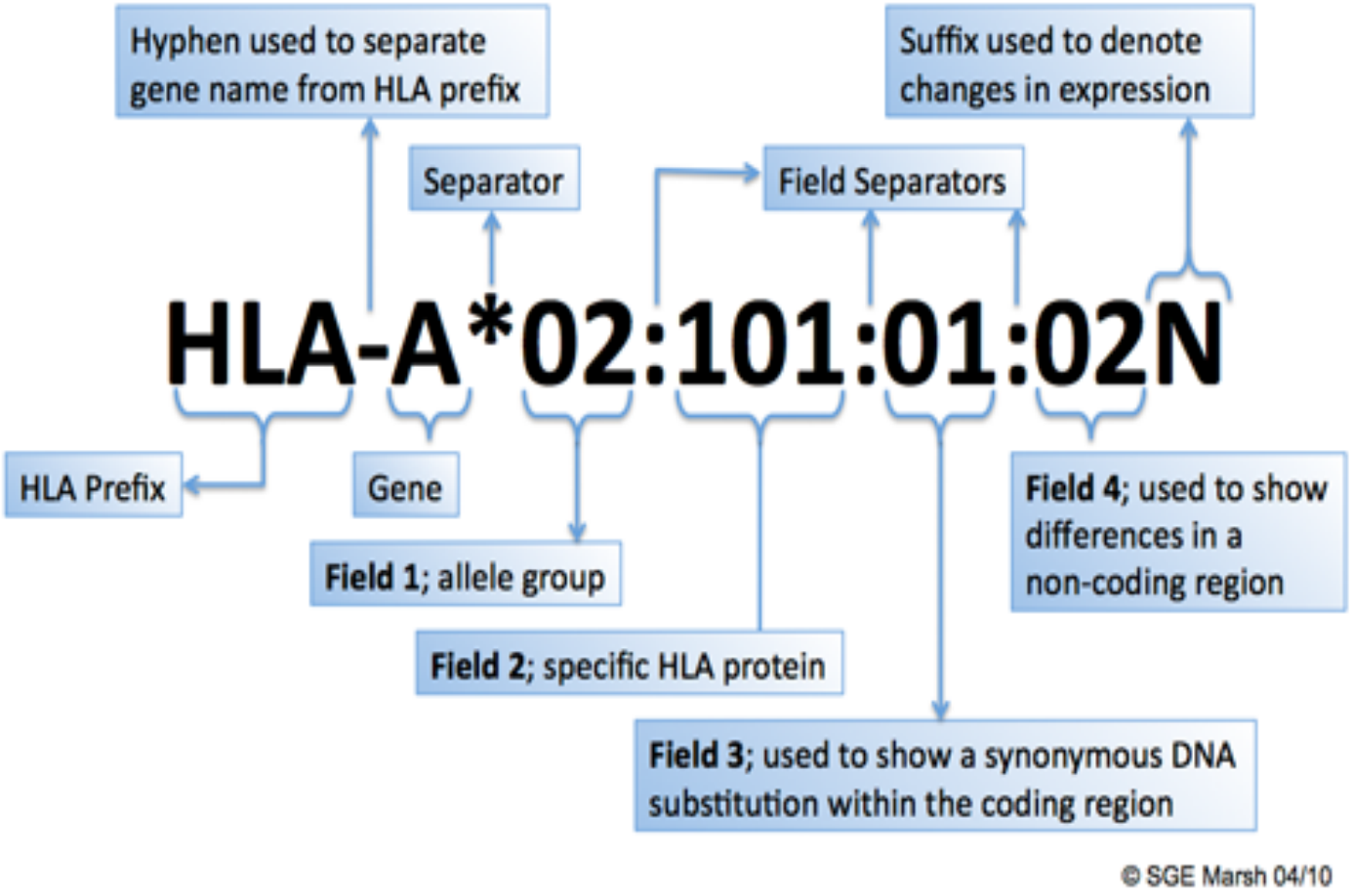


Haplotyp = en grupp gener som ligger så nära varandra att de i praktiken alltid nedärvs tillsammans – d.v.s, de genomgår inte homolog rekombinering
Avkomman ärver därför en haplotyp från varje förälder.
Eg. 4 olika möjliga kombinationer med 25% sannolikhet

HLA-nomenklatur

- HLA-klass (proteinkedjornas uppbyggnad)
  - HLA klass I (på alla kärnförande celler)
    - Grupperna A, B, C
  - HLA klass II (på APCs)
    - Grupperna DR, DQ, DP
- Inom varje grupp så anges (vid genomisk typning) antigen och allel med fyra siffror (eller fler)
  - De två första siffrorna betecknar antigenet (*allelgrupp*)
  - De följande två (eller tre) siffrorna beskriver allelen (*specifikt HLA-protein*)
    - HLA-A*02:04
      - HLA-A 02 antigenet och 04 allelen

HLA-nomenklatur



Terminologi

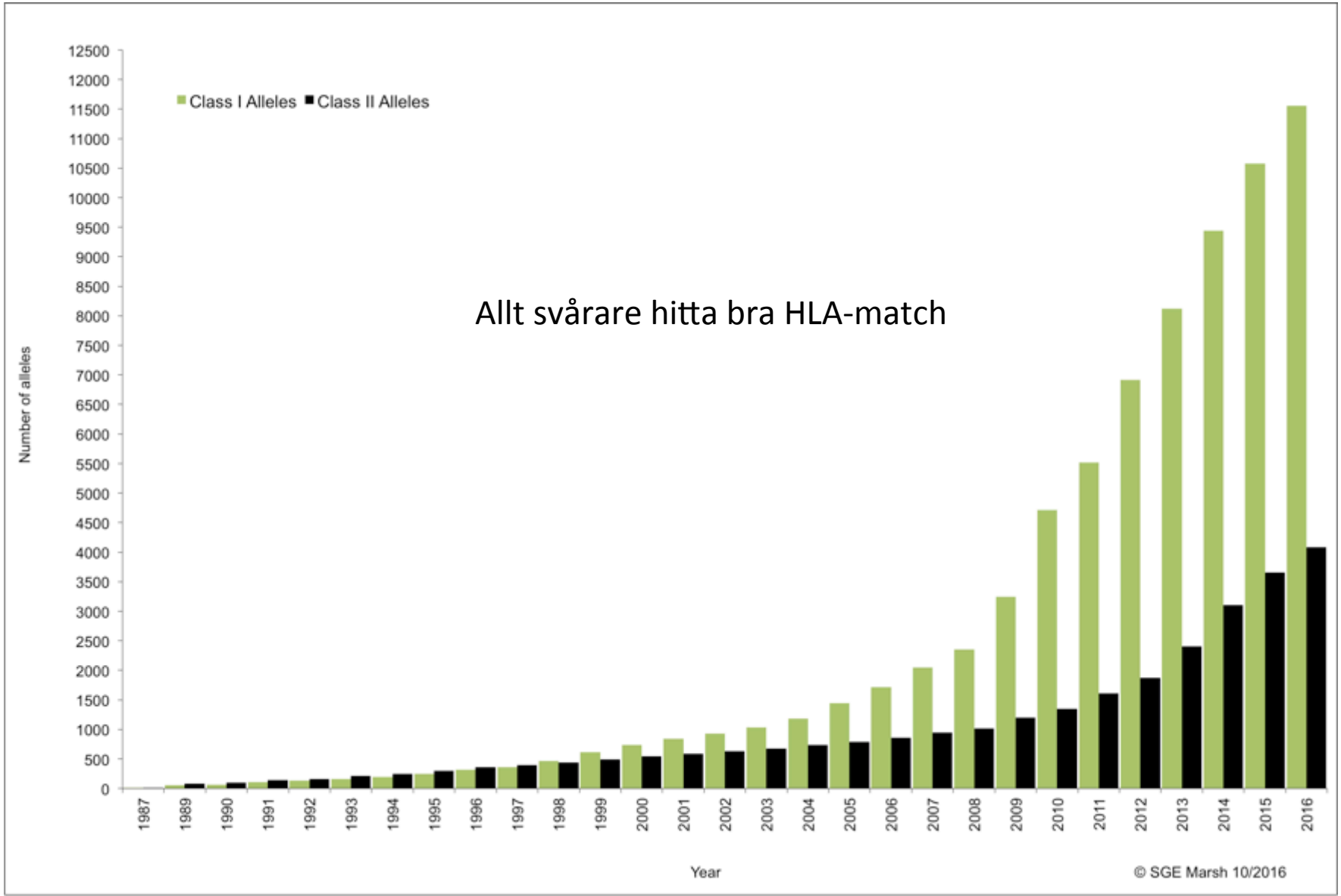
- HLA-identisk = helt lika
  - 25% sannolikhet att syskon är HLA-identiska
- Haplo-identisk = till hälften lika
  - Barn är alltid haploidentiska med sina föräldrar
  - Syskon är ofta haploidentiska

HLA antigen och alleler

2009 vs 2014

HLA	**Antigen**	**Alleler (2009)**	**Alleler (2014)**
A	28	853	2579
B	≈60	1249	3285
C	10	463	2133
DR	24	659	1512
DQA	ND	34	51
DQB	9	99	509
DPA	ND	27	37
DPB	6	135	248

HLA-alleler



Allt svårare hitta bra HLA-match

Fel ”streckkod” = främmande vävnad

Avstötning?

Riskfaktorer för akut avstötning

- DSA
  - Antikroppar mor donatorns HLA
- HLA klass I and II mismatch
- Re-transplantation
  - Upprepad mismatch
  - Immunologisk graftförlust
- Äldre donator (>50 år)
- Kvinnlig donator
- Ischemic skada (ATN)
- ”Delayed graft function” (DGF)
  - Behov av dialys efter transplantation

Immunologisk utredning och bedömning före och efter NTX

Immunologiska undersökningar inför NTx

Test	Orsak
HLA typning	Matchgrad
Blodgruppering	AB0-kompatibilitet
Korstester (XM) **Cytotoxisk XM** **FACS XM** **FC-Tox** **XM-ONE**	Immunologisk kompatibilitet
PRA **Panelreaktiva antikroppar**	Anti-HLA antikroppar

Vid korstester blandas celler från donatorn med blod från mottagaren

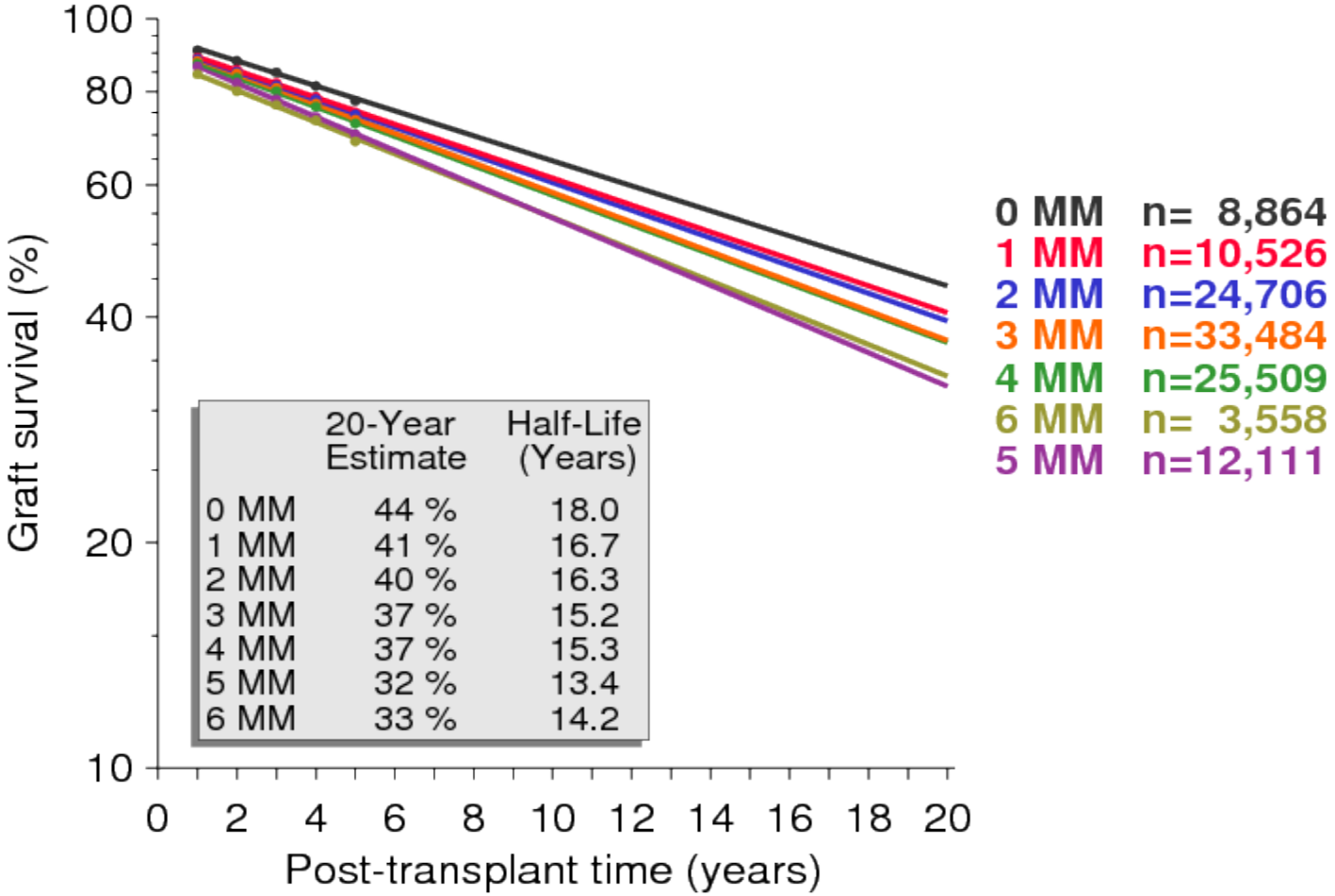
HLA-typning och matchning

HLA-typning (vävnadstypning)

- Serologisk HLA-typning
  - Äldre metod
  - Antikroppsbaserad
  - Påvisar HLA-antigen
- Genomisk HLA-typning
  - Den metod som vanligen används idag
  - PCR-baserad
  - Påvisar
    - HLA-antigen (allelgrupp)
    - Alleler (varianter av HLA-antigen, polymorfism)

HLA-A+B+DR Mismatches

Deceased Donor, First Kidney Transplants 1990-2012



	20-Year Estimate	Half-Life (Years)
0 MM	44 %	18.0
1 MM	41 %	16.7
2 MM	40 %	16.3
3 MM	37 %	15.2
4 MM	37 %	15.3
5 MM	32 %	13.4
6 MM	33 %	14.2

HLA-matchning

- LD
  - Nej (opraktiskt, onödigt)
  - LD långtidsresultat bättre jämfört HLA-matchad AD
    - Bättre njure, kortare CIT
- AD
  - Ja, enligt Scandiatransplant
  - HLA-A, -B, -DR (starka Tx-antigen)

Scandiatransplant

SCANDIA TRANSPLANT

Allokeringsregler för njurar (AD) SCTP

1. Highly immunized (**PRA ≥ 80%**) patients who are **HLA-A,-B,-DR compatible** with donor

2. Patient with **STAMP**-status when all donor HLA-A,-B,-C-DR,-DQ antigens are either shared with the recipient or are among those defined as acceptable

3. Immunized patients (**PRA ≥ 10% but below 80%**) who are **HLA,-A,-B,-DR compatible** with donor

4. If organ **donor is <40 years** of age, at least one kidney is offered to **recipient <16 years** of age (counted from time of registration), if there is HLA-DR compatibility and in addition not more than 2 HLA-A,B mismatches

Korstester

Olika korstester

- T-cells korstest
  - Anti-HLA klass I (alla kärnförande celler, viktigast)
- B-cells korstest
  - Anti-HLA klass II (APCs, mindre betydelsefullt)

- Cytotoxisk (CDC)
  - Påvisar komplementaktiverande IgG och IgM
  - Subjektiv avläsning
- Flödescytometrisk (FXM)
  - Påvisar lägre nivåer av IgG
    - FXM+ och höga nivåer med antikroppar => CDC+
  - Automatiserad, känsligare metod
  - MFI-värde (antikroppsmängd/nivå), var går gränsen till positivt?

- Fc-Tox
  - Ny metod, spar tid
  - CDC/FXM körs samtidigt

Orsak till positivt korstest

- Anti-HLA
  - Graviditet
  - Blodtransfusion
  - Transplantation
- Anti-AB0
  - AB0-inkompatibilitet (autoantikroppar)
- Icke-HLA
  - Inflammation, infektion
  - Auto-immunitet

Immuniserad patient (patient med anti-HLA antikroppar)

- Kliniska kriterier
  - Graviditet (≥3, ej nödvändigtvis fullgångna)
  - Transplantation
- PRA-positiv
  - Påvisbara anti-HLA antikroppar
    - Ej säkert riktade mot den aktuella donatorn
    - Varierar med tiden
- Blodtransfusion = immuniseringsrisk (10-20%?), bör därför (om möjligt) undvikas

PRA

Panelreaktiva antikroppar (”Panel-reactive antibodies”, PRA)

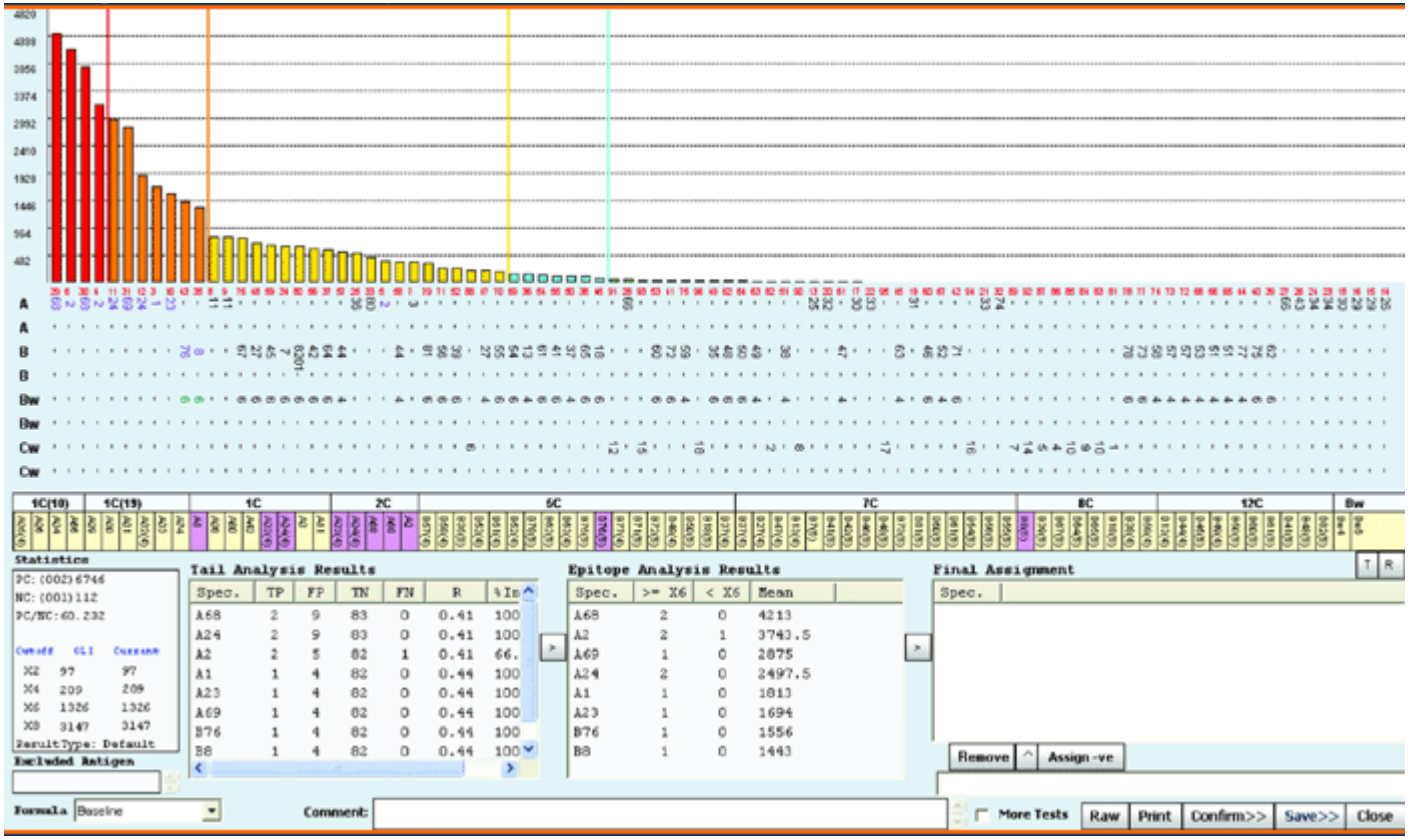
- Är patienten immuniserad?
  - Har patienten antikroppar riktade mot en panel med de vanligast förekommande HLA-antigenen?
- Idag används vanligen Flow-PRA (FACS) som är den känsligaste metoden

DSA

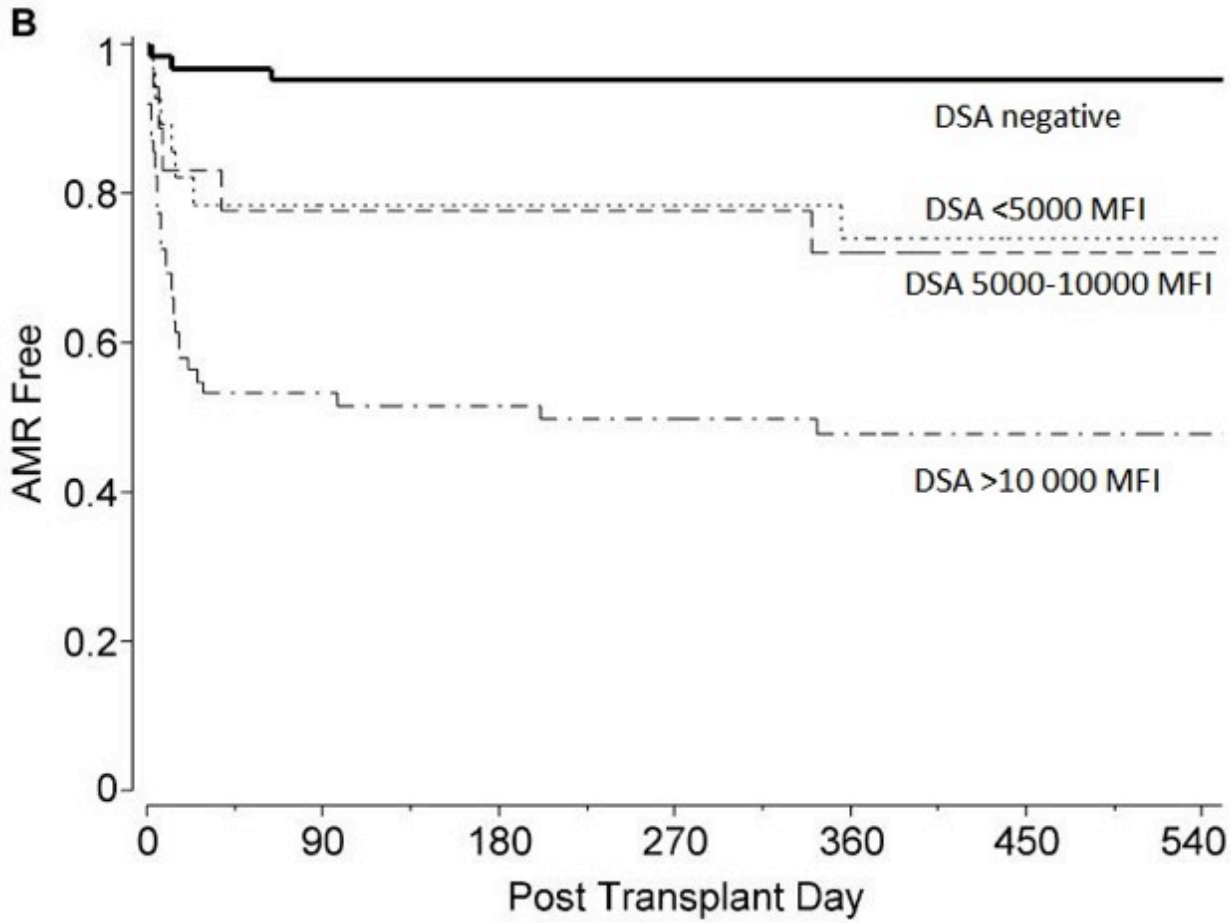
Donatorsspecifika antikroppar (DSA)

- Antikroppar riktade specifikt mot något/några av den aktuella donatorns (njurens) HLA-antigen
- Skall alltid analyseras hos immuniserade patienter
  - Kliniskt immuniserad
  - Positiv PRA
- Möjliggör bättre/säkrare immunologisk bedömning och val av donator (njure)
- ”Single antigen analys”
  - Luminex®

Resultatsammanställning vid Luminex®-analys



Pre-NTx DSA?
(och MFI)

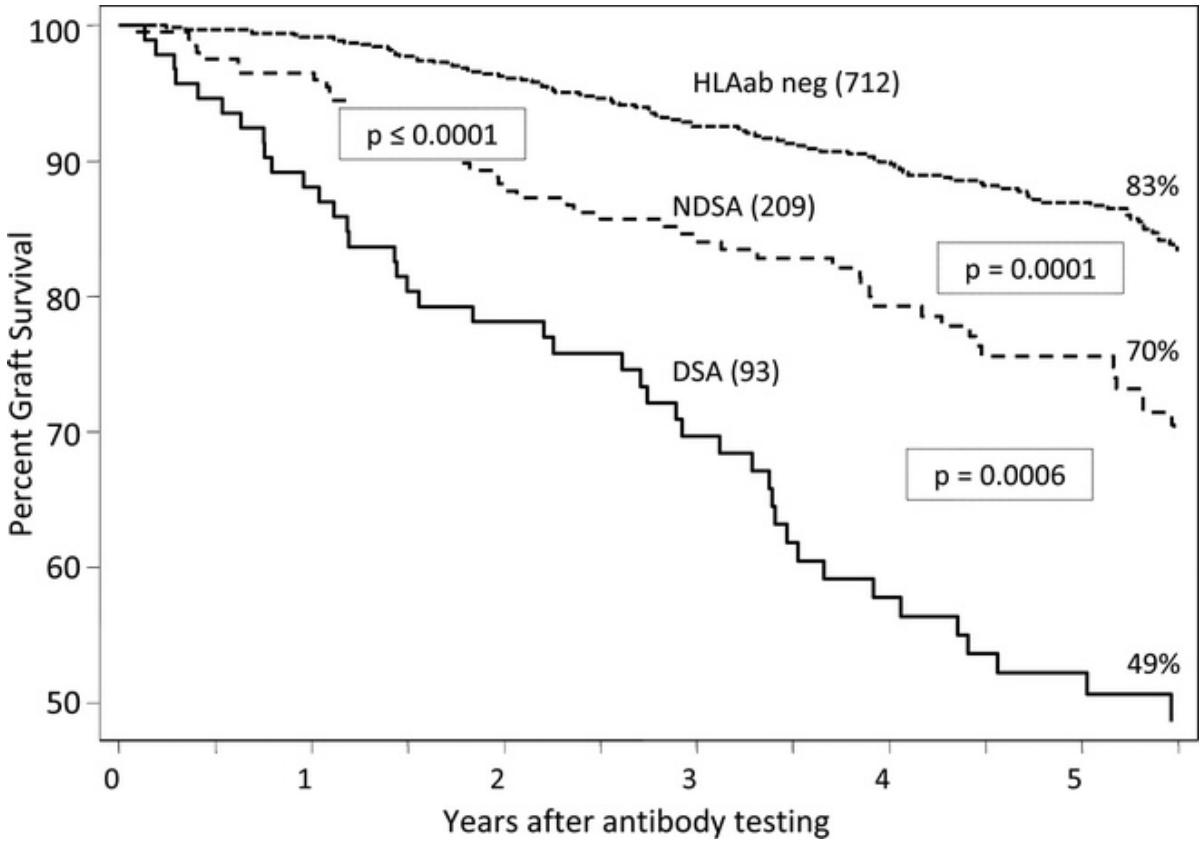


Gloor JM et al 2010 Am J Transplant

De-novo DSA?

- De-novo DSA uppkommer hos 15-27% av patienterna efter NTx
- Akut avstötning uppkommer hos 10-30% av patienterna efter NTx
- Akut avstötning förekommer både hos patienter med de-novo DSA och utan
  - Alla patienter med de-novo DSA drabbas inte av akut rejektion
- Vad är hönan och ägget?

De-novo DSA?



Inga DSA

HLA Ak (ej DSA)

DSA

FIGURE 2. Kaplan-Meier graft survival analysis. The 5.5-year graft survival of patients with donor-specific antibody (DSA), with nondonor specific human leukocyte antigen antibody (NDSA), and without HLA antibodies was 49%, 70%, and 83%, respectively.

Lachmann N, et.al. Transplantation. 2009 May 27;87(10):1505-13

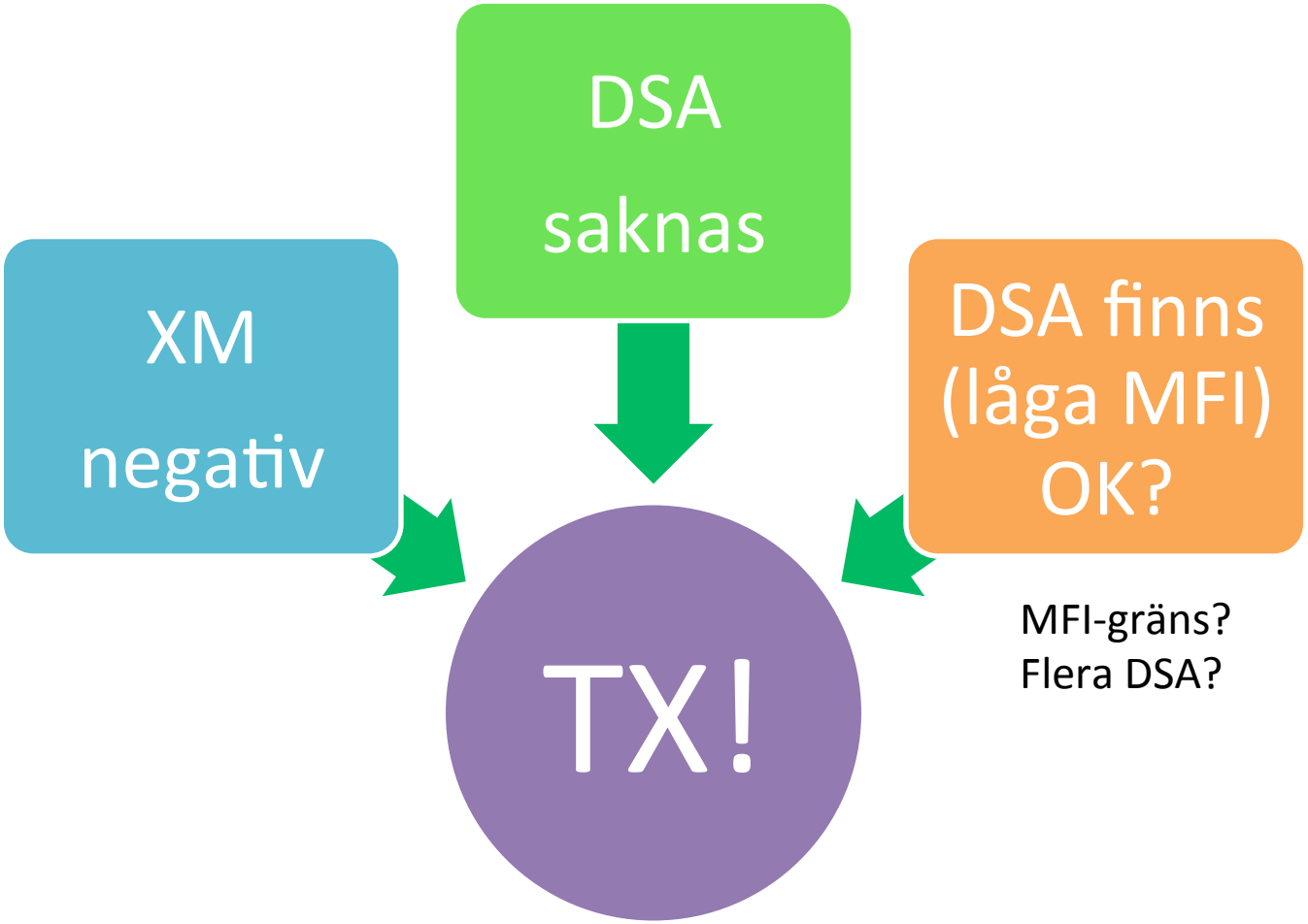
Vad göra vid DSA och positiv korstest (FXM)?

- De-sensitiserings protokoll
  - Ex plasmaferes, IVIG, rituximab
  - Transplantation kan ske
  - Dyrt, komplicerat, osäkra/tveksamma långtidsresultat
- Särskilda induktionsprotokoll
  - Eculizumab (Soliris®)
    - Komplementhämmare
    - Transplantation kan ske
    - Mycket dyrt, osäkra/tveksamma långtidsresultat
  - IdeS
    - Destruerar IgG
    - Lovande korttidsresultat
    - Dyrt?

Vad göra vid DSA och positiv korstest (FXM)?

Antikropparna kommer tillbaka

Immunologisk bedömning



MFI-gräns?
Flera DSA?

Några exempel…

Patient: A*02,03 B*15 (62) DRB1*07,15 DQB1*03:01 (DQ7)

Donator: A*01,23 B*07,44 DRB1*01,07 DQB1*02:01, 03:02 (DQ8)

Analys	Utfall	Tolkning
Autologt korstest	Negativt	Ok
T-CDC	Negativt	Ok
B-CDC	Negativt	Ok
T-FXM	Negativt	Ok
B-FXM	Negativt	Ok
Anti-HLA	Negativt	Ok
Inga immunologiska hinder för transplantation med denna donator.		

Patient: A*02,03 B*15 (62) DRB1*07,15 DQB1*03:01 (DQ7)

Donator: A*01,23 B*07,44 DRB1*01,07 DQB1*02:01, 03:02 (DQ8)

Analys	Utfall	Tolkning
Autologt korstest	Positivt	?
T-CDC	Negativt	Ok
B-CDC	Positivt	?
T-FXM	Negativt	Ok
B-FXM	Negativt	Ok
Anti-HLA	Negativt	Ok
Inga immunologiska hinder för en transplantation med denna donator. Upprepad analys i närvaro av DTT eller Pronase.		

Patient: A*02,03 B*15 (62) DRB1*07,15 DQB1*03:01 (DQ7)

Donator: A*01,23 B*07,44 DRB1*01,07 DQB1*02:01, 03:02 (DQ8)

Analys	Utfall	Tolkning
Autologt korstest	Negativt	Ok
T-CDC	Negativt	Ok
B-CDC	Negativt	Ingen komplementbindning
T-FXM	Negativt	Ok
B-FXM	Positivt	OBS!!!
Anti-HLA	Anti-DQ2 (MFI 7200)	OBS!!!
DSA mot HLA-klass II antikroppar. Påvisabar anti-DQ2. Transplantation????		

Patient: A*02,03 B*15 (62) DRB1*07,15 DQB1*03:01 (DQ7)

Donator: A*01,23 B*07,44 DRB1*01,07 DQB1*02:01, 03:02 (DQ8)

Analys	Utfall	Tolkning
Autologt korstest	Negativt	Ok
T-CDC	Negativt	Ok
B-CDC	Positivt	OBS!!!
T-FXM	Positivt	OBS!!!
B-FXM	Positivt	OBS!!!
Anti-HLA	Anti-B44 (MFI 3800) Anti-DQ8 (MFI 12000)	OBS!!!
DSA mot både HLA-klass I och II. Påvisbara anti-B44 och anti-DQ8. Ett högt MFI-värde, ett lägre. Transplantation högst tveksam????		

Patient: A*02,03 B*15 (62) DRB1*07,15 DQB1*03:01 (DQ7)

Donator: A*01,23 B*07,44 DRB1*01,07 DQB1*02:01, 03:02 (DQ8)

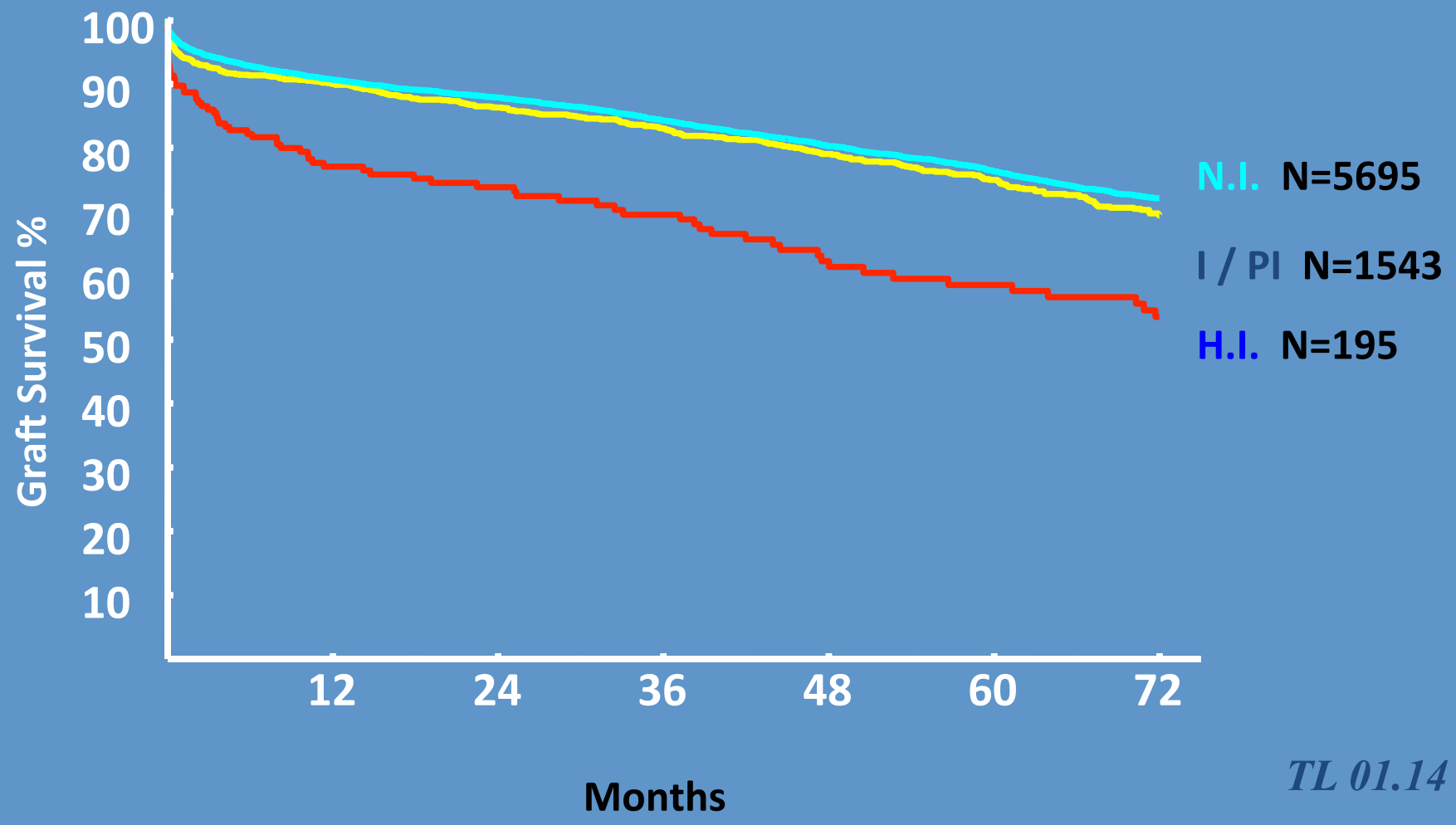
Analys	Utfall	Tolkning
Autologt korstest	Negativt	Ok
T-CDC	Positivt	OBS!!!
B-CDC	Positivt	OBS!!!
T-FXM	Positivt	OBS!!!
B-FXM	Positivt	OBS!!!
Anti-HLA	Anti-B44 (MFI 9800) Anti-DQ8 (MFI 12000) Anti-A23 (MFI 11700)	OBS!!!
DSA mot både HLA-klass I och II. Påvisbara anti-B44, anti-DQ8 och anti-A23. Samtliga höga MFI-värden Transplantation utesluten		

Rätt njure?

- Bra (ung) donator
- Inga DSA
- Negativa korstester
- (Väl matchad)
- Fullgod immunosuppression

- LD i första hand
  - STEP?
    - DSA+ och pos XM => DSA- och negativ XM
- AD
  - STAMP?
    - DSA+ och pos XM => DSA- och negativ XM

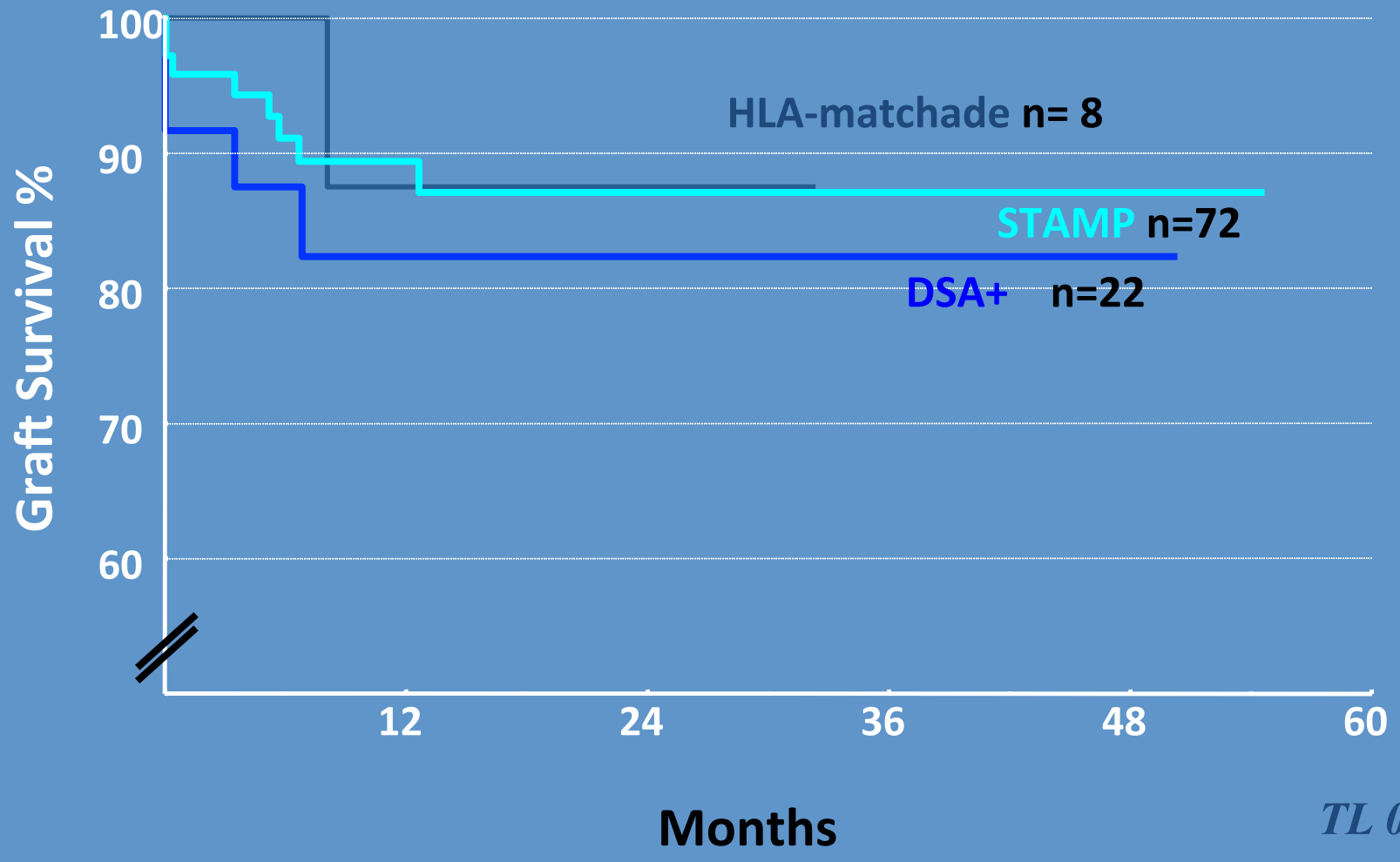
Survival of DD renal grafts by immunization status: SCTP 1995-2006



TL 01.14

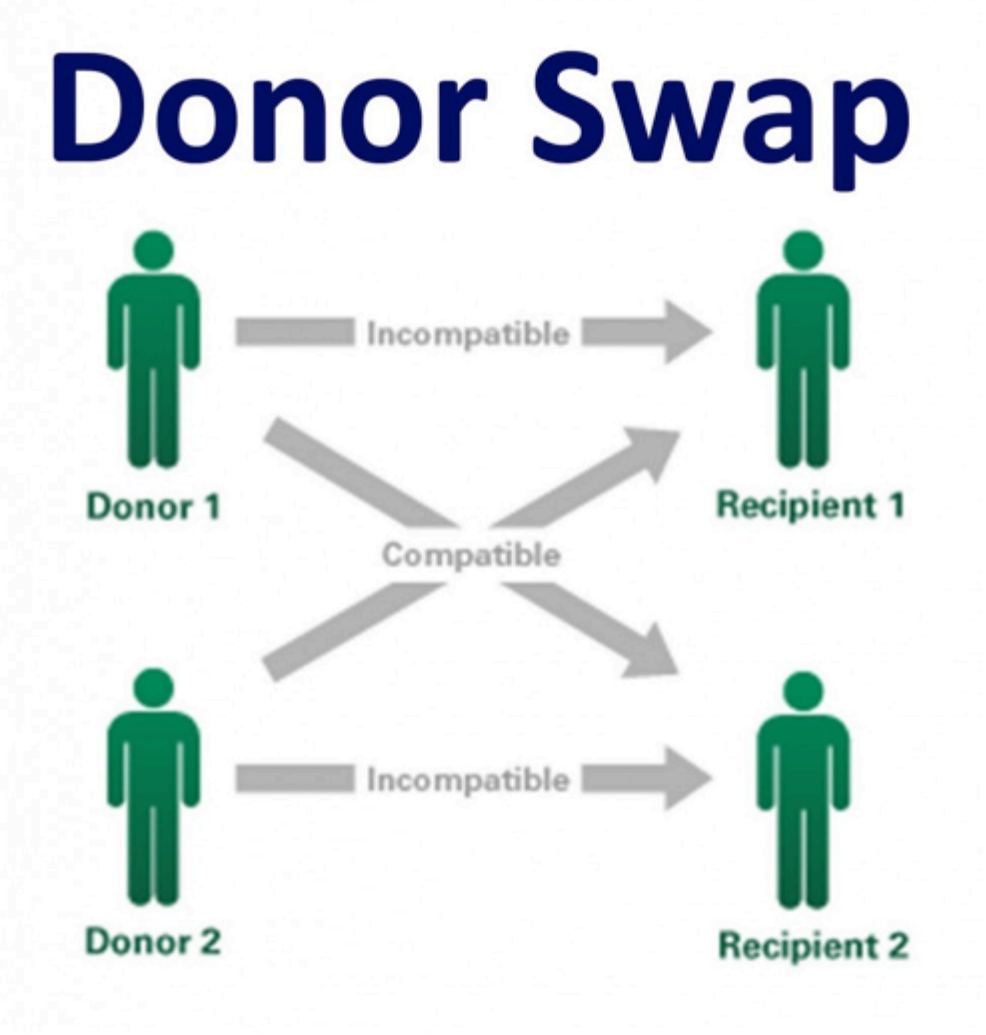
Renal graft survival in STAMP and in DSA+ patients: SCTP 2009 - 2013

STAMP = rätt njure (AD), inga DSA



TL 01.14

STEP: Korsbyte (2-vägs byte, LD)



STEP: Njurbytesprogram i SCTP

KAROLINSKA UNIVERSITETSSJUKHUSET

REGION SKÅNE

SCANDIA TRANSPLANT

LUNDS UNIVERSITET

VÄSTRA GÖTALANDSREGIONEN
SAHLGRENSKA UNIVERSITETSSJUKHUSET

AKADEMISKA SJUKHUSET

The New York Times

30 NTx 2012

L Wennberg

From The New York Times article: 60 lives, 30 kidneys, all linked 18/02/12