



Urs Wirthmueller¹

Die Rolle des immunologischen Labors in der Herztransplantation

Die Transplantationsdiagnostik hat sich im Verlauf der letzten Jahre zu einem zunehmend wichtigen Instrument für die immunologische Risikostratifizierung bei der Vorbereitung einer geplanten bzw. zur Überwachung möglicher Abstossungsreaktionen nach erfolgter Transplantation entwickelt.

Das Immunsystem hat für die Art, wie der Körper seine Umwelt wahrnimmt, eine Schlüsselrolle. Im besten Fall hilft es uns, mit einer Vielzahl von krankheitserregenden Organismen und Viren umzugehen. Die Immunabwehr hat die komplexe Fähigkeit, unterschiedlichste hoch- und niedrigmolekulare Strukturen, die in den Körper eintreten, zu erkennen, eine adäquate Immunantwort dagegen zu bilden und die invasiven Keime zu eliminieren. Nun gibt es neben dieser höchst willkommenen Fähigkeit, uns zu schützen, auch immer wieder Fehlleistungen des Immunsystems, die sich in einer Vielzahl von Immunpathologien äussern.

Im Rahmen von Organtransplantation und Bluttransfusionen kann das Immunsystem zudem eine unerwünschte Barriere darstellen, welche den Erfolg der Transplantation bzw. Transfusion massiv stören bzw. zur Organabstossung führen kann. Dabei provozieren die körperfremden Zellen des Transplantats das Immunsystem, was wiederum dazu führen kann, dass es zu einer humoralen und/oder zellulären Abstossung des transplantierten Organs kommt.

Abstossungsreaktionen mit unterschiedlichen Zeitfenstern

Grundsätzlich kann unterschieden werden zwischen einer hyperakuten, einer akuten und einer chronischen Abstossung. Die Auslöser für eine hyperakute humorale Abstossung sind präformierte, gegen Strukturen des Spenderorgans gerichtete Antikörper. Als Folge davon kommt es zu einer Nekrotisierung des Spenderorgans innerhalb von Stunden nach Transplantation. Eine akute Abstossung kann innerhalb von Wochen bzw. weniger Monate nach der

Operation auftreten. Diese Art von Abstossung wird durch Zellen des Immunsystems vermittelt, die das Spenderorgan angreifen und dessen Strukturen zerstören. Die chronische Abstossung, die oft als Folge von wiederholten behandelten Schüben einer akuten Abstossung erfolgt, ist ebenfalls zellvermittelt und führt innerhalb von Jahren bzw. Jahrzehnten nach der Operation zu einer Fibrosierung der Gefässe des Spenderorgans. Die hauptsächlich durch das Immunsystem erkannten Fremd-Antigene auf den Spenderzellen sind sogenannte HLA-Moleküle. HLA-Moleküle sind Komponenten des adaptiven Immunsystems und dienen in ihrer biologischen Funktion der Antigenpräsentation auf der Oberfläche von Zellen. Sie gehören zu den variabelsten Genen im Genom und sind deshalb einer der Hauptgründe dafür, dass das Immunsystem des Empfängers das Spenderorgan als fremd erkennt und es in der Folge abstösst. Präformierte Antikörper gegen HLA-Moleküle können gebildet werden nach einer Immunisierung bei Schwangerschaft, nach Bluttransfusionen oder bei einer vorhergegangenen Transplantation.

Zeit, Immunsuppression und Histokompatibilität

Die Transplantation wird für eine ganze Reihe von Organen bzw. in der Form von Stammzelltransplantationen zur Behandlung von Knochenmarktumoren aber auch zunehmend zur Korrektur von Fehlfunktionen des Immunsystems und neuerdings auch zur Bekämpfung von Tumoren eingesetzt. In der Organtransplantation steht der Erfolg der Behandlung auf den drei Säulen Zeit, Immunsuppression und Histokompatibilität. Wobei je nach Art des Organs diese Faktoren unterschiedlich wichtige Rollen spielen. Die wohl wichtigste Funktion hat in jedem Fall die Immunsuppression, die mit der Entdeckung des Cyclosporins durch

H. F. Stähelin und J.-F. Borel im Jahr 1971 die Transplantation von HLA-inkompatiblen Organen überhaupt erst ermöglichte. Mittlerweile kann für die Unterbindung einer Abstossungsreaktion auf eine ganze Reihe sehr potenter Immunsuppressiva zurückgegriffen werden, welche die Abstossungsreaktion auf unterschiedlichsten Stufen der Aktivierung des Immunsystems unterbinden können [1]. Zu den Wirkstoffgruppen gehören Glucocorticoide, Zytostatika, rekombinante Antikörper, Calcineurininhibitoren und die sogenannten TOR-Inhibitoren. In der Regel wird auf der Grundlage der vorliegenden Labordaten bzw. der medizinischen Vorgeschichte des Patienten eine Mischung verschiedener Immunsuppressiva eingesetzt, die zuerst hochdosiert und danach fortlaufend entsprechend der Erträglichkeit des Transplantats angepasst reduziert wird. Dies auch, um durch die Immunsuppression herbeigeführte Risiken für Infekte oder die Bildung von Tumoren zu minimieren.

Routineeingriff Herztransplantation

Herztransplantation bedeutet das Verpflanzen des gesunden Herzens eines hirntoten Spenders in einen herzkranken Patienten. Sie ist eine Behandlungsmöglichkeit für Patienten, deren Herzfunktion trotz ausgeschöpfter Behandlung mit Medikamenten so schwer vermindert ist, dass sie bei geringster Anstrengung oder schon in Ruhe an Atemnot oder Herzschmerzen leiden. Solche Patienten können ohne Transplantation nicht überleben. Die Herztransplantation hat sich – nach der Premiere in Südafrika durch Christiaan Barnard im Jahr 1963 – als Routineeingriff in der Schweiz seit 1985 etabliert. In Bern werden seit Sommer 1994 pro Jahr ca. 15 Herztransplantationen durchgeführt. Die Sterblichkeit innerhalb eines Jahres nach der Transplantation beträgt nur etwa zehn Prozent. Auch im weiteren Verlauf gibt es nur

¹ Dr. Urs Wirthmueller, Zentrum für Labormedizin, Transplantationsimmunologie, Inselspital, Universitätsspital Bern

selten transplantatbedingte Todesfälle zu beklagen.

Im Gegensatz zu Nierentransplantationen darf die Ischämiezeit bei der Herztransplantation vier Stunden nicht überschreiten. Aus diesem Grund erfolgt beim Spenderherzen keine Allokation aufgrund einer möglichst hohen Übereinstimmung der HLA-Genotypen, wie dies z.B. bei der Niere der Fall ist. Ein Spenderherz wird offenbar besser toleriert, weil es sich dabei im Wesentlichen um Muskelgewebe mit relativ geringen immunologischen Funktionen handelt. Im Gegensatz dazu ist die Niere sehr aktiv sowohl an humoralen als auch an zellulären Immunreaktionen beteiligt.

Die in den immunologischen Labors durchgeführten Analysen erlauben vor Transplantation eine detaillierte Risikoabwägung bzw. nach Transplantation das Monitoring einer möglichen Transplantat-Abstossung [2].

Bestimmung von HLA-Antigen und anti-HLA-Antikörper

Vor der Transplantation wird mittels zellulären Methoden und neuerdings mit der Multiplex-Luminex-Methode das Vorhandensein von präformierten Antikörpern gegen HLA-Antigen (Leukozyten-Antikörper) bestimmt [3]. Im Gegensatz zu den herkömmlichen zellulären Methoden zur Bestimmung von Leukozyten-Antikörpern werden bei der Luminex-Methode rekombinante HLA-Antigene eingesetzt, welche auf farbmarkierten kleinen Polystyrol-Sphären kovalent gebunden sind. Im Luminex-Gerät werden verschiedenfarbige Laser eingesetzt, um danach die farbmarkierten HLA-Antikörper quantitativ zu erfassen. Solange der Patient auf der Empfänger-Warteliste verbleibt, werden die Antikörper-Titer in regelmässigen Abständen geprüft. Die prospektive zelluläre Kreuzprobe (Reaktion von Empfänger-Serum mit Spenderzellen, engl. «Crossmatch»), wie sie zum Beispiel vor Nierentransplantationen Standard ist, wird bei einer Herztransplantation nicht eingesetzt, da sie vorgängig eine Spendertypisierung voraussetzt und deshalb aus Zeitgründen nicht möglich ist. Hingegen wird mit einer retrospektiven Kreuzprobe geprüft, ob eine intensivere Immunsuppression nach der Transplantation nötig ist. Die zelluläre

Kreuzprobe wird neuerdings durch die sogenannte virtuelle Kreuzprobe ersetzt, die voraussetzt, dass einerseits eine genaue Spendertypisierung der HLA-Antigene vorhanden ist und andererseits die beim Empfänger vorhandenen anti-HLA-Antikörper mittels Luminex-Analyse im Detail bekannt sind.

Nach der Transplantation dienen wiederum in regelmässigen Abständen wiederholte Bestimmungen von anti-HLA-Antikörpern in Patientenserum, um zu verfolgen, ob bei diesem eine humorale Abstoßungsreaktion vorliegt. Auch hier kommt die hochsensible Luminex-Analytik zum Zug.

Ausblick

Virtuelle Testmethoden nehmen zunehmend Einfluss auf die Allokation von Spenderorganen, und mit der quantitativen Luminex-Technik kann die Bildung einer humoralen Abstoßungsreaktion nach Transplantation zeitnah verfolgt werden. Für das Vorhandensein einer zellulären Transplantatabstossung ist man in der Klinik aber nach wie vor auf die Entnahme von Biopsien und den direkten Nachweis von Komplement- oder Zell-vermittelten Immunreaktionen in den betroffenen Geweben angewiesen. Abhilfe für diese aufwendigen Methoden verspricht die sogenannte Liquid Biopsy [4]. Durch die Degradation von Zellen des Transplantats als Folge einer Abstoßungsreaktion wird Spender-DNS frei, die sich dann in geringsten Spuren im Empfängerserum findet. Zum Nachweis und zur Unterscheidung gegenüber der Empfänger-DNS benötigt es einerseits eine hochauflösende HLA-Typisierung sowohl des Spenders als auch des Empfängers. Damit können Genabschnitte definiert werden, die sich als Sonden für die Unterscheidung zwischen den beiden optimal eignen. Andererseits braucht es entsprechend empfindliche PCR-Amplifikationsmethoden, um die wenigen

Rôle du laboratoire d'immunologie dans la transplantation cardiaque

Les tests diagnostiques réalisés en vue de la transplantation jouent un rôle de plus en plus important dans l'examen et la sélection d'organes potentiellement adaptés aux patients qui ont besoin d'une greffe. Les investigations menées par le laboratoire portent non seulement sur les allèles HLA présentes sur les cellules du donneur, mais aussi sur les anticorps anti-HLA potentiellement préformés par le receveur, qui peuvent entraîner, dans certains cas, des réactions aiguës de rejet contre l'organe qui vient juste d'être implanté.

Pour que la durée de l'ischémie reste brève dans le cas spécifique de la greffe de cœur, l'allocation de l'organe ne peut pas être basée sur la meilleure compatibilité possible entre les haplotypes HLA du donneur et du receveur, comme c'est le cas lors d'une transplantation rénale. En revanche, l'épreuve de compatibilité croisée reste un instrument approprié pour prédire en tube à essai la réaction de sérums du receveur avec des cellules du donneur.

Après une greffe réussie, les tests diagnostiques basés sur la technologie analytique Luminex hautement sensible aident de nouveau à surveiller le développement d'anticorps contre les antigènes HLA du greffon. A l'avenir, l'association de cette procédure diagnostique à la méthode de la biopsie liquide permettra de contrôler encore mieux les réactions de rejet.

Spendermoleküle hochspezifisch gegenüber der reichlich vorhandenen Empfänger-DNS selektiv nachzuweisen. Von diesen neuen Methoden wird erwartet, dass sie eine quantitative Bestimmung der zellulären Immunantwort beim Spender ermöglichen. Dies wiederum hätte den Vorteil für den Patienten, dass die Immunsuppression über die Zeit in einem optimalen Verhältnis eingestellt werden kann, um Nebenwirkungen für den Organempfänger möglichst niedrig zu halten, ohne dass das Organ abgestossen wird.

Korrespondenz
urs.wirthmueller@insel.ch

Referenzen

1. Wiseman AC. Immunosuppressive Medications. Clin J Am Soc Nephrol. 2015;11(2):332–343. doi: 10.2215/CJN.08570814
2. Cravedi P, et al. Immunologic monitoring in transplantation revisited. Curr Opin Organ Transplant. 2012;17(1):26–32. doi: 10.1097/MOT.0b013e32834ee402
3. Lachmann N et al. Luminex® and its applications for solid organ transplantation, hematopoietic stem cell transplantation, and transfusion. Transfus Med Hemother. 2013;40(3):182–189. doi: 10.1159/000351459
4. Verhoeven JGHP et al. Liquid Biopsies to Monitor Solid Organ Transplant Function: A Review of New Biomarkers. Ther Drug Monit. 2018 Oct;40(5):515–525. doi: 10.1097/FTD.0000000000000549.