

(119)

Dobór dawców do przeszczepów rąbkowych komórek macierzystych od spokrewnionego dawcy rodzinnego na podstawie typowania zgodności HLA klasy I

HLA class I-matching in limbal stem cell transplantation from living related donors

Edward Wylęgała¹, Urszula Siekiera², Dorota Tarnawska¹,
Bogusława Orzechowska-Wylęgała¹

¹Z Oddziału Okulistyki Okręgowego Szpitala Kolejowego w Katowicach

Ordynator: dr n. med. Edward Wylęgała

²Z Regionalnego Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Katowicach

Pracownia Immunogenetyki Układu HLA

Kierownik: dr n. przyr. Urszula Siekiera

Summary: The cornea is an immune privileged site, but failure of corneal limbal stem cells is the cause of vascularisation, increasing the risk of immune response activity. The outcome after conjunctival limbal stem cells transplantation depends mainly on HLA system compatibility. HLA class I typing is one of the important factors considered in donor / recipient pair matching. The aim of our study was the analysis of post transplant period in 16 related donor / recipient pairs after limbal stem cells transplantation. We conclude that HLA class I and other immunogenetic factors compatibility (inside and out of the HLA region), may play the role in effective treatment.

Słowa kluczowe: komórki macierzyste rąbka i typowanie HLA.

Key words: Limbal stem cells transplantation, HLA typing.

Rogówka jest uprzywilejowaną tkanką używaną w transplantologii, ponieważ jest immunologicznie neutralna. Niewydolność rąbkowych komórek macierzystych (RKM) wiedzie do unaczynienia powierzchni rogówki, co w znacznym stopniu zwiększa ryzyko interakcji pomiędzy przeszczepianymi komórkami dawcy a komórkami docelowymi biorcy (11). Kaskada reakcji immunologicznych po dokonanej transplantacji uwarunkowana jest w znacznej mierze dopasowaniem w obrębie głównego kompleksu zgodności tkankowej (MHC).

Typowanie zgodności tkankowej HLA klasy I przy przeszczepach RKM jest zalecane przez wielu autorów (1,2,8,9,11). Nie znaleźliśmy pracy, która szczegółowo opisuje zasady kwalifikacji i doboru na podstawie własnego materiału klinicznego.

Celem pracy jest przedstawienie zasad doboru dawców RKM na podstawie typowania układu zgodności tkankowej HLA klasy I.

Materiał i metody

Przedmiotem badań było 16 par spokrewnionych dawca – biorca RKM. W ośmiu przypadkach dawcami były matki, w czterech –

ojcowie, w dwóch – bracia oraz w dwóch – synowie. Średni wiek dawców wynosił 47,5 roku (od 35 do 52).

Kliniczne kryteria kwalifikacji dawcy obejmowały stan narządu wzroku oraz wykonanie badań w kierunku obecności patogenów krwi (HBs, HCV, HIV) i zostały przedstawione w innej pracy (11).

Typowanie zgodności tkankowej wykonywano metodami serologicznymi i biomolekularnymi. W obu przypadkach z krwi obwodowej izolowano zawiesinę leukocytną, która stanowiła źródło komórek wykorzystywanych w teście limfocytotoksycznym, jak również była źródłem genomowego DNA. DNA izolowano, stosując nieorganiczną metodę wysalania 6M NaCl. Produkty PCR wizualizowano w świetle UV po rozdziale elektroforetycznym.

Wyniki

Wynik badania molekularnego przedstawia rycina 1.

Przykłady wyników typowania tkankowego przedstawia tabela I.

Idealna zgodność wystąpiła u jednej pary (rodzeństwo), jedna niezgodność dotyczyła pięciu par (syn/ córka – dwie pary, syn/ mat-

Identyfikacja pary Biorca /Dawca Recipient/Donor pair ID	Członek rodziny Family members	HLA-A	HLA-B	HLA-C
DJ biorca / recipient * DF dawca / donor	rodzeństwo sibling	A1, A24 A1, A24	B15, B27 B15, B27	Cw1, Cw7 Cw1, Cw7
Ch J biorca /recipient** SZW dawca/ donor	doter father	A2, A11 A2, A11	B40, B40 B40, B22	Cw2, Cw3 Cw2, Cw3
NA biorca /recipient *** NJ dawca / donor	mother son	A3, A24 A3, A24	B13, B27 B13, B18	Cw6, Cw2 Cw6, Cw6

Tab. I. Przykład doboru dawca /biorca przed przeszczepem rąbkowych komórek macierzystych.

Tab.I. Exemplary matching donor / recipient pairs before limbal stem cells transplantation.

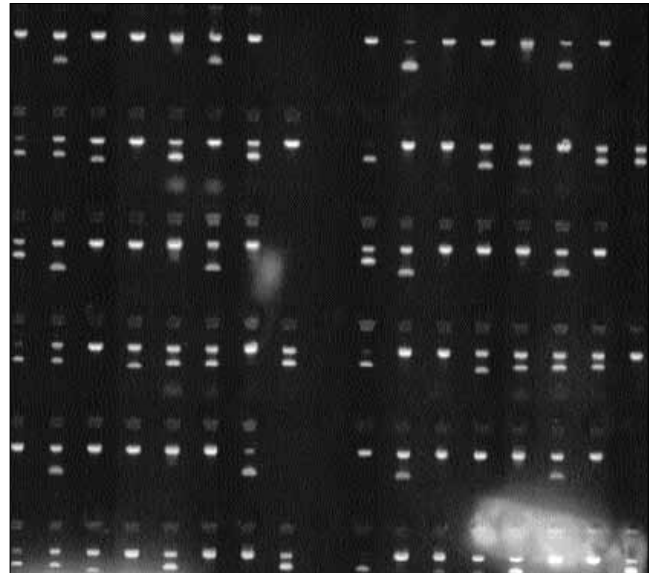
- * para dawca /biorca zgodność w układzie HLA
- * recipient / donor pair HLA compatibility
- ** para dawca biorca niezgodność HLA-B
- ** recipient / donor pair HLA-B mismatch
- *** para dawca biorca niezgodność HLA-B, HLA-C
- *** recipient / donor pair HLA-B, HLA-C mismatches

ka – trzy pary), dwie niezgodności dotyczyły siedmiu par (syn/ matka – trzy pary, córka/ matka – cztery pary), trzy niezgodności dotyczyły trzech par (rodzeństwo, matka/ córka, syn/ ojciec).

Dyskusja

Większość autorów jest zgodnych co do konieczności typowania układu zgodności tkankowej HLA w klasie I przy doborze optymalnej pary dawca/ biorca RKM. Kwitko i wsp. jako pierwsi opisali procedurę przeszczepu RKM od dawców spokrewnionych, chociaż nie wykonywali doboru dawców według kryteriów zgodności tkankowej (3). Autorzy ci wykonali takie badania retrospektywne, które wykazały, że pary dawcy/ biorcy różniły się pod względem układu HLA klasa I. Podobnie Tan i wsp. nie wykonywali typowania tkankowego (6). Rao i wsp. w przypadku bliskiego spokrewnienia (rodzic/ dziecko) nie wykonywali typowania tkankowego, ponieważ z modelu dziedziczenia układu zgodności tkankowej HLA wynika, że w tej relacji dawca oraz biorca są haploidentyczni, to znaczy mają jeden wspólny haplotyp HLA (4). Grupa autorów amerykańskich wskazuje na pomocną rolę typowania dawców rogówek w zakresie grup krwi ABO, natomiast bez znaczenia jest typowanie HLA klasa I. Nie odnosi się to do tkanki unaczynionej, jak ma to miejsce przy przeszczepach RKM (1). W przedstawionej pracy wszyscy kwalifikowani dawcy i biorcy poddawani byli typowaniu, ponieważ celem autorów było rzetelne oszacowanie zgodności oraz różnic w obrębie HLA. Zachowanie genomowego DNA posłużyło poszerzeniu analizy immunogenetycznej par dawca/ biorca w korelacji z odległymi wynikami przeżywalności przeszczepionych komórek. Jest to zgodne z badaniami niektórych autorów, wskazującymi na konieczność identyfikacji dodatkowych cech immunogenetycznych pozwalających na wskazanie czynników ryzyka możliwości wystąpienia klinicznego niepowodzenia.

Zespół genów stanowiący główny kompleks zgodności tkankowej, zlokalizowany na krótszym ramieniu szóstej pary chromosomów homologicznych (6p213), cechuje wysoki polimorfizm. Dlatego trudno jest o dobór w pełni zgodnych par. W naszym materiale taki przypadek wystąpił tylko raz i dotyczył rodzeństwa. W większości analizowane pary pozostawały w relacji rodzic – potomstwo, która w konsekwencji jest zgodnością dotyczącą jednego haplotypu HLA (tab. I). Tsubota



Ryc.1. Przykładowy żel przedstawiający wzór amplifikacji dla układu HLA klasy I.

Fig.1. Exemplary gel with amplification pattern for HLA class I.

i wsp. u populacji japońskiej nie wykonywali typowania ze względu na wysoki stopień homogenności cech układu HLA, czego nie można odnieść do populacji polskiej (7). Volker-Dieben i wsp. zwracają uwagę na konieczność typowania zarówno w zakresie klasy I, jak i II przy przeszczepach rogówki, jak to określają, wysokiego ryzyka wystąpienia odrzutu (9,10). Podobnie Sundmacher i wsp. zwracają uwagę na istotną rolę typowania zgodności tkankowej HLA mogącego zwiększyć szansę przeżycia przeszczepów RKM (5).

Szczegółowa analiza regionów genetycznych kodujących struktury kreujące odpowiedź immunologiczną, jak również odgrywające istotną rolę w modulowaniu jej nasilenia wydaje się bardzo ważnym czynnikiem prognostycznym pozwalającym na zwiększenie szansy powodzenia klinicznego przeszczepów RKM.

Wniossek

Typowanie układu HLA klasy I jest jednym z istotnych elementów kwalifikacji dawców do przeszczepów RKM.

PIŚMIENNICTWO: 1. *The collaborative corneal transplantation studies (CCTS). Effectiveness of histocompatibility matching in high risk corneal transplantation.* The Collaborative Corneal Transplantation

Studies Research Group. Arch. Ophthalmol., 1992, Oct., 110 (10), 1392-403. 2. Daya S. M., Ilari F. A.: *Living related conjunctival limbal allograft for the treatment of stem cell deficiency*. Ophthalmology, 2001, Jan., 108 (1), 126-33, discussion 133-134. 3. Kwitko S., Marinho D., Barcaro S., Boccacio F., Rymer S., Fernandes S., Neuman J.: *Allograft conjunctival transplantation for bilateral ocular surface disorders*. Ophthalmology, 1995, 102 (7), 1020-1025. 4. Rao S. K., Rajagopal R., Sitalakshami G., Padmanabham P.: *Limbal allografting from related live donors for corneal surface reconstruction*. Ophthalmology, 1999, Apr., 106 (4), 822-828. 5. Sundmacher R.: *A clinician's outlook on HLA matching for keratoplasty*. Dev. Ophthalmol., 2003, 36, 89-97. 6. Tan D. T., Ficker L. A., Buckley R. J.: *Limbal transplantation*. Ophthalmology, 1996, Jan., 103 (1), 29-36. 7. Tsubota K., Shimazaki J.: *Surgical treatment of children blinded by Stevens-Johnson syndrome*. Am. J. Ophthalmology, 1999, Nov., 128 (5), 573-

581. 8. Ventura A. C., Bohnke M., Loliger C., Kuhn P., Winter R., Engelman K.: *HLA typing of donor corneas with extended post mortem time*. Ophtalmologe, 1996, Jun., 93 (3), 262-267. 9. Volker-Dieben H. J., Kok-van-Alpen C. C., D' Amaro J., de Lange P.: *The effect of prospective HLA-A and B matching in 288 penetrating keratoplasties for herpes simplex keratitis*. Acta Ophthalmol. (Copenh.), 1984, Aug., 62 (4), 513-523. 10. Volker-Dieben H. J., Schreuder G. M., Class F. H., Doxiadis I. I., Schipper R. F., Pels E., Persijn G. G., Smits J., D' Amaro J.: *Histocompatibility and corneal transplantation*. Dev. Ophthalmol., 2003, 36, 22-41. 11. Wylęgała E., Tarnawska D., Wróblewska E.: *Przeszczepy rąbkowych komórek macierzystych od zgodnych pod względem HLA dawców rodzinnych. Obserwacja długoterminowa*. Klin Oczna, 2003, 105 (6), 378-383.

Praca wpłynęła 16.04.2004 (548)

Adres do korespondencji (Reprint requests to):

Dr n. med. Edward Wylęgała
Okręgowy Szpital Kolejowy
ul. Panewicka 65
40-765 Katowice