

Elundisiirdamine ja koesobivus: teekond esimestest analüüsidesest tänapäevase diagnostikani

Elundisiirdamine on eriline meditsiiniline protseduur, mis ei piirdu üksnes kirurgilise sekkumisega, vaid hõlmab samaaegselt immunoloogiat, intensiivravi, eetilisi kaalutlusi, logistikat ja ajakriitilist otsustusprotsessi. Selle eesmärk on asendada patsiendi kahjustunud elund terve doonorelundiga.



Kaie Lokk
vanemlaborispetsialist
immuunanalüüsi osakond
SA Tartu Ülikooli
Kliinikumi ühendlabor

Elundisiirdamise edukus sõltub tihedast meeskonnatööst, kus üks osapool ei saa toimida teiseta. Laboril on selles protsessis oluline roll, kuna õiged analüüsid ja täpsed diagnostilised tulemused on kriitilise tähtsusega, et hinnata doonori ja retsiipiendi sobivust. Paralleelselt meditsiiniliste tehnoloogiate arenguga on ka laboridiagnostika arenenud ning kujunenud süsteemiks, mis vastab rahvusvahelistele standarditele ja toetab siirdamisi kõrgel tasemel.

Elundisiirdamise ja koesobivuslabori kujunemine

Esimene elundisiirdamine Eestis tehti 1968. aastal Tartu ülikooli kliinikumis, kui prof A. Linkberg, dr K. Pöder ning dr E. Tünder siirdasid esimest korda doonorneeru¹. Juba järgmisel aastal ilmus rahvusvahelises ajakirjas publikatsioon ristsobivustesti olulisusest neerusiirdamisel², kuid Eestis jätkusid siirdamised veel aastaid ilma koesobivuslabori toeta. Vajadus täpse laboridiagnostika järele sai aga üha ilmsemaks, eriti seoses autoloogsete luuüdi tüvirakkude

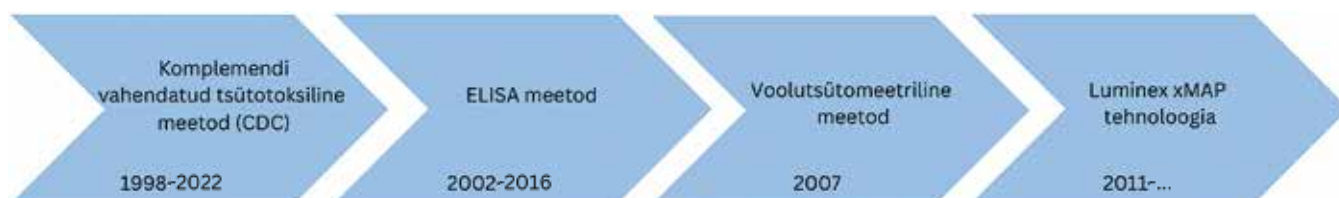


Praegune ühendlabori juht Anu Tamm ja üks koesobivuslabori loojatest Astra Västriku puhkehetkel Puusepa 1 laboris.

siirdamisega prof Hele Everausi juhtimisel. 1988. aastal oli alustanud haiglas tööd AIDS-i labor, millest 1994. aastaks kujunes koostöös hematoloogide ja neerusiirdajatega koesobivuslabor. Selle rajamisel ja käivitamisel oli keskne roll

dr Miia Sultsmannil, dr Aleksander Lõhmusel, dr Peeter Dmitrievil ning laborispetsialist Astra Västrikul.

30 aasta jooksul on koesobivuslaboris toimunud märkimisväärne areng. Esimeste katsetuste kohta on info säilinud



Joonis 1. HLA-vastaste antikehade analüüsimetodid koosobivuslaboris läbi aja.

vaid kaustikutes. Tööd alustati kõige olulisemast: patsientide ja doonorite koosobivusantigeenide (HLA) tüpiseerimisest ning ristsobivustestide tegemisest. Paari esimese aasta jooksul oli ainsaks HLA tüpiseerimise meetodiks seroloogiline meetod ehk teadaolevaid HLA antikehi sisaldavate seerumite kasutamine HLA tüübi määramisel.

1990. aastate lõpus alustati katsetustega HLA-d tüpiseerida molekulaarsetel meetoditel ning 2000. aastate keskkel oli see kasutusel juba rutiintöös seroloogilise meetodi kõrval. Aja jooksul on molekulaarsed meetodid muutunud valdavaks, võimaldades määrata HLA geenikomplekti oluliselt suurema täpsuse ja lahutusvõimega. Seroloogilised meetodid on tänapäeval suures osas asendunud molekulaarsete tehnikatega ning neid kasutatakse vaid piiratud ulatuses, peamiselt täiendava meetodina või üksikutes laborites.

Aastakümnete jooksul on elundisiirdamist ootavate patsientide HLA-vastaste antikehade hindamiseks kasutatavad meetodid märkimisväärselt arenenud ja nende tundlikkus ning täpsus suurenenud. Lisaks seroloogilistele meetoditele on kasutusel olnud nii ELISA-meetodil kui ka voolutsütomeetriaal

meetriaal põhinevad analüüsid (joonis 1). Aja jooksul on meetodite valik muutunud ning tänapäeval kasutatakse peamiselt neid, mis on osutunud kliiniliselt kõige informatiivsemateks ja usaldusväärsemateks.

Patsiendi teekond ootelehele

Iga siirdamist vajava patsiendi teekond ootelehele algab esmaste ootelehe uuringutega. Selle käigus teostatakse kõrglahutusega HLA tüpiseerimine uue põlvkonna sekveneerimise (NGS) meetodil ning Luminex xMAP tehnoloogia abil määratakse, milliste HLA antigeenide vastu antikehad on suunatud. Seejärel korratakse analüüsi teisest vereproovist, mis peab olema võetud eraldi verevõtul, eelistatult erineval päeval.

Kordusanalüüside käigus teostatakse madallahutusega HLA tüpiseerimine reaalaaja PCR-meetodil, määratakse taas kord HLA-vastased antikehad Luminex tehnoloogia abil ning tehakse auto loogne tsütotoksiline ristsobivustest IgM-tüüpi antikehade tuvastamiseks.

Kordusanalüüside eesmärk on kindlitada, et mõlemad proovid pärinevad samalt patsiendilt ning saadud tulemused on omavahel kooskõlas. Kuna inimene HLA geenikomplekt ei muutu

elu jooksul, määratakse see põhjalikult ootelehele kandmise hetkel ning seda kasutatakse kõigi järgnevate koosobivusanalüüside alusena.

HLA-vastaste antikehade dünaamika ja jälgimine

Pärast ootelehele kandmist jääb patsient ootama sobiva doonori leidmist. HLA-vastased antikehad muutuvad ajas ning nende tase ja tugevus võivad oluliselt erineda ootelehele kandmise hetkest kuni sobiva doonori leidmiseni. HLA-vastaste antikehade teket ja muutusi põhjustavad enamasti vereülekanDED, rasedused ning varasemad siirdamised. Nende tulemusel võivad tekkida antikehad inimese enda immuunsüsteemile võõraste koosobivusantigeenide vastu³.

Seetõttu on oluline, et ootelehel olevatel patsientidel jälgitaks regulaarselt HLA-vastaseid antikehi. Kehtivate põhimõtete järgi tehakse seda iga kolme kuu järel ning antikehade esinemisel määratakse ka, milliste HLA antigeenide vastu on need suunatud⁴. Antikehade profiili regulaarne jälgimine võimaldab hinnata patsiendi sensibilsuse taset ning on oluline sobiva doonori valikul ja ristsobivuse hindamisel.

Doonorid ja töökorraldus laboris

Eestis kasutatakse doonorelundite saamiseks nii elusdoonoreid kui ka ajusurmas doonoreid. Mõlema doonoritüübi koosobivusanalüüsid on sisuliselt samad. Erinevus seisneb peamiselt töökorralduses: elusdoonoriga siirdamine on plaaniline operatsioon ning vajalikud analüüsid tehakse rutiintöö käigus.

Ajusurmas doonorite puhul, kes jõuavad siirdamiskoordinaatorite vaatevälja enamasti erakorraliselt, on vajalik



Aastakümnete jooksul on elundisiirdamist ootavate patsientide HLA-vastaste antikehade hindamiseks kasutatavad meetodid märkimisväärselt arenenud ja nende tundlikkus ning täpsus on suurenenud. Lisaks seroloogilistele meetoditele on kasutusel olnud nii ELISA-meetodil kui ka voolutsütomeetriaal põhinevad analüüsid.

ka laboripoolne kiire reageerimine, vajadusel väljaspool tavapärast tööaega. Selleks on laboris korraldatud valveringid: esimene valvering vastutab doonori HLA tüpiseerimise eest ning teine doonori ja retsiptendi vaheliste sobivusanalüüside ehk ristsobivustesti eest.

Doonori ja retsiptendi sobivuse hindamine

Doonori ja retsiptendi sobivuse hindamisel arvestatakse mitmeid tegureid, millest üks olulisemaid on nende HLA geenikomplekti sarnasus. Selle hindamiseks määratakse kõikidel doonoritel madalresolutsioonil reaalaaja PCR-metodil HLA ning saadud tulemusi võrreldakse ootelehel olevate patsientide HLA andmetega. Parima kokkusobivusega patsiendid valitakse välja edasisteks sobivusanalüüsideks, mille käigus tehakse ristsobivustest, mis võimaldab hinnata iga doonori ja retsiptendi paari immunoloogilist riski.

Tsütotoksiline komplemendist sõltuv ristsobivustest on olnud maailmas kasutusel kuldstandardina alates 1960. aastatest. Meetodi käigus kasutatakse doonori lümfotsüüte ja retsiptendi vereseerumit, et tuvastada retsiptendil esinevad doonorspetsiifilised tsütotoksilised antikehad (joonised 2, 3). Positiivne tulemus viitab kõrgele hüperakuutse äratõukereaktsiooni riskile ning on siirdamise vastunäidustuseks².

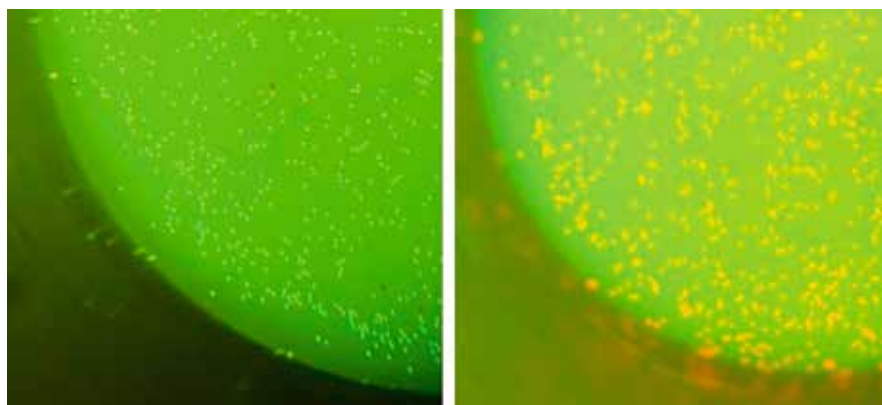
Lisaks tehakse igale doonori ja retsiptendi paarile ka virtuaalne ristsobivustest. Selle käigus võrreldakse patsiendil varasemalt tuvastatud HLA-vastaste antikehade spetsiifikat konkreetse doonori HLA antigeenidega. Ka juhul, kui tegemist ei ole tsütotoksiliste antikehadega, võib iga doonorspetsiifiline antikeha kujutada endast immunoloogilist riski ning viia hilisema humoraalse äratõukereaktsioonini⁵.

Kvaliteedisüsteem ja rahvusvaheline koostöö

Koesobivusanalüüside usaldusväärsuse tagamine on elundisiirdamise seisukohalt äärmiselt oluline. Euroopa Immunogeneetika Föderatsioon (European Federation for Immunogenetics, EFI)



Joonis 2. Tsütotoksiline ristsobivustest viiakse läbi spetsiaalsel Terasaki plaatidel ning pipeteerimiseks kasutatakse Hamiltoni dispenserit täpse ja korduva doseerimise tagamiseks.



Elusad rakud
↓
Negatiivne

Surnud rakud
↓
Positiivne

Joonis 3. Tsütotoksilise komplemendist sõltuva ristsobivustesti tulemus invertteeritud fluorestsentsmikroskoobis. Elusad rakud visualiseeruvad tänu fluorestseeruvale värvile rohelisena. Tsütotoksiliste doonorspetsiifiliste antikehade esinemisel patsiendi vereseerumis toimub antikehade vahendatud rakulüüs ning surnud rakud värvuvad oranžiks. Positiivne tulemus on siirdamise vastunäidustuseks.

on organisatsioon, mis tegeleb immunogeneetika ja koesobivuse diagnostikaga seotud laborite kvaliteedistandardite arendamise ja akrediteerimisega⁶. EFI sertifikaadi saamiseks peavad laborid vastama mitmes valdkonnas, sealhulgas personali omas, kvalifikatsioonile, kvaliteedisüsteemile, laboriprotseduuride juhenditele ning elundite siirdamiseks tehtavatele analüüsidele kehtestatud nõuetele. Akrediteerimisprotsessi osaks on regulaarsed inspeksioonid – kaks järjestikust aastat hinnatakse labori tööd ainult dokumentatsiooni põhjal ning kolmandal aastal

külastavad laborit kaks rahvusvahelist inspektorit, et kontrollida dokumentatsiooni põhjalikumalt ning hinnata töö praktilist toimimist EFI standardite järgi. Meie koesobivuslaborile omistati EFI sertifikaat 2011. aastal, mis võimaldas teha järgmise sammu rahvusvahelise elundivahetusorganisatsiooniga Scandiatransplant liitumise suunas.

Alates 1. oktoobrist 2017 töötab meie labor igapäevaselt Scandiatransplanti liikmena. See organisatsioon hõlmab lisaks Eestile veel Soomet, Rootsit, Norrat, Taanit ja Islandit⁷. Liikmeks olemise aastate jooksul (2017–2025)



Laborant Jane Urb.



Rahvusvaheline elundivahetus on eriti oluline patsientidele, kes vajavad erakorralist siirdamist, sest suurem doonorite valik võimaldab leida sobivama elundi oluliselt kiiremini kui ainult Eesti doonorite hulgast. Eriti keeruline võib olla leida immunoloogiliselt sobivat neerusiirikut patsientidele, kes on kõrgelt sensibiliseeritud ja kelle jaoks suur osa doonoritest ei sobi.

on Eesti patsientidele siiratud kokku 540 elundit, nendest 123 (23%) pärinesid väljastpoolt Eestit. 21 siirdamist toimus Soome või Rootsi keskustes, tegemist oli kas südamesiirdamistega või siirdamistega väikelastele.

Rahvusvaheline elundivahetus on eriti oluline patsientidele, kes vajavad erakorralist siirdamist, sest suurem doonorite valik võimaldab leida sobivama elundi oluliselt kiiremini kui ainult Eesti doonorite hulgast. Eriti keeruline võib olla leida immunoloogiliselt sobivat neerusiirikut patsientidele, kes on kõrgelt sensibiliseeritud ja kelle jaoks suur osa doonoritest ei sobi. Selliste keeruliste patsientide jaoks on Scandiatransplantis loodud eriprogrammid, mis lühendavad ooteaega ja suurendavad siirdamise võimalikkust⁸.

Kokkuvõte

Elundisiirdamise edukus põhineb hästi toimival koostööl, täpsel laboridiagnostikal ja kõrgetel kvaliteedistandarditel. Koesobivuslabori roll ulatub üksikutest analüüsides kuni siirdamisotsuste toetamiseni, mõjutades otseselt patsientide ravitulemusi.

Rahvusvaheline koostöö ja pidev areng laiendab doonorite valikut ja parandab ravivõimalusi ka keerulise mate juhtumite korral. 🌐

Kasutatud kirjandus

1. Dmitriev, P. 40 aastat neerusiirdamist Eestis. Eesti Arst 2009; 88(5):329–333.
2. Patel, R., Terasaki, P. I. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. N Engl J Med. 1969 Apr 3;280(14):735–9. doi: 10.1056/NEJM196904032801401. PMID: 4886455.
3. Montgomery, R. A., Tatapudi, V. S., Leffell, M. S. et al. HLA in transplantation. Nat Rev Nephrol 14, 558–570 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41581-018-0039-x>.
4. EFI Standards for Histocompatibility & Immunogenetics testing, version 8.1.
5. Mamode, N., Bestard, O., Claas, F., Furian, L., Griffin, S., Legendre, C., Pengel, L. and Naesens, M. (2022) European Guideline for the Management of Kidney Transplant Patients With HLA Antibodies: By the European Society for Organ Transplantation Working Group. Transpl Int 35:10511. doi: 10.3389/ti.2022.10511.
6. <https://efi-web.org/>.
7. <https://www.scandiatransplant.org/>.
8. Weinreich, I., Bengtsson, M., Lauronen, J. et al. Scandiatransplant acceptable mismatch program—10 years with an effective strategy for transplanting highly sensitized patients. Am J Transplant. 2022;22:2869–2879.