

# Uloga darivateljstva u transplantaciji tkiva i organa

---

**Perković, Ivana**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2020**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split / Sveučilište u Splitu**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:176:744293>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-29**



Sveučilišni odjel zdravstvenih studija  
SVEUČILIŠTE U SPLITU

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the University Department for Health Studies, University of Split](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

Podružnica

SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA

PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ

MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

**Ivana Perković**

**ULOGA DARIVATELJSTVA U TRANSPLANTACIJI TKIVA I  
ORGANA**

**Završni rad**

Split, 2020.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

Podružnica

SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA

PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ

MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

**Ivana Perković**

**ULOGA DARIVATELJSTVA U TRANSPLANTACIJI TKIVA I  
ORGANA**

**THE ROLE OF DONATION IN TISSUE AND ORGAN  
TRANSPLANTATION**

**Završni rad / Bachelor's thesis**

Mentor:

**Doc. dr. sc. Esma Čečuk-Jeličić**

Split, 2020.

## **ZAHVALA**

Zahvaljujem se svojoj dragoj mentorici doc. dr. sc. Esmi Čečuk-Jeličić na uloženom vremenu, trudu i pomoći u izradi ovog završnog rada, kao i na strpljenju i podršci. Zadovoljstvo mi je bilo pisati o ovako važnoj temi.

Veliko hvala mojoj obitelji i prijateljima koji su moj najveći oslonac i podrška cijelog života, a pogotovo kroz ovo studentsko razdoblje. Hvala vam što ste uvijek vjerovali u mene.

Najveća zahvala ide mojim roditeljima koji su me usmjerili na pravi put i bez kojih moje studiranje ne bi bilo moguće. Vama posvećujem ovaj rad.

## Sadržaj

1. UVOD .....	1
1.1. Transplantacija tkiva i organa .....	1
1.2. Krvotvorne matične stanice.....	5
1.2.1. Prikupljanje KMS iz koštane srži.....	6
1.2.2. Prikupljanje KMS iz periferne krvi.....	6
1.2.3. Prikupljanje KMS iz krvi pupkovine.....	7
1.2.4. Pohrana krvotvornih matičnih stanica.....	8
1.2.5. Transplantacija krvotvornih matičnih stanica.....	8
1.2.6. Zaklada Ana Rukavina .....	12
1.3. Transplantacija bubrega .....	21
1.3.1. Imunološka obrada primatelja i darivatelja bubrega .....	23
1.3.2. Imunološka obrada primatelja .....	24
1.3.3. HLA podudarnost i ishod transplantacije .....	24
1.3.4. Kada treba razmotriti mogućnost uzimanja obaju bubrega za jednog primatelja (engl. <i>dual kidney transplantation</i> ) .....	25
1.3.5. Obrada živog darivatelja.....	26
1.3.6. Dodjela bubrega s umrlog darivatelja.....	26
1.3.7. Prednosti transplantacije.....	27
1.3.8. Kandidati za presađivanje.....	27
1.3.9. Postupak stavljanja na listu čekanja .....	28
1.3.10. Transplantacijski centri .....	28
1.4. GvHD (engl. Graft versus Host Disease) .....	29
1.4.1. Akutna GvHD (aGvHD).....	30
1.4.2. Kronična GvHD (cGvHD) .....	30
1.5. Glavni sustav tkivne podudarnosti (engl. <i>Major Histocompatibility Complex</i> , MHC).....	31
1.5.1. HLA sustav.....	31
1.6. Građa i funkcija HLA molekula.....	33
1.6.1. HLA razred I .....	33
1.6.2. HLA razred II .....	34
1.7. Nasljeđivanje HLA.....	35
1.8. Nomenklatura gena i antigena HLA sustava .....	36
1.9. Određivanje gena i antigena sustava HLA .....	37

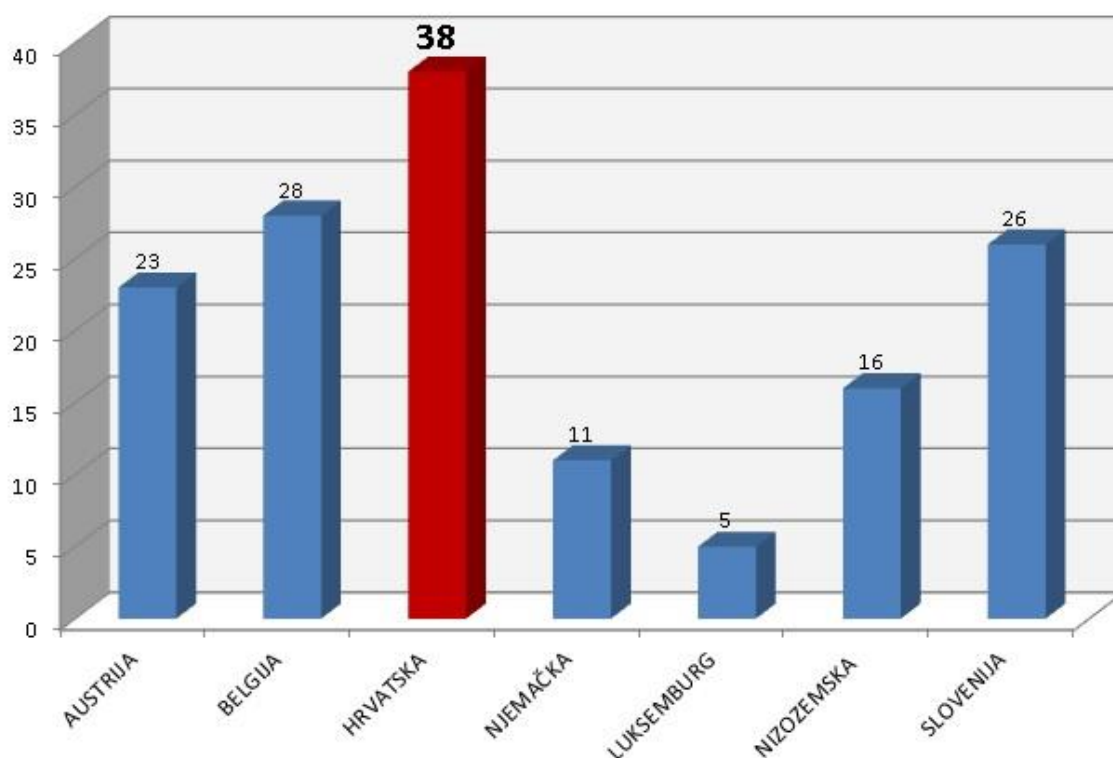
2.	CILJ .....	38
3.	METODE .....	39
3.1.	Serološka metoda .....	39
3.2.	Molekularne metode.....	40
3.2.1.	PCR-SSO.....	40
3.2.2.	PCR-SSP .....	41
4.	RASPRAVA.....	42
5.	ZAKLJUČAK .....	43
6.	LITERATURA .....	44
7.	SAŽETAK.....	46
8.	SUMMARY .....	47
9.	ŽIVOTOPIS .....	48

# 1. UVOD

## 1.1. Transplantacija tkiva i organa

Transplantacija je postupak prenošenja tkiva ili organa s jedne jedinice na drugu, ili s jednog mjesta na drugo unutar iste jedinice. Prva uspješna transplantacija bubrega obavljena je 1954. godine u Bostonu između jednojajčanih blizanaca, što je bio velik napredak u transplantacijskoj medicini i poticaj da se krene s transplantacijama drugih organa, poput jetre, srca i gušterače. Od tada, transplantacijska medicina bilježi neprestani napredak, pa je 20. stoljeće, stoljeće ispunjeno s mnoštvom važnih datuma u transplantacijskoj medicini (1).

Govoreći o transplantaciji i darivateljstvu solidnih organa, svakako moramo istaknuti 2007. godinu kada postajemo član Eurotransplanta, krovne organizacije koja radi na razmjeni organa. Ulaskom u ovu veliku obitelj, važnu kako za transplantaciju, tako i za darivateljstvo, vrlo brzo postajemo vodeća zemlja po broju transplantacija, kao i darivatelja organa (Slika 1).



Slika 1. Broj davatelja na milijun stanovnika 2015. Godine

(izvor: <http://www.hdm.hr/hdm/> (2))

Neprestanim educiranjem stručnjaka iz ovog područja i uspjesima koje pobiremo u svijetu, broj darivatelja raste. Ljudi shvaćaju da pristankom na darivanje organa, jedan život spašava 5 drugih života (srce, pluća, bubrezi, gušterača, rožnica), uvijek imajući na umu da mi sami ili naši bližnji možemo postati pacijenti kojima će biti potreban darivatelj određenog organa.

U Hrvatskoj se mogućim darivateljem organa smatra svaka preminula osoba koja se za života tome nije izričito protivila. Iako naš zakon ne propisuje obvezu traženja dozvole za eksplantaciju organa od obitelji umrle osobe, u praksi se poštuje stav obitelji. Zbog toga je važno da svoju obitelj upoznate sa svojim stavom o darivanju organa poslije smrti.

Donorska kartica od izuzetne je važnosti kao iskaz pozitivnog stava pojedinca o darivanju organa (Slike 2 i 3). Ako je preminula osoba posjedovala donorsku karticu, obitelj uglavnom poštuje stav umrle osobe i ne protivi se eksplantaciji. Donorsku karticu možete zatražiti kod liječnika primarne zdravstvene zaštite ili u Ministarstvu zdravlja (2).



Slika 2. Donorska kartica

(izvor: <http://www.hdm.hr/hdm/> (2))



*Potvrđujem da je **moja želja** darovati organe svoga tijela za liječenje ljudi.*

ime i prezime / čitljivo:  vlastoručni potpis:

**u slučaju moje smrti obavijestiti navedenu osobu:**

na telefon broj:

mjesto i datum:

**Molimo Vas da karticu nosite sa sobom.**

**HDM DNC**

JEZTSKAK

Slika 3. Donorska kartica (poledina)

(izvor: <http://www.hdm.hr/hdm/> (2))

Transplantacija tkiva i organa postala je metoda liječenja u zatajenju vitalnih organa (bubreg, srce, jetra, pluća) ili liječenja malignih oboljenja, ali je još uvijek i jedno od najsloženijih i etički najosjetljivijih područja medicine, gdje uspješan zahvat bolesniku nudi značajno poboljšanje kvalitete života, a ponekad i sam život. Lista organa i tkiva koji se transplantiraju svakim se danom proširuje.

Bilo da se radi o tkivu ili organu, transplantacija je zahvat koji nosi rizike za primatelja i za živog davatelja. Uvijek je neizvjestan sam ishod transplantacije, jer se radi o uzajamnom djelovanju dva različita biološka sustava: primatelja i davatelja. Rizici kojima su izloženi živi davatelji vezani su uglavnom uz samu operaciju, dok kod primatelja postoji niz rizika vezanih, ne samo uz operaciju, već i nakon same transplantacije, a to su: primarno zatajenje organa uslijed lošeg odabira primatelja, oštećenja ili lošeg čuvanja organa prije transplantacije, akutno ili kronično odbacivanje organa, te opasnost od prijenosa zaraznih bolesti ili zloćudnih novotvorina.

Nakon transplantacije, u organizmu primatelja se pojavljuju različiti oblici imunološke aktivnosti koji se očituju kao imunološka reakcija odbacivanja (imunost ili preosjetljivost-

alergija) ili imunološka nereaktivnost (specifična imunološka tolerancija, imunosupresija, imunodeficijencije) (1).

Prema kliničkom tijeku transplantacijska reakcija se očituje kao hiperakutno odbacivanje, akutno rano odbacivanje, akutno kasno odbacivanje ili kronično odbacivanje.

Transplantacija prema genetičkom odnosu primatelja i davatelja može biti autologna (autotransplantat), singenična (izotransplantat), alogenična (alotransplantat) ili ksenogenična (ksenotransplantat).

Prema izboru davatelja organa/tkiva, transplantacija može biti sa živog davatelja, u pravilu krvni srodnik (npr. otac, majka, brat), od netom umrle osobe (kadaver) ili *in vitro* uzgojeno tkivo. Prije same transplantacije obavlja se cijeli niz pretraga primatelja i davatelja organa, te kod svakog slučaja, moguća dobrobit transplantacije mora prevagnuti nad rizicima. Za uspješnost transplantacije važna je predtransplantacijska obrada primatelja, koja je standardizirana za svaku vrstu organa i tkiva. Procjena statusa bolesnika koji čeka transplantaciju mora biti pravovremena, učinkovita i ekonomski prihvatljiva, a uključuje medicinske i psiho-socijalne aspekte. Loš klinički status bolesnika može predstavljati trajnu ili privremenu zapreku za transplantaciju.

Kod primatelja nekih organa (bubreg, gušterača) važna je podudarnost u krvnim grupama i genima HLA. Kod presađivanja krvotvornih matičnih stanica podudarnost u genima HLA je važnija od podudarnosti ABO (3).

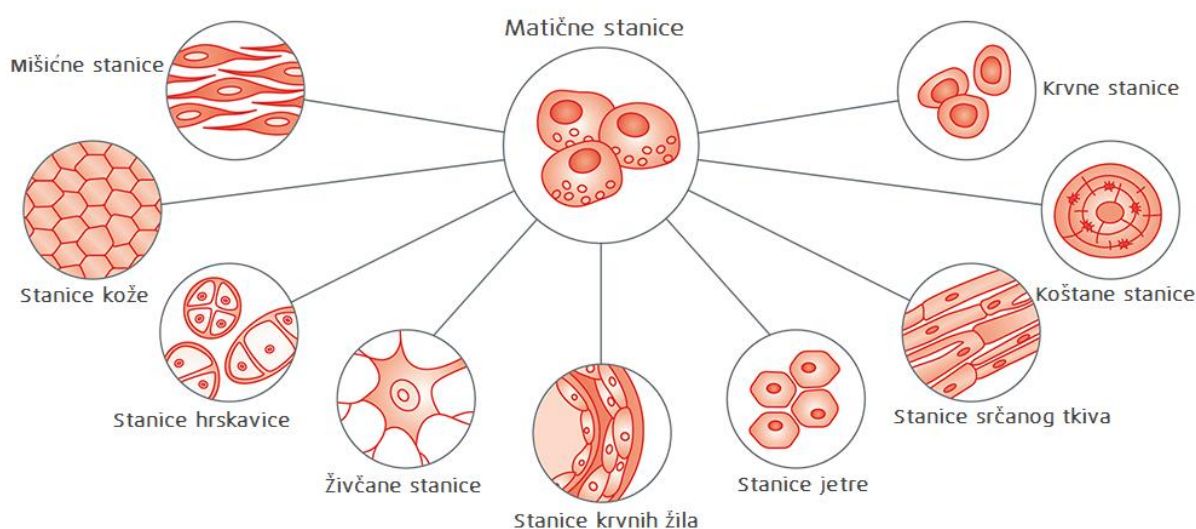
Bolesnici koji čekaju na transplantaciju organa s umrlog davatelja (engl. *cadaveric donor*) uvrštavaju se na liste čekanja za svaki pojedini organ ili kombinaciju organa (bubreg-gušterača, bubreg-jetra, srce-pluća). Na listama čekanja prednost imaju pojedine skupine bolesnika, kao što su npr. djeca, primatelji za više organa ili visoko rizični bolesnici. Liste čekanja nastaju na temelju niza Eurotransplantovih pravila za dodjelu organa s umrlog donora.

Napredak u području imunosupresivne terapije, operacijskim tehnikama i testovima za određivanje imunogenetskog statusa primatelja, doveli su do značajnog poboljšanja u preživljavanju transplantata i kvalitete života primatelja organa. Kao imunosupresivni lijekovi u samim počecima koristili su se: azathioprin, kortikosteroidi i antilimfocitni globulini.

Revoluciju u imunosupresivnoj terapiji izazvala je pojava ciklosporina ranih 80-ih godina koji je značajno smanjio epizode akutnog odbacivanja i poboljšanje preživljavanja presatka. Tijekom posljednjeg desetljeća uvode se mnogi novi imunosupresivni lijekovi kao "tacrolimus", "mycophenolate mofetil" i "sirolimus". "Tacrolimus" ili "cyclosporin A" utječu na povećanje broja regulacijskih limfocita T CD4+CD25+ u perifernoj cirkulaciji, a koji igraju značajnu ulogu u toleranciji primatelja na strani presadak. Kod većine transplantiranih organa jednogodišnje preživljavanje transplantata je 80-90% (1).

## 1.2. Krvotvorne matične stanice

S obzirom da je osobina pluripotentnih matičnih stanica nediferenciranost i da nemaju specijaliziranu funkciju, ishodište su svim ostalim stanicama u tijelu (Slika 4). Mogu se obnavljati i proliferirati, a njihovom diferencijacijom nastaju stanice koje su specijalizirane za određene funkcije u organizmu ili stanice specifične samo za određeni organ ili tkivo (4).



Slika 4. Matične stanice

(izvor: <http://www.biosave.hr/> (5))

Pluripotentne matične stanice koje se nalaze u koštanoj srži nazivaju se krvotvornim matičnim stanicama (KMS). Izgledaju poput malih limfocita, a njihova diferencijacija i proliferacija rezultira nastankom progenitorskih stanica. Progenitorske stanice daju stanice kćeri koje zadržavaju osobine matične stanice. Ovim se mehanizmom osigurava doživotan izvor krvnih stanica (6).

Koštana srž, periferna i umbilikalna krv (krv iz pupkovine) izvori su krvotvornih matičnih stanica (7).

### **1.2.1. Prikupljanje KMS iz koštane srži**

Zdjelična kost služi za prikupljanje matičnih stanica iz koštane srži koje potom idu na obradu za uklanjanje krvi i zaostalih koštanih fragmenata. Duljina trajanja postupka je sat vremena. Za to vrijeme davatelj je podvrgnut općoj ili lokalnoj anesteziji, a postupak je relativno bolan.

Najznačajniji rizici koje nosi zahvat su podvrgavanje anesteziji te osjećaj boli na mjestu punktiranja. Osim boli koja može potrajati nekoliko dana, moguć je razvitak i anemije zbog gubitka eritrocita. U takvom slučaju, veliku ulogu igraju težina bolesti i imunološko stanje davatelja te oporavak tada može potrajati od 2 do 3 dana pa sve do 3 do 4 tjedna (8).

### **1.2.2. Prikupljanje KMS iz periferne krvi**

Prikupljanje KMS iz periferne krvi sve je češće metoda izbora, osobito kod autolognih transplantacija. Nekoliko dana prije transplantacije davatelj uzima faktor rasta granulocita (G-CSF) (engl. *Granulocyte Colony Stimulating Factor*) čija je uloga poticanje prelaska krvotvornih matičnih stanica iz koštane srži u perifernu krv. Potom se procesom koji se naziva afereza iz krvi davatelja razdvajaju četiri komponente: eritrociti, plazma, leukociti i trombociti. Crvene krvne stanice i plazma vraćaju se u krvotok davatelja i time se sprječava razvitak anemije. Bijele krvne stanice i trombociti se prikupljaju, budući da oni sadrže krvotvorne matične stanice, i dalje se obrađuju.

Duljina trajanja postupka je 4 do 5 sati, a kroz aparat prođe i do 25 litara krvi. Postupak je moguće ponavljati onoliko puta koliko je potrebno da se prikupi dovoljan broj stanica (6; 9).

Postupak je bezbolan i nema nikakvih većih rizika za davatelja. Mogući simptomi koji se mogu javiti kod davatelja su glavobolja, vrtoglavica, povraćanje, slabost i problemi sa snom. No oni su prolazni već nakon 2 do 3 od prestanka uzimanja G-CSF lijekova.

### **1.2.3. Prikupljanje KMS iz krvi pupkovine**

Umbilikalna krv, odnosno krv koja nakon poroda ostaje u pupkovini, iako malog volumena, sadržajno je bogata krvotvornim matičnim stanicama nalik onima u koštanoj srži. Osim svojstva diferencijacije u sve ostale krvne stanice, ove stanice posjeduju i mogućnost obnavljanja koštane srži te kao takve mogu zamijeniti koštanu srž kod transplantacije hematološkim i onkološkim pacijentima. Najčešće se koriste kod male djece kako bi se izbjeglo davanje KMS iz periferne krvi ili koštane srži nesrodnog darivatelja. Odraslim osobama se daju u slučaju kad se podudaran darivatelj ne može dovoljno brzo pronaći (6).

Svakako treba napomenuti da je postupak prikupljanja krvotvornih matičnih stanica iz pupkovine najmanje invazivan i najbezbolniji način dobivanja KMS. Lako se uči, jednostavan je i kratak te traje svega 5 do 10 minuta. Izvodi se neposredno nakon poroda djeteta, a prije poroda posteljice i ne zahtijeva dodatno osoblje. Količina umbilikalne krvi koja se pri tom sakupi iznosi 75 do 100 mL, a zahtijeva daljnju obradu i pohranu u roku od 48 sati (7). Bitno je istaknuti da je prije samog poroda potrebna majčina suglasnost, a za vrijeme poroda ne smije se ni na koji način ugroziti život ni majke ni djeteta (10).

Moguća pohrana umbilikalne krvi je u javnim i privatnim (obiteljskim) bankama krvi iz pupkovine. Pohrana u javnim bankama omogućuje transfundiranje stanica bilo kojem HLA podudarnom primatelju, na cijelom svijetu. U privatnim bankama umbilikalne krvi stanice se čuvaju za članove obitelji, u slučaju da oni u bilo kojem trenutku zatrebaju transfuziju.

Osim bezbolnosti i neinvazivnosti, prednost ove metode je i testiranje samo 6 lokusa HLA sustava u slučaju transplantacije KMS iz pupkovine. Mala količina prikupljenih stanica glavni je nedostatak ove metode (10).

#### **1.2.4. Pohrana krvotvornih matičnih stanica**

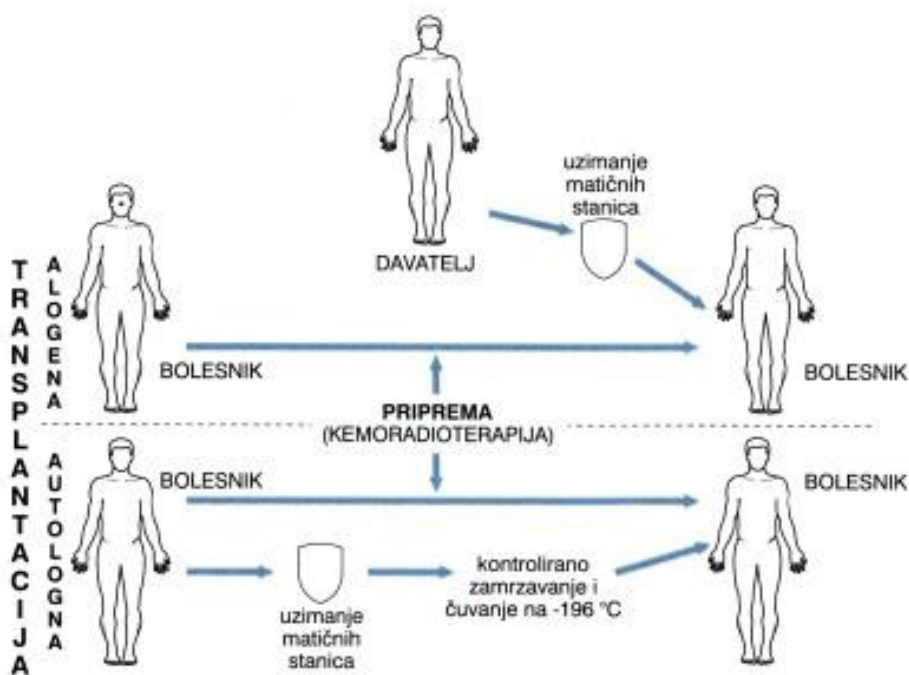
Pohrana krvotvornih matičnih stanica u električnim zamrzivačima te u tekućem ili plinovitom dušiku na temperaturi nižoj od  $-120^{\circ}\text{C}$  omogućuje njihovo čuvanje više desetljeća. Nastajanje intra- ili ekstracelularnih kristalića leda koji su nastajali tijekom zamrzavanja i na taj način pravili oštećenja stanične strukture stvaralo je problem prilikom pohranjivanja krvotvornih matičnih stanica. Brzo zamrzavanje za posljedicu ima nastanak intracelularnih kristala koji mehanički oštećuju stanice te dolazi do apoptoze. Suprotno tome, ukoliko se zamrzavanje odvija sporo, nastat će ekstracelularni kristali leda. Njihovo sprječavanje slobodnog ulaska soli u stanicu za posljedicu ima dehidraciju stanice. Kako bi se ovaj problem izbjegao i kvaliteta transplantata ostala sačuvana, zamrzavanju KMS prethodi dodavanje glicerola i dimetilsulfoksida (DMSO). Njihovo krioprotektivno svojstvo koristi se za sprječavanje dehidracije stanica te njihova oštećenja (11).

#### **1.2.5. Transplantacija krvotvornih matičnih stanica**

S obzirom da se velikom većinom matične stanice nalaze u koštanoj srži, a tek manjim dijelom u perifernoj krvi, donedavno se kao glavni način prikupljanja krvotvornih matičnih stanica isključivo punktirala koštana srž. Danas je, uz pomoć lijekova, KMS iz koštane srži moguće mobilizirati te tako "dovesti" u perifernu krv. Također, razvio se i način prikupljanja KMS iz pupkovine te se termin "transplantacija koštane srži" zamjenjuje terminom "transplantacija krvotvornih matičnih stanica".

U prošlosti je transplantacija korištena kao zadnji izbor u liječenju bolesti. Razvoj medicine te učenje o mogućim ishodima i komplikacijama dovodi do toga da transplantacija postaje jedno od ključnih rješenja u liječenju malignih i nemalignih bolesti te imunoloških poremećaja kao što su leukemija, limfomi, aplastična anemija i nasljedni metabolički poremećaji. Najbolji ishod postiže se ukoliko se transplantacija obavi u ranijoj fazi bolesti, dok je tumor prostorno ograničen i na njega je moguće djelovati kemoterapijom. Ona, u kombinaciji s transplantacijom, može dovesti do izlječenja. Transplantacije učinjene u kasnijim fazama bolesti bilježe veću stopu neželjenih reakcija i relapsa bolesti. Ukoliko liječenje prvotnom terapijom nije polučilo uspjeh, također se provodi transplantacija (12; 11).

Tri su vrste transplantacije krvotvornih matičnih stanica: autologna i alogena (Slika 5) te transplantacija KMS iz umbilikalne krvi. Na odabir vrste transplantacije utječe nekoliko faktora: vrsta tumora koji se liječi, bolesnikova dob, dostupnost podudarnog darivatelja, mogućnost prikupljanja uzorka bez prisutnosti tumorskih stanica, faza i status bolesti (9).



Slika 5. Alogena i autologna transplantacija

(izvor: Labar, Hematologija (9))

### 1.2.5.1. Alogena transplantacija KMS

U posljednjih nekoliko godina porast je broja alogenih transplantacija KMS, a glavni razlog je porast broja upisanih ljudi u Registar dobrovoljnih darivatelja krvotvornih matičnih stanica, čime je vjerojatnost pronalaska podudarnog darivatelja veća (Slika 6). Svakom darivatelju prije upisa u Registar određuju se geni HLA-A, -B, -DRB1 te se kao takvi upisuju.



Slika 6. Popunjavanje pristupnice i zdravstvenog upitnika za upis u Registar dobrovoljnih darivatelja krvotvornih matičnih stanica

(fotografirano u KBC-u Split)

Hrvatska je jedna od nekoliko država koje imaju svoj registar dobrovoljnih darivatelja. U Hrvatski registar dobrovoljnih darivatelja krvotvornih matičnih stanica (engl. *Croatian Bone Marrow Donor Registry*, CBMDR) upisano je više od 51 200 zdravih osoba. Glavni zadatak registra je pronalaženje i prikupljanje što većeg broja uzoraka. Na taj je način hematološkim bolesnicima i osobama s malignim oboljenjima omogućena transplantacija KMS u što kraćem vremenskom roku.

U slučaju da država nema svoj registar ili nema podudarnog darivatelja, darivatelj se traži u svjetskom registru dobrovoljnih darivatelja KMS (engl. *Bone Marrow Donors Worldwide*, BMDW). Najveći je to registar u kojem se trenutno nalazi više od 28 000 000 darivatelja te preko 690 000 KMS dobivenih iz pupkovine (13).

Alogenom transplantacijom pacijent prima krvotvorne matične stanice od podudarnog HLA darivatelja. Darivatelj primatelju može biti krvni srodnik, brat ili sestra te se kao takav naziva HLA identični srodni darivatelj krvotvornih matičnih stanica (engl. *matched related donor*, MDR). Međutim, jako mali broj pacijenata ima podudarnog HLA darivatelja unutar obitelji.



Ukoliko nema podudarnosti među krvnim srođnicima, tad se taj darivatelj naziva HLA podudarni nesrodni davatelj (engl. *matched unrelated donor*, MUD) (14).

Idealan nesrodni darivatelj mora se s primateljem podudarati u 10/10 testiranih HLA lokusa. Kod pacijenata s visokorizičnim bolestima nesrodni darivatelj može se podudarati u 9/10 ili 8/10 ispitanih lokusa s obzirom da je kod takvih slučajeva rizik komplikacije bolesti veći od rizika nepodudarne transplantacije (15).

Alogena transplantacija primjenjuje se kao metoda liječenja mnogih zloćudnih tumora, kao i prirodnih i stečenih bolesti koštane srži. Aplastična anemija, teški kombinirani deficit imunskog sustava (SCID), talasemija, akutna mijeloična leukemija, kronična mijeloična leukemija i mijelodisplastični sindrom glavne su indikacije za alogenu transplantaciju. Zamjena bolesnog krvotvornog sustava primatelja sa zdravim sustavom darivatelja glavni je cilj alogene transplantacije. Kako bi se mogućnost odbacivanja presatka svela na minimum, prije same transplantacije potrebno je suprimiranje imunološkog sustava pacijenta. Postupak se izvodi kombinacijom citostatika i zračenja, a na taj se način također ubijaju pacijentove tumorske stanice (15).

Glavni neželjeni toksični učinak alogene transplantacije je moguća pojava reakcije presatka protiv primatelja (engl. *Graft versus Host Disease*, GvHD). Ova reakcija za posljedicu ima relaps ili progresiju zloćudnog tumora, pojavu teških infekcija, a u najtežim slučajevima javlja se smrt bolesnika. Reakcija može biti i kronična te kao takva značajno umanjiti kvalitetu života pacijenta (16; 17).

### **1.2.5.2. Autologna transplantacija KMS**

Autologna transplantacija KMS iz koštane srži ili periferne krvi zahvat je pri kojem se pacijentu oboljelom od malignih bolesti prije liječenja citostaticima uzimaju KMS. U pojedinim stadijima bolesti jedini način liječenja je primjena ekstremno visoke doze kemoterapije i/ili zračenja prilikom čega se koštana srž ireverzibilno oštećuje. Ekstremno visoke doze citostatika mogu pomoći kod bolesti gdje uobičajene doze lijeka više ne pomažu, ali krvotvorno tkivo, koje je najosjetljivije na citotoksične tvari, najviše se oštećuje. Za izbjegavanje ovakvog problema pacijentu se prije samog liječenja vade i zamrzavaju KMS.

Pacijentu se nakon liječenja citostaticima infuzijom vraćaju njegove odmrznute KMS. Time se svladava problem toksičnosti kemoterapije za krvotvorni sustav (9).

### 1.2.6. Zaklada Ana Rukavina

Najbolji primjer darivateljstva je neiscrpan rad Zaklade Ana Rukavina i Hrvatskog registra dobrovoljnih darivatelja KMS. Iako Registar na čelu s akademikom Andrijom Kaštelanom i doc. dr. sc. Esmom Čečuk-Jeličić kao prve hrvatske voditeljice nacionalnog registra koji je postojao još od 1996. u Zavodu za tipizaciju tkiva KBC Zagreb Rebro, taj Registar je imao svega 156 dobrovoljnih darivatelja, uključujući djelatnike zavoda za tipizaciju tkiva i članove obitelji (Slika 7).



Slika 7. Doc. dr. sc. Esmo Čečuk-Jeličić

(izvor: <https://zaklada-ana-rukavina.hr/> (18))

2006/2007. je prijelomna godina u povećanju broja dobrovoljnih darivatelja KMS, a započela je s pismom Ane Rukavine, novinarku oboljele od akutne mijeloidne leukemije, koje prenosimo u cijelosti.

*"Dobar dan,*

*ja sam Ana Rukavina, rođena sam i živim u Zagrebu, uskoro ću 30, novinarka sam političkog dnevnika Vjesnik, i na žalost to je za sad sve lijepo od mene. Moja prava osobna karta zapravo je nešto drugačija, od svibnja 2005. godine bolujem od leukemije, stoga Vas molim za 10 minuta vremena kako bi Vam ukratko opisala svoju priču iz bolesničke sobe na Rebru.*

*Ne bojte se nije tako tragična, ni depresivna, meni se jednostavno dogodio život, iz kojeg i Vi možda možete nešto naučiti.*

*Sredinom 2005. kronično iscrpljena završila sam u ambulantnim kolima Hitne pomoći. Liječnik koji me na Rebru primio samo je zabrinuto klimao glavom, a ja sam ga, danas je to pomalo smiješno, uvjeravala da mi da lijekove, pusti me kući i da ću doći za par dana ako mi ne bude bolje. Bezuspješno, moja krvna slika bila je gora od svih onih očajnih na našim novim dokumentima. Osjećala sam nemir, strah i po glavi mi se motala misao da možda bolujem od one bolesti od koje umire glavna glumica filma uz koju su 70-godina plakale sve majke, mislim da se zvala Love story.*

*Na moju veliku žalost, bila sam u pravu, no tu riječ nisam uspijevala izgovoriti. Suze, apaurini, a potom ravnodušnost. Podvlačila sam crtu misleći kako sam u svojih 28 godina uspjela odrasti voljena u divnoj obitelji, zaslužiti ljubav, supruga i prijatelja, putovati, raditi posao koji me još i danas veseli. Tonula sam tješeci se logikom razvoja situacije, sve dok mi na pamet nije pala jedna prilično glupasta misao. Obožavam sladoled, lješnjak je moj prvi odabir, ali tog ga ljeta nisam okusila, preduhitrio me odlazak u bolnicu.*

*Pa, zar je moguće da više nikada neću jesti sladoled od lješnjaka? Jesam li se spremna odreći svega i svih koje volim? Tog sam dana preplašena, ali odlučna krenula u lobiranje za vlastito ozdravljenje. Prihvatila sam izazov i bila prebolno svjesna od prvog dana, što me snašlo. Jednu bitku protiv takvog suparnika već sam izgubila, a poraze kad te besramno pokradu, ne podnosim.*

*Moj tata Gordan, umro je 2003. u 54. godini života, karcinom pluća. To me doista slomilo.*

*No, dobro, liječila sam se 6 mjeseci, do listopada 2005., na Odjelu za transplantaciju koštane srži na KBC Rebro, kod profesora Borisa Labara i njegovog liječničkog tima. Moram priznati da obožavam svoje liječnike i sestrice, i što je još ljepše mislim da su osjećaji uzajamni. Oni*

*su moja velika obitelj, bez lažnog uljepšavanja i ulijevaju mi sigurnost tako da mi prepustiti vlastitu sudbinu u njihove ruke ne pada ni najmanje teško.*

*Obavila sam kemoterapije i potom sam transplantirana. Sve je išlo nekim polaganim tokom, svakim danom sam bivala bolja. Konačno, pomislila sam ljetos, lagano vraćam život u prave tračnice i ostavljam sve ružno iza sebe. Čvrsto sam u to vjerovala. No, onda je stigao rujana i prve glavobolje koje su ubrzo prerasle u danonoćne migrene, izgubila sam vid na desno oko, trpila nenasnosne bolove i otežano hodala. Usprkos tome pretrage su bile u redu, a onda je sve krenulo ispočetka.*

*Sredinom listopada ponovno ona ista hitna, Rebro, ovaj sam put barem znala proceduru. Nakon odrađenih pretraga potvrđeno je da se moja stara poznanica vratila, pronašli su leukemijske stanice u likvoru. Što da Vam kažem kako sam se osjećala, iskreno toga se i ne volim sjećati, najteže mi je zapravo bilo sve ponovo saopćiti mojoj obitelji.*

*Tražila sam ponovno neki motiv, nešto da me pokrene jer ja sam sve samo ne tužna i depresivna osoba. Za mene predaja nikada nije bila opcija. Često sam u životu i poslu zbog toga dobila po nosu, ali što ću kad drugačije ne znam. Beskrajno volim život i ljude, znam i imam za koga živjeti. Ponekad mi se čini da mi ni 100 godina ne bi bilo dovoljno da učinim sve što je onaj na nebu namijenio za mene.*

*Ipak, došla sam do točke kad više ne mogu sama i kad mi treba pomoć dobrih ljudi. U razgovoru s liječničkim timom o daljnjem tijeku liječenja, kemoterapijama, zračenju mozga, i na posljeticu vrlo riskantnoj transplantaciji koštane srži od nesrodnog donora koja me očekuje oko Nove godine, otvorena je mogućnost odlaska na liječenje u SAD, i(li) nabavka skupih lijekova, imunosupresiva koji nisu dostupni našem tržištu, a mogli bi pomoći da se izvučem iz ove priče, da ona dobije sretan kraj.*

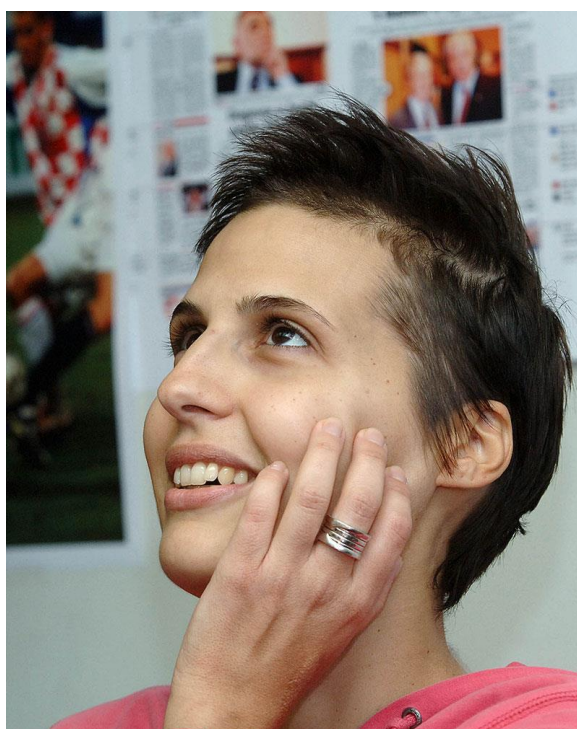
*Zapravo mi je teško sročiti što Vas točno želim zamoliti, znam rekla sam na početku 10 minuta, ali nisam bila sasvim iskrena. Nemojte zamjeriti, nije mi lako. Sve moje želje zapravo stanu u dvije riječi, želim život. Svjesna sam svih rizika koji me očekuju, spremna sam i na deblji kraj, nije me strah, samo se ne želim okrenuti i otići, a da nisam sigurna da sam učinila sve što sam mogla da se još neko vrijeme zadržim tu među vama.*

*Apsolutno vjerujem svojim liječnicima, ali znam gdje živim, stoga Vas najljubaznije molim da mi pomognete. Jedino što Vama, i sebi moram obećati jest da ću se truditi biti hrabra, vedra i kad bude teško. A bit će, to sigurno znam.*

*Želim vam ugodan dan!*

*Hvala!*

*Ana Rukavina" (Slika 8) (18)*



Slika 8. Ana Rukavina

(izvor: <https://zaklada-ana-rukavina.hr/>(18))

Anino pismo je jednostavno potaklo darivateljstvo krvotvornih matičnih stanica i 16.12.2006. na Cvjetnom trgu u Zagrebu dogodilo se nešto čudesno. Taj dan imali smo 270 uzoraka krvi dobrovoljnih darivatelja i od tog trenutka darivateljstvo KMS, zahvaljujući radu Zaklade Ana Rukavina i Registru se zahuktava. Povećanje broja darivatelja pokrenuto je akcijama same Zaklade, članovima registra na čelu s doc. dr.sc. Esmom Čečuk-Jeličić, od grada do grada,

diljem cijele Hrvatske ili na inicijativu samih građana pojedinih gradova, kao i neprestanom edukacijom djelatnika navedenih organizacija, kao i medijskom popraćenošću o važnosti darivateljstva (Slike 9, 10, 11 i 12).



Slika 9. Akcija darivanja KMS u Zagrebu

(izvor: <https://zaklada-ana-rukavina.hr/> (18))



Slika 10. Akcija darivanja KMS u Varaždinu

(izvor: <https://zaklada-ana-rukavina.hr/> (18))



Slika 11. Akcija darivanja KMS u Splitu

(izvor: <https://zaklada-ana-rukavina.hr/> (18))



Slika 12. Akcija darivanja KMS na Hvaru

(izvor: <https://zaklada-ana-rukavina.hr/> (18))

Za vrijeme Aninog liječenja, sustav dobrovoljnog darivanja koštane srži bio je nedovoljno razvijen. Postojeći Registar imao je nedovoljan broj davatelja koji su bili članovi obitelji oboljelih. Ako koštanu srž ne može dati netko od članova obitelji oboljelog, darivatelj se traži van granica Republike Hrvatske, čiji postupak traje 3 do 6 mjeseci. Postupak tipizacije, odnosno ulazak u registar darivatelja koštane srži jednostavan je i besplatan. Potrebno je samo izvaditi krv na Zavodu za tipizaciju tkiva.

Osnivači Zaklade su gospođa Marija Rukavina, Anina majka i gospođa Gordana Leto, Anina sestra, ali i Hrvatska udruga leukemija i limfomi (Slika 13). Udruga djeluje s ciljem pomaganja bolesnika oboljelih od hematoloških bolesti, razvoja novih istraživačkih programa i metoda liječenja, te u tu svrhu poduzima brojne aktivnosti. Organizira liječenje bolesnika koji boluju od leukemije, limfoma i srodnih bolesti. Prikuplja donacije, te razvija i sprovodi programe pomoći bolesnicima koji boluju od leukemije, limfoma i srodnih bolesti. Potiče nove metode liječenja te organizira stručnu i financijsku pomoć za te programe. Podupire programe pomoći bolesnicima i njihovim obiteljima. Podupire istraživački rad na području etiologije, terapije i liječenja leukemije, limfoma i srodnih hematoloških bolesti. Razvija programe nesrodne transplantacije koštane srži u Republici Hrvatskoj. Organizira seminare i savjetovanja, te distribuira informacije s tih skupova zdravstvenim i znanstvenim ustanovama (18).



Slika 13. Gospođa Marija Rukavina, Anina majka i gospođa Gordana Leto, Anina sestra

(izvor: <https://zaklada-ana-rukavina.hr/> (18))



Misija zaklade je sustavni rad na proširenju Hrvatskog registra dobrovoljnih darivatelja krvotvornih matičnih stanica, kao i provođenje humanitarnih i marketinških aktivnosti sa ciljem prikupljanja financijskih i drugih resursa za rad i proširenje Hrvatskog registra i rad javne Banke krvi iz pupkovine Ana Rukavina, kao i stručnog usavršavanja mladih stručnjaka na području hematologije i drugih srodnih specijalizacija (18).

### **1.2.6.1. Aktivnosti zaklade**

Akcija "Želim život" priča je koja je počela sa Aninim pismom u kojem je rekla da sve njene želje stanu u te dvije riječi. Organiziran je veliki humanitarni koncert na Trgu bana Jelačića praćen brojnim akcijama upisa građana u Hrvatski registar dobrovoljnih davatelja krvotvornih matičnih stanica. Koncert je organiziran i produciran potpuno besplatno, dobrotom brojnih donatora koji su darovali svoje usluge, proizvode i vrijeme.

Inicijalna akcija "Želim život!" sveukupno je trajala 142 dana (08.11.2006.-28.03.2007.). Tijekom akcije broj upisanih u Hrvatski registar dobrovoljnih darivatelja krvotvornih matičnih stanica porastao je sa 150 na 20 000. U tom periodu održano je više od 50 akcija prikupljanja uzoraka krvi za Hrvatski registar u više od trideset gradova diljem Hrvatske, a tijekom akcije prikupljeno je više od 2 700 000 kuna. Ani u čast svake godine u prosincu Zaklada Ana Rukavina organizira veliki humanitarni koncert Želim život na glavnom zagrebačkom trgu. Želja je zahvaliti svima koji su na bilo koji način pomogli radu Zaklade i na najljepši način prisjetiti se Aninog velikog nasljeđa (Slika 14).



Slika 14. Koncert "Želim život" na Trgu bana Josipa Jelačića

(izvor: <https://zaklada-ana-rukavina.hr/> (18))

"Lijek je u nama!" je druga velika akcija Zaklade Ana Rukavina. Akcija je počela na Anin rođendan, 28. ožujka 2007. svečanim otvaranjem Banke krvi iz pupkovine na KBC Zagreb . na taj dan održan je i drugi veliki humanitarni koncert Zaklade Ana Rukavina u Osijeku pod istim nazivom. "Lijek je u nama!" je nacionalna kampanja koja objedinjuje tri projekta Zaklade.

Projekt "Želim život" – nastavlja sa akcijama prikupljanja uzoraka krvi na terenu.

Projekt "Kuna za kap života" – prikupljanje sredstava za HLA tipizaciju prikupljenih uzoraka krvi. Ovaj projekt trajao je do 2008. godine kada je Vlada RH uvrstila tipizaciju u državni proračun RH.

Projekt "Novi život za novi život" – prikupljanje sredstava za opremanje i djelovanje javne banke krvi iz pupkovine.

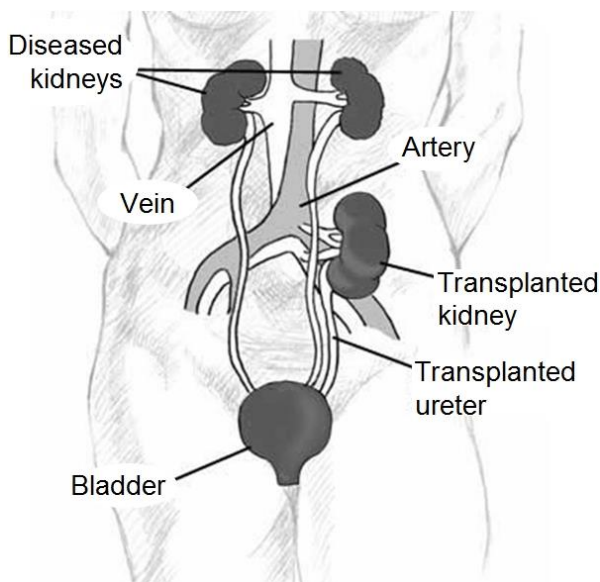
Zaklada Ana Rukavina nastavlja Aninu misiju i dalje održava akcije prikupljanja uzoraka za Hrvatski registar dobrovoljnih darivatelja krvotvornih matičnih stanica čime se povećavaju

šanse oboljelima za pronalazak podudarnog darivatelja i pomaže rad Banke krvi iz pupkovine Ana Rukavina.

U Hrvatski registar dobrovoljnih darivatelja krvotvornih matičnih stanica mogu se upisati sve zdrave osobe od 18 do 40 godina. Svi koji se do 40. rođendana upišu u Hrvatski registar mogu biti darivatelji koštane srži ili perifernih matičnih stanica do 65. godine života. Nakon popunjavanja pristupnice i zdravstvenog upitnika, daje se uzorak krvi (oko 7 ml) u epruvetu i predaje u Zavod za tipizaciju tkiva kako bi se odredili antigeni tkivne snošljivosti (18).

### 1.3. Transplantacija bubrega

Presadivanje bubrega metoda je kojom se zdravi bubreg kirurškim putem vadi iz tijela darivatelja i prenosi u tijelo primatelja gdje se smješta u donji dio trbušne šupljine primatelja (u zdjelicu). Krvne žile primatelja i krvne žile darivateljeva bubrega se spoje, a mokraćovod primateljeva bubrega ugradi u primateljev mjehur. Najčešće se "stari" bubrezi ne odstranjuju (Slika 15).



Slika 15. Transplantirani bubreg smješten ispod nefunkcionalnog bubrega

(izvor: <https://bs.wikipedia.org/wiki/Transplantacija> (19))

Nakon presađivanja potrebno je trajno uzimati imunosupresijsku terapiju kako bi se spriječilo odbacivanje darivateljeva bubrega. Darivatelj bubrega može biti umrla ili živa osoba. Živi darivatelji najčešće su krvno srodni ili nesrodni članovi obitelji bolesnika, ali to mogu biti i nesrodne osobe izvan obitelji koje imaju dobru podudarnost tkiva s bolesnikom. Darivatelji bubrega mogu nesmetano živjeti s preostalim bubregom. Druga je mogućnost da bolesnik prijavljen na listu čekanja dobije bubreg od preminulog darivatelja. Bubrezi živog darivatelja u prosjeku bolje i dulje funkcioniraju nego bubrezi umrlog darivatelja.

U usporedbi s presađivanjem bubrega umrlog darivatelja, presađivanje bubrega živog darivatelja ima kratkoročno i dugoročno bolji ishod. To je razumljivo jer je živi darivatelj zdrava osoba s potpuno urednom funkcijom bubrega, a umrli darivatelj često je osoba starije životne dobi koja je tijekom života možda bolovala od bolesti koje su oštetile krvne žile i bubrege (npr. povišeni krvni tlak). Također, dobrom ishodu presađivanja bubrega sa živog darivatelja pridonosi kratko vrijeme hladne ishemije koje je obično mnogo duže kada se presađuje bubreg od umrlog darivatelja i kada se bubreg mora transportirati do primatelja. Zatim, prednost je transplantacije sa živog darivatelja u mogućnosti planiranja najboljeg vremena koje odgovara svim sudionicima u zahvatu. Osim toga, operacija se može učiniti prije nego što se razviju simptomi i znakovi uremije i prije početka liječenja dijalizom (preemptivna transplantacija).

Živi darivatelj bubrega može ili ne mora biti u krvnom srodstvu s primateljem, tj. može biti riječ o srodnom ili nesrodnom darivatelju (bračni ili izvanbračni partner, očuh ili maćeha, prijatelj/prijateljica). U iznimnim slučajevima to može biti i emocionalno nepovezan darivatelj. Postoji također mogućnost neusmjerene transplantacije bubrega nesrodnog darivatelja, emocionalno nepovezanog s primateljem.

Živi darivatelj može biti prihvaćen tek nakon odobrenja Etičkog povjerenstva centra za transplantaciju, osim u slučaju kada je u prvom srodstvu (20).

### **1.3.1. Imunološka obrada primatelja i darivatelja bubrega**

Svi testovi koji se koriste prilikom imunološke obrade primatelja i darivatelja bubrega moraju se provoditi u skladu s važećim propisima Europske federacije za imunogenetiku (European Federation for Immunogenetics – EFI Standards for Histocompatibility Testing and Immunogenetics Testing, [www.efi.org](http://www.efi.org)) i Eurotransplanta (Eurotransplant Manual, Ch 10. Histocompatibility testing [www.eurotransplant.org](http://www.eurotransplant.org)).

Imunološku obradu primatelja za stavljanja na listu čekanja (HLA tipizacija, % PRA – Panel Reactive Antibody, specifičnost PRA) te za vrijeme dok se nalazi na listi čekanja (% PRA, specifičnost PRA) mora provoditi laboratorij koji ima valjanu akreditaciju Europske federacije za imunogenetiku (EFI akreditacija) za kategorije "Transplantacija organa – bubreg: tipizacija primatelja, probir antitijela, identifikacija antitijela". Iznimno, laboratorij bez valjane EFI akreditacije može provoditi imunološka testiranja bolesnika za listu čekanja, ali isključivo ako je zadovoljio kriterije nekog od certificiranih programa vanjske kontrole kvalitete. Rezultate imunološke obrade obvezan je dostaviti mjerodavnom akreditiranom laboratoriju Europske federacije za imunogenetiku gdje odgovorna osoba donosi odluku o tome prihvaćaju li se nalazi ili ih je potrebno ponoviti/potvrditi u akreditiranom laboratoriju Europske federacije za imunogenetiku.

Akreditirani laboratorij mora provoditi HLA tipizaciju darivatelja organa i rezultat prijavljivati laboratoriju Eurotransplanta (ETRL – Eurotransplant Reference Laboratory). Test križne reakcije mora provoditi i prijavljivati Eurotransplant-ovu laboratoriju koji ima valjanu akreditaciju Europske federacije za imunogenetiku za područje "Transplantacija organa – bubreg: cross match" (20).

### **1.3.2. Imunološka obrada primatelja**

Imunološka obrada primatelja obuhvaća pretrage pri prijavi na listu čekanja: HLA tipizacija, probir antitijela HLA (% PRA i specifičnost PRA), test autokrižane reakcije te pretrage dok je na listi čekanja: redovit tromjesečni probir antitijela HLA (% PRA i specifičnost PRA).

Svakog primatelja treba obvezno tipizirati za alele lokusa HLA-A, -B i DR. Metoda koja se primjenjuje za tipizaciju za alele lokusa HLA-A i B može biti serološka, a za tipizaciju lokusa HLA-DR obvezna je molekularna tipizacija što je i preporuka za određivanje alela lokusa HLA-C i DQ.

Kada je dokazana prisutnost HLA antitijela (kada je primatelj senzibiliziran), preporučuje se, ovisno o specifičnosti dokazanih antitijela, učiniti i molekularnu tipizaciju lokusa HLA-DQA, DPA i DPB te tipizaciju visokog razlučivanja (engl. *high resolution molecular typing*) za lokuse za koje je dokazana alel-specifična senzibilizacija (20).

### **1.3.3. HLA podudarnost i ishod transplantacije**

Premda su mišljenja o utjecaju HLA podudarnosti na ishod presatka neusklađena, prema mišljenju eksperata ERBP smjernica učinak HLA usklađivanja previše je važan da bi se zanemario. Osim toga, podatci iz Eurotransplanta pokazuju da podudarnosti u HLA lokusima, i to prije svega u HLA-DR, mogu dovesti do jednostavnije i pravednije alokacije bubrega. Stoga, prilikom odluke o prihvaćanju potencijalnog presatka treba s jedne strane izvagati moguće učinke HLA (ne)podudarnosti, a s druge čimbenike koji mogu utjecati na ishod transplantacije (vrijeme hladne ishemije, čekanje na listi za transplantaciju, moguće tehničke probleme povezane s dijalizom, nerazmjer između dobi i tjelesne veličine primatelja i darivatelja). Za mladog primatelja treba imati na umu mogućnost retransplantacije te bi trebalo izbjegavati HLA nepodudarnosti kako bi mogućnost senzibilizacije bila svedena na najmanju moguću mjeru (20).

### **1.3.4. Kada treba razmotriti mogućnost uzimanja obaju bubrega za jednog primatelja (engl. *dual kidney transplantation*)**

Prije nego što se odustane od uzimanja bubrega od umrlog darivatelja jer se čini da kakvoća bubrega ne odgovara za transplantaciju samo jednog bubrega (engl. *single kidney transplantation*) treba razmotriti mogućnost da se oba bubrega umrlog darivatelja presade jednom primatelju. ERBP smjernice sugeriraju da se u slučaju kada nije sigurno kakva je kakvoća bubrega umrlog darivatelja, odluku o tome da li odustati od uzimanja bubrega ili presaditi oba bubrega jednom primatelju ili ipak presaditi jedan bubreg jednom primatelju, treba temeljiti na kliničkoj procjeni i anamnezi primatelja i darivatelja i po mogućnosti na rezultatima prijetransplantacijske biopsije bubrega umrlog darivatelja.

U Hrvatskoj se rezultat biopsije evaluira prema Remuzzijevom bodovnom sustavu na osnovi kojega se zaključuje je li bubreg pogodan za pojedinačnu transplantaciju, treba li dva bubrega dati jednom primatelju ili treba odustati od transplantacije. U uzorku tkiva darivateljeva bubrega analiziraju se i boduju prisustvo glomeruloskleroze, fibroze intersticija, kronične upalne promjene intersticija, tubularne atrofije i promjene na krvnim žilama. Patohistološki nalaz bubrega sa zbrojem bodova od 0-3 pogodni su za transplantaciju jednoga bubrega, 4-6 za dvostruku transplantaciju bubrega, ako je zbroj veći od 6 bubrezi nisu pogodni za transplantaciju.

Što se tiče pedijatrijskog darivatelja, prije nego što se odustane od uzimanja bubrega zbog pretpostavke da zbog dobi bubrezi pedijatrijskog darivatelja imaju premali broj funkcionalnih nefrona potrebnih za presađivanje jednog bubrega jednom odraslom primatelju, treba razmotriti mogućnost transplantacije en bloc. Takva mogućnost zasniva se na pretpostavci da dva bubrega pedijatrijskog darivatelja imaju zajedno dovoljan broj funkcionalnih nefrona, tj. da taj broj odgovara broju nefrona standardnog bubrega. Prema dostupnim podacima dugoročno preživljenje i funkcija bubrega nakon en bloc transplantacije bolji su nego preživljenje bubrega darivatelja s proširenim kriterijima i standardnih bubrega, iako je mogućnost gubitka presatka u prvih 12 mjeseci nakon en bloc transplantacije veća zbog većeg rizika od tromboze. Prema ERBP smjericama mogućnost en bloc transplantacije treba razmotriti kada pedijatrijski darivatelj ima manje od 10 kg. Prema preporuci Europskog

urološkog društva (Grupa za transplantaciju bubrega) en bloc transplantaciju treba uzeti u razmatranje kada pedijatrijski darivatelj ima manje od 15 kg (20).

### **1.3.5. Obrada živog darivatelja**

Mogućim darivateljima treba preporučiti pridržavanje zdravih životnih navika, redovito vježbanje odnosno povećanje fizičke aktivnosti, i ako je relevantno, smanjenje tjelesne težine i prestanak pušenja.

U izravnom razgovoru s darivateljem trebalo bi razmotriti osobni rizik koji nosi darivanje bubrega uzimajući u obzir prilike u kojima se nalaze darivatelj i primatelj. Kako bi se izbjegla pristranost, bilo bi poželjno da darivatelja procjenjuje "neovisni" liječnik koji nije član transplantacijskog tima i koji se ne skrbi svakodnevno za primatelja. Osim toga, poželjno je da darivatelj razgovara sa psihologom.

U slučaju da se pojavi bilo kakva dvojba u vezi sa sigurnošću darivatelja, posebice ako je darivatelj mlađi, treba prekinuti postupak koji bi u konačnici doveo do darivanja. U slučaju da istodobno postoji više od jednog čimbenika rizika za darivanje (hipertenzija, pretilost, proteinurija, oštećena tolerancija glukoze, hematurija), od darivanja treba odustati (20).

### **1.3.6. Dodjela bubrega s umrlog darivatelja**

Hrvatska je članica Eurotransplanta od 2007. godine te kandidate za presađivanje bubrega na listu čekanja (jedinstvena baza podataka pri Eurotransplantu sa sjedištem u Leidenu, Nizozemska) upisuje isključivo ovlašteni liječnik nadležnog transplantacijskog centra. Postupak dodjele bubrega obavlja se putem računalnog programa Eurotransplanta u kojem se podatci darivatelja uparuju s podacima kandidata za presađivanje, prema međunarodno utvrđenim medicinskim i drugim kriterijima dodjele bubrega (vrijeme čekanja od početka dijalize, HLA podudarnost, stupanj hitnosti, međudržavni balans organa itd.). transplantacijski centar ne može utjecati na postupak dodjele bubrega (20).



### **1.3.7. Prednosti transplantacije**

Dijaliza u pravom smislu riječi zamjenjuje – nadomješta funkciju bubrega, no bolesniku sa završnim oštećenjem bubrega najbolju fizičku i psihičku rehabilitaciju bubrega omogućuje uspješno presađivanje bubrega, zatim učinkovita peritonejska dijaliza, a tek tada učinkovita hemodijaliza. Pesađivanje bubrega najučinkovitija je metoda nadomještanja bubrežne funkcije, a primjena suvremenih lijekova protiv odbacivanja omogućuje dobru prognozu preživljavanja bolesnika s presađenim bubregom. Uspješno presađivanje bubrega znatno pridonosi poboljšanju kvalitete života i smanjuje rizik od smrti u usporedbi s bolesnicima koji se liječe dijalizom. Neovisnost o dijalizi, sloboda kretanja, mogućnost povratka na radno mjesto i normalna tjelesna aktivnost samo su neke od prednosti transplantacije (20).

### **1.3.8. Kandidati za presađivanje**

Presađivanje bubrega metoda je izbora za liječenje bolesnika s terminalnim stadijem kroničnog bubrežnog zatajenja (TBZ). Svi bolesnici s terminalnim stadijem kroničnog zatajenja mogući su kandidati za presađivanje ako nemaju apsolutnih kontraindikacija. Svaki mogući kandidat mora dobiti sve potrebne informacije o presađivanju bubrega kako bi mogao donijeti odluku o liječenju presađivanjem bubrega. Svoju odluku izražava potpisivanjem obrasca o informiranom pristanku. Ako se bolesnik odluči za liječenje presađivanjem, treba, u dogovoru s liječnikom centra za dijalizu i nadležnim transplantacijskim centrom, obaviti detaljnu obradu i procjenu u svrhu prijave na listu čekanja. Nažalost, nisu svi bolesnici sa završnim oštećenjem funkcije bubrega kandidati za presađivanje bubrega. Za osobe u visokoj dobi, one koje imaju tešku bolest srca i/ili krvnih žila sigurnije je da nastave liječenje dijalizom.

Apsolutne kontraindikacije za presađivanje su proširena maligna bolest s predviđenim kratkim trajanjem života, HIV pozitivnost, aktivna infektivna bolest i/ili bilo koja bolest s očekivanim trajanjem života manjim od dvije godine.

Relativne kontraindikacije za presađivanje su infekcija, aktivni hepatitis, aktivna ulkusna bolest, periferna okluzivna arterijska bolest, aktivno konzumiranje opojnih tvari, slabo kontrolirana psihoza, dokazana nesuradnja bolesnika (20).

### **1.3.9. Postupak stavljanja na listu čekanja**

Prije upisa na listu čekanja, bolesnike sa završnim ili predzavršnim stadijem kroničnog oštećenja funkcije bubrega potrebno je opsežno i temeljito obraditi, što obuhvaća detaljnu anamnezu, fizikalni pregled, rutinske dijagnostičke pretrage te dodatne ciljane pretrage. Nadležni liječnik centra za dijalizu dogovorno upućuje bolesnika na dodatnu i/ili završnu obradu u nadležni transplantacijski centar. Pacijent može, iznimno od toga, odabrati drugi transplantacijski centar. O svakoj promjeni kliničkog statusa kandidata za presađivanje Centar za dijalizu obavezan je odmah obavijestiti nadležni transplantacijski centar telefonski, te putem pisanog obrasca. Posebno je važno izvijestiti o vraćanju iz statusa nepodoban za transplantaciju (NT) u status podoban za transplantaciju (T), odmah nakon otklanjanja relativne kontraindikacije za transplantaciju. Centri za dijalizu u suradnji s nadležnim transplantacijskim centrom obavezni su osigurati pravovremeni probir, obradu i pripremu svih kandidata za presađivanje, a sukladno Nacionalnim smjernicama za obradu, odabir i pripremu mogućih bubrežnih primatelja i darivatelja bubrežnog presatka.

Transplantacijski centri obvezni su osigurati prijam i obradu vanjskih pacijenata pripadajućih centara za dijalizu, sa svrhom upisa na listu čekanja, dinamikom koja jamči maksimalno skraćanje vremena obrade. Ovlašteni liječnik nadležnog transplantacijskog centra zadužen je za prijavu pacijenata na listu čekanja (Eurotransplant/ENIS sustav) kao i promjenu statusa pacijenta na listi čekanja, u uskoj suradnji s centrom za dijalizu (20).

### **1.3.10. Transplantacijski centri**

U Hrvatskoj se presađivanje bubrega može obaviti u četiri transplantacijska centra: KBC-u Zagreb, KBC-u Rijeka, KBC-u Osijek, KB-u Merkur Zagreb.

Transplantacijski centar je odgovoran za procjenu i pretransplantacijsku obradu kandidata za presađivanje, odobrenje etičkog povjerenstva u slučaju živog darivatelja organa, prijavu kandidata na listu čekanja (pri Eurotransplant-u), presađivanje i posttransplantacijsko liječenje, doživotno posttransplantacijsko praćenje darivatelja i primatelja bubrega, upisivanje u propisane Registre, edukaciju i psihološku potporu obitelji i pacijentu te darivatelju organa.

Iznimno od regionalne pripadnosti transplantacijskom centru, pacijent može odabrati centar u kojem će se transplantirati. Odabir centra ne utječe na vjerojatnost dobivanja bubrega.

Hrvatska ima jedinstvenu listu čekanja i jedinstveni bodovni sustav dodjele organa neovisno o mjestu presađivanja (20).

#### **1.4.GvHD (engl. Graft versus Host Disease)**

*Graft versus Host Disease* (GvHD) ili učinak presatka protiv primatelja najčešća je i najozbiljnija komplikacija koja može nastati nakon alogene transplantacije tkiva ili organa. Dijeli se u dvije skupine: akutnu i kroničnu. Prva je podjela rađena na temelju proteklog vremena nakon transplantacije. U slučaju razvijanja bolesti do stotog dana od transplantacije bolest je nazivana akutnom, a sve iza stotog dana, kroničnom. Danas je GvHD po simptomima i specifičnim znakovima podijeljen na akutnu i kroničnu.

GvHD nastaje pri nakupljanju upalnih citokina u bolešću uzrokovanom oštećenom tkivu. Posljedično tomu, u primatelja se aktiviraju antigen (Ag) – prezentirajuće stanice na koje zatim reagiraju T-limfociti darivatelja. Njihovo zajedničko djelovanje rezultira oštećenjem organa. GvHD može se pojaviti usprkos podvrgavanju primatelja imunosupresivnoj profilaksi i pronalasku kompatibilnog, odnosno HLA-identičnog srodnog davatelja. U slučaju apoptoze epitelnih stanica, koje su odgovorne za proliferaciju i regeneraciju tkiva, sa sigurnošću možemo ustanoviti GvHD. Na pogođenim tkivima i organima događa se pojava karakterističnih lezija nazvanih "satelitske nekroze stanica" (engl. *sattelite cell necrosis*).

Rizik pojave GvHD-a raste u slučaju nepodudarnosti primatelja i darivatelja; ako je primatelj homozigot za jedan HLA lokus, a darivatelj je heterozigot; ukoliko je darivateljica rodila više djece i ako je osoba starije životne dobi. Rizik ovisi i o tipu presatka pa tako transplantacija krvi iz pupkovine nosi niži, a transplantacija periferne krvi viši rizik za pojavu GvHD u usporedbi s transplantacijom koštane srži (16).

### **1.4.1. Akutna GvHD (aGvHD)**

Akutna GvHD zahvaća više organskih sustava. Prvi simptomi primjećuju se na koži i to kao makulopapilarni osip na dlanovima i tabanima. Lezije koje nastaju mogu svrbjeti i/ili biti bolne. Osip može zahvatiti cijelo tijelo te u najtežim slučajevima uzrokovati bolno ljuštenje kože. Prvi znaci širenja bolesti i uključenosti probavnog trakta su mučnina i vodenasti zeleni proljevi. Kod blažeg oblika bolesti, simptomi se manifestiraju u vidu anoreksije i mučnine bez proljeva te su lako izlječivi imunosupresivnom terapijom. U slučaju daljnjeg napretka bolesti, javljaju se jaki abdominalni bolovi i krvava dijareja, kao i veliki gubitak tekućine. Ostali simptomi su vrućica i gubitak težine.

Dvije su metode za utvrđivanje uznapređovalosti bolesti, a objema je temelj gradiranje, odnosno objektivna procjena funkcije organa. Nakon što se kod primatelja ustanovi GvHD, svaki se organ rangira na skali od 0 do 4. U obzir se uzimaju simptomi i koliko je pojedini organ zahvaćen, a zatim se iz toga izvodi ukupna ocjena pacijentova stanja. U slučaju ocjene 2 ili više, stanja se smatraju se klinički značajnim.

Do danas nije pronađeno najbolje rješenje za aGvHD. Kod kompatibilnih srodnih darivatelja kao najučinkovitija opcija pokazala se kombinacija inhibitora kalcineurina i metrotreksata. Osim preventivne terapije, pacijentima se daje i suportivna terapija čija je uloga pomoć organizmu u njegovu oporavku, kao i u borbi protiv infekcija (16).

### **1.4.2. Kronična GvHD (cGvHD)**

Pojava kronične GvHD najčešće je 3 godine nakon transplantacije KMS te je kao takva primarni uzrok kasnog obolijevanja i smrti kod transplantiranih osoba. Bolest se može ograničiti isključivo na pojedino tkivo ili organ, ili zahvatiti više njih.

Indikacije za ovu bolest jednake su kao i za aGvHD, a dodatan rizik predstavlja već preboljena aGvHD. Grčevi u mišićima, miositis, gubitak vida, bolesti pluća, kronične imunosupresije, poikiloderma, makulopapularni osip, depigmentacija kože i alopecija samo su neki od simptoma cGvHD. Česta je anoreksija, kao i strikture jednjaka. Simptomi su podijeljeni u 4 skupine: dijagnostički (na temelju kojih je moguće postavljanje dijagnoze),

karakteristični (na temelju kojih nije moguće postavljanje dijagnoze), ostali (nespecifični) i zajednički (nađeni i u aGvHD i cGvHD); a sve u svrhu lakšeg postavljanja dijagnoze. Nakon postavljene dijagnoze zahvaćenost organa gradira se na isti način kao i kod aGvHD.

Kombinacija kalcineurina i prednisolona jedina je uspješna terapija i kao takva koristi se već dulje vrijeme. U skladu s razvojem bolesti, moguće je povećavanje doze lijeka i dužine terapije. I u ovom slučaju, uz primarnu, pacijent treba primati i suportivnu terapiju (16).

### **1.5. Glavni sustav tkivne podudarnosti (engl. *Major Histocompatibility Complex, MHC*)**

Glavni sustav tkivne podudarnosti skupni je naziv gena čija je uloga kodiranje proteina smještenih na površini imunokompetentnih stanica. Navedeni geni prvo su pronađeni u miševima te im je dan naziv H-2. Njihova je glavna uloga predočavanje patogenih peptida stanicama obrambenog sustava domaćina.

Kod ljudi, ovi su antigeni najprije otkriveni na leukocitima, stoga im je dan naziv HLA sustav (engl. *Human Leukocyte Antigen*), odnosno humani leukocitni antigen. Daljnjim proučavanjem ovog sustava, antigeni su identificirani na gotovo svim stanicama u tijelu.

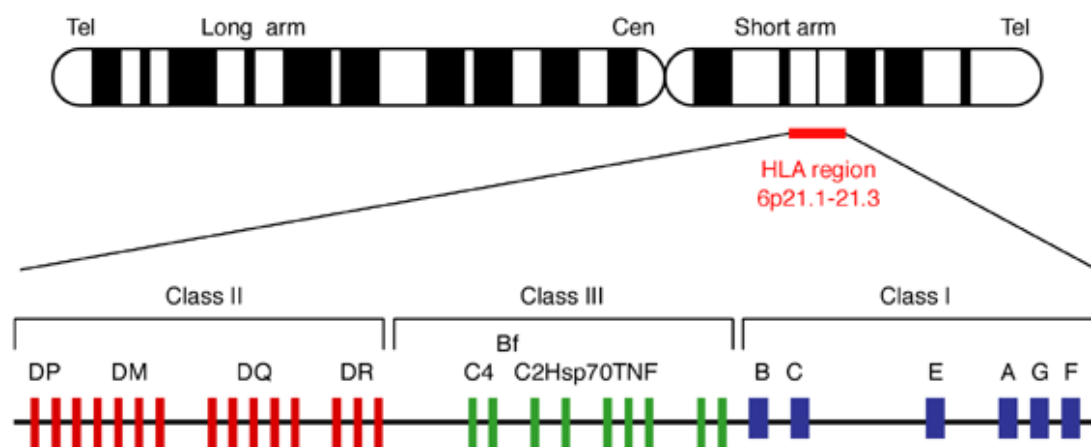
#### **1.5.1. HLA sustav**

Polimorfizam i poligenost najvažnija su svojstva HLA sustava. Ovaj je sustav najpolimorfiji genski sustav upravo zbog sadržaja velikog broja genskih produkata, što mu omogućuje prepoznavanje različitih patogena. Glavna značajka poligenosti je postojanje više razreda unutar jednog sustava, što omogućuje različite načine vezanja molekula na patogene peptide.

HLA sustav najsloženiji je genski sustav u čovjeka i posjeduje značajnu ulogu u regulaciji imunološkog odgovora. Molekule HLA predočuju vlastite i strane dijelove molekula citotoksičnim i pomoćničkim T-limfocitima te su glavni dio antigen-prezentirajućeg kompleksa na površini stanica. Što je podudaranje u HLA antigenima između darivatelja i primatelja veće, manja je mogućnost odbacivanja organa. Na taj način HLA sustav nosi

veliku ulogu i u transplantaciji KMS i organa. Osim toga, otkrivena je povezanost HLA gena i razvoja nekih autoimunih bolesti kao što su: celijakija, psorijaza, reumatoidni artritis i dr.

HLA sustav nalazi se na kraćem kraku šestog kromosoma (6p21) i sadrži otprilike  $4 \times 10^6$  parova baza DNA, a podijeljen je u tri razreda: HLA razred I, HLA razred II i HLA razred III (Slika 16) (21).



Slika 16. Položaj sustava HLA na kraćem kraku šestog kromosoma  
(izvor: Narinder, Gene map of the human leukocyte antigen (HLA) region (22))

Regija razreda HLA I smještena je telomerno i sadrži klasične i neklasične gene. Klasični geni (HLA-A, HLA-B i HLA-C) kodiraju teški lanac molekule razreda I. Neklasični geni (HLA-E, HLA-F i HLA-G) znatno su slabije polimorfni te imaju specifične funkcije.

Razred HLA II sadrži 6 podregija: HLA-DP, HLA-DR, HLA-DQ i HLA-DM koje su smještene centromerno. Svaka podregija sadrži A i B gene koji kodiraju  $\alpha$  i  $\beta$  lance. Podregije HLA -DP, -DQ i -DR kodiraju molekule HLA razreda koje se izražavaju na membrani stanica makrofaga, B-limfocita i dendritičkih stanica, odnosno antigen prezentirajućih stanica. HLA-DM, -DN I -DO kodiraju molekule koje se nalaze u citoplazmi.

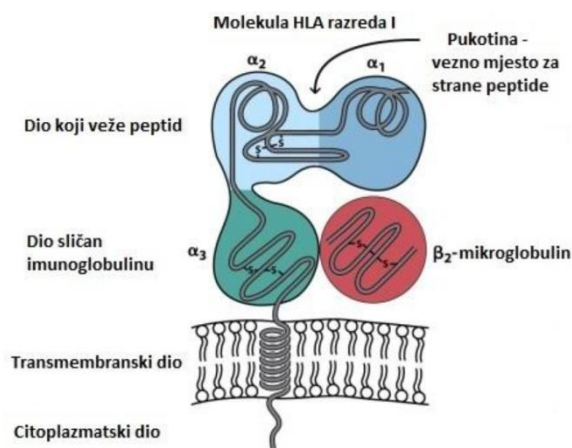
Regija HLA razreda III se naziva još i centralna regija. Ne kodira HLA molekule, ali sadrži gene za komponente komplementa (c2, c4, faktor B); citokine TNF- $\alpha$  i TNF- $\beta$  (engl. *Tumor Necrosis Factors*) te molekule čija uloga u imunološkoj reakciji još nije posve razjašnjena.

## 1.6. Građa i funkcija HLA molekula

### 1.6.1. HLA razred I

Molekule HLA razreda I nalaze se na gotovo svim stanicama s jezgrom. Građu molekula čine dva polipeptidna lanca međusobno povezana kovalentnim vezama. Molekule HLA –A, -B i –C kodiraju teški lanac  $\alpha$ , dok je laki lanac  $\beta_2$  mikroglobulin, kodiran genom na 15. kromosomu.

Strukturu molekule čine citoplazmatski, transmembranski i ekstracelularni dio. Na ekstracelularni dio vežu se strani antigeni, a sačinjen je od triju domena:  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  i  $\alpha_3$ . Četvrti dio čini  $\beta$  lanac čija je uloga isključivo učvršćivanje molekule.  $\alpha_1$  i  $\alpha_2$  domene čine najpolimorfiji dio molekule tvoreći pukotinu na koju se mogu vezati strani peptidi. Domena  $\alpha_3$  služi kao vezno mjesto i reagira sa staničnim receptorom za T-limfocite (Slika 17). Nakon razgrađivanja stranog antigena na manje peptide koje se odvija unutar stanice te sinteze molekule HLA, dio antigena veže se na pukotinu te biva prezentiran CD8+ citotoksičnim T limfocitima (Tc). Oni se određenim afinitetom vežu za strani antigen i za površinu HLA molekule. Na taj način, mehanizmom tzv. spregnutog prepoznavanja, molekule HLA razreda I predočuju unutarstanične antigene kao što su tumorski i virusni antigeni (23).



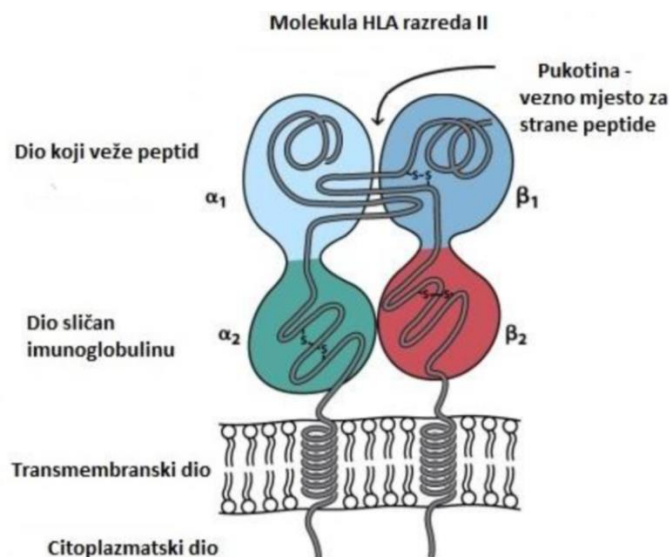
Slika 17. Shematski prikaz molekule HLA razreda I

(izvor: Kindt, Kuby Immunology (24))

## 1.6.2. HLA razred II

Molekule HLA razreda II nalaze se na makrofazima, dendritičkim stanicama i B-limfocitima (antigen prezentirajućim stanicama) te CD34+ pomoćničkim T-limfocitima (stanicama odgovornim za proizvodnju protutijela na odgovarajuće antigene). Građu molekule čine dva polipeptidna lanca povezana nekovalentnim vezama. Oba lanca kodirana su HLA molekulama, što čini razliku između molekula HLA razreda I.

Struktura gena molekula HLA razreda II slična je strukturi gena molekula HLA razreda I. Molekula HLA razreda II također je podijeljena na citoplazmatski, transmembranski te ekstracelularni dio.  $\alpha_1$  i  $\alpha_2$  te  $\beta_1$  i  $\beta_2$  domena čine ekstracelularni dio. Najpolimorfniji dio molekule je vanjska pukotina na koju se vežu strani peptidi, a sačinjena je od promjenjive  $\alpha_1$  i  $\beta_1$  domene (Slika 18). Krajevi pukotine otvoreni su kako bi se na njih mogli vezati peptidi.  $\alpha_2$  i  $\beta_2$  čine nepromjenjivu regiju te se na  $\beta_2$  dio vežu pomoćnički T-limfociti. Nakon ulaska stranih antigena u organizam, odvija se njihova fagocitoza do malih peptida. Istovremeno počinje sinteza HLA molekula čija je uloga vezanje stranog peptida te njegova predodžba antigen CD4+ pomoćničkim T-limfocitima (Th). Ovim mehanizmom molekule HLA razreda II predočuju vanstanične antigene (23).

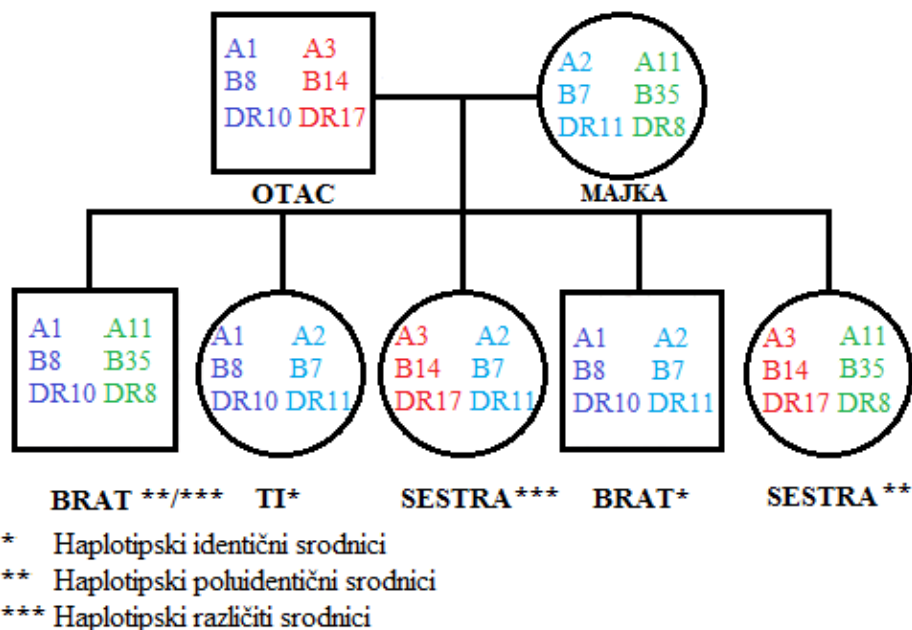


Slika 18. Shematski prikaz molekule HLA razreda II  
(izvor: Kindt, Kuby Immunology (24))



## 1.7. Nasljeđivanje HLA

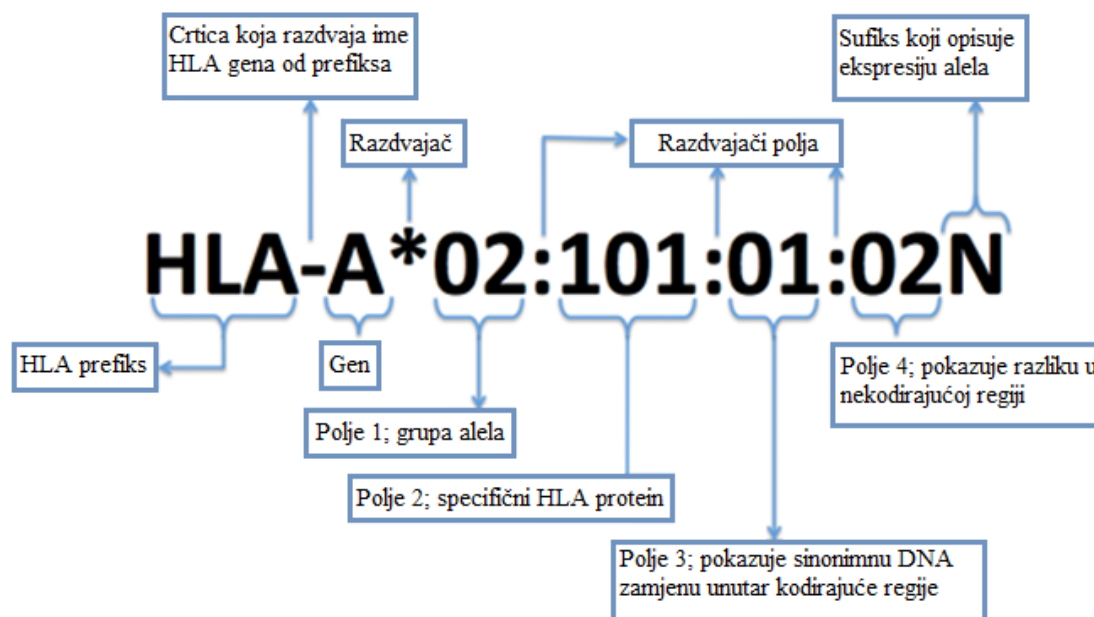
HLA geni nasljeđuju se od oba roditelja pri čemu se prate Mendelovi zakoni nasljeđivanja. Nasljeđivanje gena je kodominantno, što znači da dijete dobiva po jedan HLA haplotip (kombinacija gena na jednom kromosomu) od oba roditelja. Obzirom na mogućnost kombinacija HLA haplotipa među djecom, tri su moguća ishoda. Haplotipski identičnim srodnicima smatra se dvoje djece koja su naslijedila iste haplotipove od oba roditelja. HLA poluidentičnim srodnicima smatra se dvoje djece koja su od roditelja naslijedila samo jedan isti haplotip. U slučaju da nekome iz obitelji zatreba transplantacija KMS, najnepovoljnija mogućnost je ona u kojoj djeca naslijede različite gene od roditelja te kao takvi ne dijele isti HLA materijal (slika 19) (21).



Slika 19. Prikaz HLA haplotipova u obitelji

## 1.8. Nomenklatura gena i antigena HLA sustava

Odbor za nazivlje HLA sustava pod pokroviteljstvom Svjetske zdravstvene organizacije (engl. *The WHO Nomenclature Committee for Factors of The HLA System*) osnovan je 1968. godine i daje službena imena genima i antigenima sustava HLA. Svaki gen HLA sustava ima svoj jedinstven broj sastavljen od četiri seta znamenaka koje su odvojene dvotočkom. Svaki alel označava se s minimalno četiri broja, a dulji se nazivi dodjeljuju ukoliko je to potrebno. Brojevi prije prve dvotočke opisuju alel koji u najvećem broju slučajeva odgovara određenoj serološkoj specifičnosti, a dobiva se metodom niske rezolucije. Nakon prve dvotočke slijedi set brojeva koji opisuju podtipove nekog gena HLA, koji su dobiveni određivanjem uzorka metodom visoke rezolucije. Treće i četvrto polje sadrži brojeve koji označuju mutacije koje uzrokuju razlike između pojedinih alela, a mogu se nalaziti unutar kodirajuće ili nekodirajuće regije (Slika 20). Podtipovi su dobivali brojeve redom kako su im se određivali sljedovi DNA. Određeni aleli imaju sufiks koji opisuje ekspresiju tog alela (25).



Slika 20. Nomenklatura sustava HLA

(izvor: <https://hla.alleles.org/nomenclature/naming.html> (13))

## **1.9.Određivanje gena i antigena sustava HLA**

Nakon što se pronađe potencijalni darivatelj, sljedeći je korak određivanje gena i antigena HLA sustava te osobe. U idealnom bi slučaju podudarnost između primatelja i darivatelja trebala biti 10/10. Time se postiže najveća šansa za potpuni oporavak, a mogućnost komplikacija smanjuje se na minimum. Ukoliko je podudarnost manja (9/10 ili iznimno 8/10), transplantacija je moguća jedino u slučaju kritičnog stanja primatelja i potrebnom hitnom transplantacijom ili u slučaju da primatelj spada unutar malog postotka ljudi s određenim rijetkim genima i antigenima HLA sustava (15).

## **2. CILJ**

Cilj našeg rada je potreba za upoznavanjem i animiranjem što većeg broja osoba o darivanju tkiva i organa. Željelo se istaknuti da darivanje tkiva i organa ima prvenstveno altruističku podlogu, pomoć svim pacijentima koji su na listi čekanja za solidne organe, kao i pacijentima koji boluju od teških malignih bolesti. Ovim radom pokazano je da darivanje tkiva nema nikakve posljedice za samog darivatelja, budući je znano da je jedna od osobina KMS brzo obnavljanje i sva količina koja se uzima za liječenje teških hematoloških bolesti bude brzo nadoknađena te pacijent nakon uzimanja transplantata ide kući (nakon 2 do 3 dana). Željeli smo ovim radom potaknuti što veći broj ljudi da se uključi u darivateljstvo sa spoznajom da se bolest ne događa "nekom drugom", nego da smo svi jednako izloženi.

### 3. METODE

Metode koje koristimo u potvrdi identičnosti primatelja i darivatelja alela sustava HLA kao jednog od najvažnijih imunogenetičkih parametara u darivateljstvu su serološke metode (test mikrolimfocitotoksičnosti) i molekularne metode (PCR-SSP ili PCR-SSO). Najvažnije pravilo je što bolja podudarnost alela sustava HLA između primatelja i darivatelja ako govorimo o solidnim organima, odnosno potpuna identičnost kod transplantacije KMS.

#### 3.1. Serološka metoda

Serološkim testiranjem ili testom mikrolimfocitotoksičnosti (MLCT, engl. *microlymphocitotoxicity test*) određuju se antigeni sustava HLA razreda I i II. Temelj testa je reakcija između poznatih protutijela i antigena koji su smješteni na pacijentovim limfocitima te aktiviranje komplementa kao posljedica navedene reakcije. Izvor poznatih poliklonskih protutijela je serum aloimuniziranih žena koje imaju više djece, a za dobivanje monoklonskih protutijela koriste se imunizirani miševi. Poliklonska protutijela određuju se korištenjem već poznatih HLA antigena.

Nakon dodavanja pacijentovog seruma poznatim protutijelima, nastaje reakcija poznatih protutijela sa antigenima u serumu. U slučaju komplementarnosti protutijela i antigena, nastaje kompleks antigen-antitijelo i obratno – ukoliko protutijelo i antigeni nisu komplementarni, izostaje nastanak kompleksa. Za određivanje količine i vrste antigena koji je sudjelovao u reakciji vezanja na protutijelo, vezana protutijela potrebno je označiti. Dodavanjem antihumanog komplementa, čija je uloga vezanje na protutijelo koje se nalazi u kompleksu antigen-protutijelo, postiže se gore navedeno potrebno označavanje protutijela. Stanična liza/liziranje stanice posljedica je oštećenja membrane komplementom. Stanica biva obojena, što se vidi pod mikroskopom i to je znak da je rezultat pozitivan. U slučaju nestvaranja kompleksa antigen-antitijelo, izostaje vezanje komplementa na kompleks i posljedično obojenje stanice te je takav rezultat negativan.

## 3.2. Molekularne metode

Molekularno testiranje omogućuje određivanje alela sustava HLA većom rezolucijom. Samim time, dobiveni rezultati testova potrebnih za transplantaciju su pouzdaniji.

Dvije su molekularne metode određivanja alela HLA sustava kod ljudi: PCR-SSO (engl. *Polymerase chain reaction-Sequence Specific Oligonucleotids*) i PCR-SSP (engl. *Polymerase chain reaction-Sequence Specific Primer*) metoda.

U obama testovima uzorak je pacijentova izolirana DNA. Iz 2 ml periferne krvi s EDTA kao antikoagulansom potrebno je izolirati DNA. Izolacija se izvodi kroz nekoliko koraka, a sam proces ne bi bio moguć bez kit-a za izolaciju. Prvi korak sastoji se od dodavanja proteinaze K čija je uloga razgrađivanje proteina te posljedično oslobađanje DNA iz stanične jezgre. Nakon toga se molekula DNA eluira etanolom kako bi se spriječio njen prolazak kroz membranu. Potom se vrši niz ispiranja različitim reagensima s ciljem dobivanja čiste DNA molekule koja će biti pogodna za daljnja testiranja.

### 3.2.1. PCR-SSO

Temelj ove metode je specifično vezanje amplificiranog DNA produkta iz uzorka za mikrosfere. Mikrosfere su sintetski dobivene čestice na čijoj su površini smještene specifične oligonukleotidne probe, odnosno specifični sljedovi DNA pomoću kojih se ispituje prisutnost ili odsutnost određenog HLA lokusa u uzorku, a obojane su kombinacijom crvene i infracrvene boje. Za očitovanje rezultata nastalih kompleksa koristi se uređaj Luminex (Luminex LX200 Analyser) koji, koristeći princip protočne citometrije, mikrosfere jednu po jednu dovodi do lasera. Različita kombinacija boja prisutna na svakoj mikrosferi uz korištenje dva lasera omogućava identifikaciju svake mikrosfere. Jedan laser klasificira mikrosferu i određuje probu koja se vezala, dok drugi kvantificira relativnu količinu vezane probe na svakoj pojedinoj mikrosferi te se na temelju toga očitava rezultat (25).

### **3.2.2. PCR-SSP**

Temelj ove metode je komplementarnost oligonukleotidnih primera s pojedinačnim alelom ili grupom alela, ovisno o rezoluciji koja se testom zahtjeva. U slučaju neodgovarajućih početnica, amplifikacija DNA se ne odvija i rezultat testa je negativan. Amplifikacijom DNA na odgovarajuće početnice dobiva se pozitivan rezultat testa. Ovakva vrsta molekularne metode zahtjeva i izvedbu gel elektroforeze. Postupak je to u kojem nastali amplificirani DNA produkt putuje kroz gel te se na temelju duljine fragmenta očitava rezultat.

## 4. RASPRAVA

Transplantacija KMS i organa kao metoda liječenja u prošlosti je rijetko korištena zbog velikog broja mogućih komplikacija i visoke smrtnosti pacijenta. Otkrićem HLA sustava ostvaruje se značajan napredak te transplantacija postaje prvi izbor u liječenju hematoloških i nehematoloških bolesti. Određivanjem HLA gena postavljeni su kriteriji za odabir potencijalnog davatelja, a kao rezultat imamo sve više uspješnih transplantacija, a sve manje smrtnih slučajeva. Razvoj metoda molekularne biologije unaprijedio je i olakšao sam proces određivanja gena i antigena sustava HLA, prikupljanje transplantata i na posljepku same transplantacije.

Najveći dio ovog rada posvećen je osvještavanju ljudi o važnosti i ljepoti transplantacije. Činjenici da se bolest ne događa "nekom drugom" nego da smo svi jednako izloženi i da danas zdrav čovjek već sutra se može naći na listi čekanja. Većina zemalja bori se s nedostatnim brojem organa za presađivanje. Potrebe uglavnom uvelike premašuju broj prikupljenih organa, stoga je potrebno unaprijediti i poboljšati sadašnje stanje. Velika prepreka za uspješnost transplantacijskog liječenja svakako je protivljenje obitelji za uzimanje organa. Uloga nas, kao zdravstvenih djelatnika, ali i raznih organizacija je poticanje svakog pojedinca na razmišljanje o darivanju organa te pružanje temeljnih znanja. Edukacija stanovništva o moždanoj smrti omogućuje izgradnju stava na kojem se temelji opredijeljenost ili protivljenje darivanju organa. Imajući stav o tome, uvelike se olakšava donošenje odluke u danom trenutku. Treba imati na umu da poštujući stav i odluku pokojnika, poštuje se i njega samoga. Na taj način omogućujemo opredijeljenost cijelog društva da sudjeluje i da svoj doprinos u transplantacijskom liječenju. Darivanje organa najplemenitiji je i najuzvišeniji čin ljudske dobrote. I sam papa Ivan Pavao II. izjavio je da "Sve što može poslužiti živomu, grijeh je pokopati".

Lijek je u nama, baš kao što glasi i jedna od kampanja Zaklade Ana Rukavina. Ono što imamo u sebi, drugome može spasiti život. Od darivateljstva nas dijeli samo informirani pristanak, pristupnica i uzorak krvi, a osjećaj koji će nas obuzeti u slučaju da se ostvarimo kao darivatelji i time spasimo bar jedan život, najveća je moguća zahvala. Stoga, ne budimo promatrači koji pitaju "Zašto?", nego sudjelujmo i pitajmo se "Zašto ne?".



## 5. ZAKLJUČAK

1. Transplantacija tkiva i organa metoda je liječenja malignih i ne-malignih oboljenja, kao i u slučaju nepovratnog zatajenja funkcije organa.
2. Krvotvorne matične stanice (KMS) pluripotentne su matične stanice s mogućnošću obnavljanja i proliferacije, a izvor im je koštana srž, periferna krv te pupkovina.
3. Tri su načina transplantacije krvotvornih matičnih stanica: alogena, autologna te transplantacija KMS iz krvi pupkovine.
4. Rad Zaklade Ana Rukavina i Hrvatskog registra dobrovoljnih darivatelja krvotvornih matičnih stanica najbolji je primjer važnosti darivateljstva.
5. Darivatelj organa može biti živa ili umrla osoba, imajući na umu da jedan život može spasiti njih pet.
6. Jedan od najvažnijih parametara u darivateljstvu je identičnost alela sustava HLA primatelja i darivatelja koje određujemo i potvrđujemo serološkim i molekularnim metodama.

## 6. LITERATURA

1. Montgomery RA, Simpkins CE, Segev, DL. New options for patients with donor incompatibilities. *Transplantation*; 2006., 82: 164-165.
2. <http://www.hdm.hr/hdm/>.
3. Magee CC, Mah H, Tinckam K, Wood I, Ji F, Powelson J. Successful living donor kidney transplantation across HLA and ABO incompatibilities. *Nephrol Dial Transplant*; 2007., 22:602-604.
4. Rajagopalan S, Long EO. Understanding how combinations of HLA and KIR genes influence disease. *J Exp Med*; 2005., 201(7): 1025-1029.
5. <http://www.biosave.hr/>.
6. Copelan EA. Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *N Engl J Med*; 2006., 354: 1813-1826.
7. Armson BA, Allan DS, Casper RF. Umbilical Cord Blood: Counselling, Collection, and Banking. *J Obstet Gynaecol Can*; 2015., 37(9): 832-846.
8. Krans, B. Bone Marrow Transplant. *Healthline*; 2016.
9. Labar B, Hauptmann E i sur. Hematologija. Zagreb: Školska knjiga; 2007.
10. Ballen KK, Gluckman E, Broxmeyer, HE. Umbilical cord blood transplantation: the first 25 years and beyond. *Blood*; 2013., 122: 491-498.
11. Sertić J i sur. Klinička kemija i molekularna dijagnostika: Laboratorijski aspekti transplantacije krvotvornih matičnih stanica. Zagreb: Medicinska naklada; 2008., 19: 218-224.
12. Heinemann FM. HLA Genotyping and Antibody Characterization Using the Luminex™ Multiplex Technology. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*; 2009., 36(4): 273-278.
13. <https://hla.alleles.org/nomenclature/naming.html>.
14. Grubić Z, Janković KS, Maskalan M, Serventi-Seiwerth R, Mikulić M, Kamenarić MB i sur. HLA allele and haplotype polymorphisms among Croatian patients in an unrelated hematopoietic stem cell donor search program. *Transpl Immunol*; 2014., 31(3): 119-124.
15. Serventi-Seiwerth R, Mikulić M, Mrić M, Grubić Z, Bojanić I, Štingl K i sur. Transplantacija alogenihi krvotvornih matičnih stanica od HLA podudarnog nesrodnog darivatelja. *Medicina Fluminensis*; 2011., 381-387.
16. Devergie A. Graft versus host disease. *The EMBT handbook*; 2008., 11: 218-231.

17. Kolb HJ. Graft-versus-leukemia effects og transplantation and donor lymphocytes. *Blood*; 2008., 112: 4371-4383.
18. <https://zaklada-ana-rukavina.hr/>.
19. <https://bs.wikipedia.org/wiki/Transplantacija>.
20. Nacionalne smjernice za obradu i procjenu primatelja i darivatelja bubrega. Ministarstvo zdravlja Republike Hrvatske; 2014.
21. Choo, SY. The HLA system: genetics, immunology, clinical testing, and clinical implications. *Yonsei Medical Journal*; 2007., 48(1): 11-23.
22. Narinder KM, Gurvinder K. Gene map of the human leukocyte antigen (HLA) region. *Cambridge University Press*; 2003.
23. Andreis I, Batinić D, Čulo F, Grčević D, Marušić M, Lukinović-Škudar V i sur. *Imunologija*. Zagreb: Medicinska naklada; 2010.
24. Kindt TJ, Osborne BA, Goldsby, RA. *Kuby Immunology*. New York : Freeman, W.H. & Company; 2006.
25. Marsh SGE, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA i sur. Nomenclature for factors of the HLA system 2010. *Tissue Antigens*; 2010., 75(4): 291-455.

## 7. SAŽETAK

**Uvod:** Transplantacija tkiva i organa sve je češća metoda liječenja, ali potrebe nadilaze dostupna tkiva i organe. Krvotvorne matične stanice su samoobnovljive, a služe kao ishodište svim krvnim stanicama organizma. Darivateljstvo je potpuno besplatno i bezopasno i na taj se uzvišeni čin možemo odlučiti u bilo kom trenutku. Prije same transplantacije potrebno je odrediti alele sustava HLA primatelja i darivatelja.

**Cilj:** Cilj ovog rada bio je upoznavanje i osvještavanje ljudi o važnosti i ljepoti darivateljstva u transplantaciji tkiva i organa.

**Materijali i metode:** Metode koje se koriste za određivanje alela sustava HLA primatelja i darivatelja su serološke (test mikrolimfocitotoksičnosti) i molekularne (PCR-SSO i PCR-SSP) metode.

**Rasprava:** Hematološke su bolesti, nažalost, sve učestalije, ali i potrebe za organima uvelike premašuju broj prikupljenih, stoga je nužno osvijestiti i educirati stanovništvo o darivateljstvu i transplantaciji.

**Ključne riječi:** transplantacija tkiva i organa, darivateljstvo, krvotvorne matične stanice, HLA sustav.

## 8. SUMMARY

**Introduction:** Tissue and organ transplantation is an increasingly common method of treatment. However, the needs go beyond available tissues and organs. Hematopoietic stem cells are self-renewing and serve as the origin of all blood cells in the body. The donation is completely free and safe and we can decide for that generous act at any time. It is necessary to determine the alleles of HLA system of recipients and donors before the transplantation.

**Goal:** The aim of this thesis was to introduce and aware people about importance and beauty of the donation of tissue and organ transplantation.

**Materials and methods:** The methods which are used to determine alleles of HLA system of recipient and donor are serological method (microlymphocitotoxicity test) and the molecular biology methods (PCR-SSO i PCR-SSP).

**Discussion:** Hematological diseases are becoming more common and also the need for organs is growing. Therefore, it is necessary to raise awareness and educate the population about donation and transplantation.

**Key words:** tissue and organ transplantation, donation, hematopoietic stem cells, HLA system.

## 9. ŽIVOTOPIS

### OPĆI PODACI

**Ime i prezime:** Ivana Perković

**Datum i mjesto rođenja:** 8.9.1996.

**Adresa:** Čista Velika I 86A, 22213 Pirovac

**Telefon:** 022 489 301

**Mobitel:** 091 785 3998

**E-mail adresa:** [ivannaperkovic@gmail.com](mailto:ivannaperkovic@gmail.com)

### OBRAZOVANJE:

2003.-2011. Osnovna škola Čista Velika, Čista Velika

2011.-2015. Medicinska škola Šibenik, Šibenik; smjer: farmaceutski tehničar

2017.-2020. Sveučilišni odjel zdravstvenih studija, Split; smjer: Medicinsko laboratorijska dijagnostika