

HRVATSKA AKADEMIJA ZNANOSTI I UMJETNOSTI
Zavod za biomedicinske znanosti u Rijeci

KLINIČKI BOLNIČKI CENTAR RIJEKA
MEDICINSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U RIJECI
HRVATSKI LIJEČNIČKI ZBOR – podružnica Rijeka


14. znanstvena tribina
**ZNAČAJ TRANSFUZIJSKE MEDICINE U
KLINIČKOJ PRAKSI**

POVODOM 30. OBLJETNICE OSNUTKA ZAVODA ZA
TRANSFUZIJSKU MEDICINU KBC RIJEKA



29. lipnja 2017.
u 12,00 sati

Sveučilišni kampus, Sveučilišni Odjeli, Dvorana O-030, Radmile Matejčić 2, Rijeka

Podržano od:  **medical intertrade**

Registracija sudionika: 11,30 – 12,00

Ulaz je slobodan, a sudionici koji žele potvrđnicu HLK o sudjelovanju trebaju se registrirati. Sudjelovanje na simpoziju vrednovat će se prema Pravilniku Hrvatske liječničke komore. **Parkiranje je besplatno** i osigurano u garaži Studentskog centra Rijeka, Radmile Matejčić 5.

Informacije

Sidonija Borovac, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu, KBC Rijeka, Cambierieva 17,
Rijeka;

tel. 051 658-354; e-pošta: transfuzija@kbc-rijeka.hr

Željana Mikovčić, Zavod za biomedicinske znanosti u Rijeci,
Radmile Matejčić 2, Rijeka; tel. 051 584 826, e-pošta: rimered@hazu.hr

PROGRAM

OTVORENJE (12,00 – 12,30)

Uvodno slovo

Akademik Daniel Rukavina, voditelj Zavoda za biomedicinske znanosti u Rijeci, Rijeka

Riječ organizatora

Prof. dr. sc. Sanja Balen, KBC Rijeka i Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

Pozdravi uzvanika

Prof. dr. sc. Davor Štimac, ravnatelj Kliničkog bolničkog centra u Rijeci, Rijeka

Prof. dr. sc. Tomislav Rukavina, dekan Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

Prof. dr. sc. Snježana Prijčić Samaržija, rektorica Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

Mr. sc. Vojko Obersnel, gradonačelnik grada Rijeke

Zlatko Komadina, župan Primorsko – goranske županije

12,30 – 15,30 h

Predsjedaju: Irena Jukić i Marina Samardžija

Prof. dr. sc. Sanja Balen, KBC Rijeka i Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka
Transfuzijska medicina: jučer, danas, sutra

Doc. dr. sc. Irena Jukić, Hrvatski Zavod za transfuzijsku medicinu, Zagreb
Okрупnjavanje službe kao temelj sigurnosti transfuzijskog liječenja u RH

Stanka za kavu : 13:30 -14:00 h

Prof. dr. sc. Marina Samardžija, KBC Osijek i Medicinski fakultet Sveučilišta u Osijeku, Osijek

Značenje genskih polimorfizama u individualizaciji terapije varfarinom

Prof. dr. sc. Blanka Vidan Jeras, Centar za tipizaciju tkiva Zavoda Republike Slovenije, Ljubljana, Slovenija

Imunološki odgovor primatelja na nepodudarne tkivne antigene davatelja bubrega

Mr. sc. Nataša Katalinić, KBC Rijeka i Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka
Uloga povijesnog razvoja u upravljanju metodama tipizacije tkiva u Rijeci

15,30 – 15,45 h

II. OPĆA RASPRAVA

Moderatorica: Prof. dr. sc. Sanja Balen

Znanstveni odbor

Daniel Rukavina, predsjednik

Sanja Balen, Davor Štimac

Organizacijski odbor

Sanja Balen, predsjednica

Irena Jukić, Gordan Gulan

Transfuzijska medicina: jučer, danas, sutra

Prof. dr. sc. Sanja Balen

KBC Rijeka i Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

Transfuzijska medicina je specifična kliničko-laboratorijska i proizvodna djelatnost koja sjedinjuje medicinu, biotehnologiju, farmaciju, znanost i društvenu zajednicu u cjelini. Transfuzijska medicina zauzima sve značajniji segment u cjelokupnoj zdravstvenoj skrbi za bolesnika jer zadire u gotovo sve kliničke grane. Obuhvaća čitav niz aktivnosti od osiguranja dostatnih zaliha kvalitetnih, učinkovitih i neškodljivih krvnih pripravaka, dobre laboratorijske prakse, sustava kvalitete, kliničke transfuzijske prakse zasnovane na dokazima, dijagnostike krvlju prenosivih bolesti, laboratorijske dijagnostike hemostaze, HLA tipizacije tkiva i transplantacije krvotvornih matičnih stanica. Transfuzijsku medicinu ne možemo potpuno shvatiti ukoliko se bar ukratko ne osvrnemo na njen razvoj kroz povijest. Prvi povijesni pokušaj transfuzije krvi opisao je kroničar Stefano Infessura navodeći kako je 1492. godine, po preporuci liječnika, papi Inocentu VIII dana krv trojice dječaka koji su kasnije umrli. Priča je često opovrgavana, a Infessura optuživan za antipapizam. Podaci o prvoj pravoj, direktnoj transfuziji ljudske krvi vezani su uz ime Jamesa Blundella britanskog opstretičara, koji 11. prosinca 1818. izvodi prvu uspješnu transfuziju krvi, o čemu izvještava Medicinsko-kirurško društvo u Londonu. Mada je on došao do važnih opažanja vezanih uz transfuzijsko liječenje, pokušaji transfuzija krvi su u 19. stoljeću bili rijetki. Nepoznavanje krvnih grupa vodilo je teškim poslije transfuzijskim hemolitičkim reakcijama sa smrtnim ishodom. Nepostojanje aseptičkih tehnika pogodovalo je bakterijskim infekcijama, a problem je predstavljalo i zgrušavanje krvi, pa su se prve transfuzije morale vršiti izravno iz vene davatelja krvi u venu primatelja. Suvremena era u transfuzijskoj medicini započinje velikim otkrićem Karla Landsteinerja koji 1900. god. otkriva u krvi čovjeka izohemaglutinine odnosno krvne grupe A, B i O za što 30 godina kasnije dobiva Nobelovu nagradu. Godinu dana kasnije njegovi suradnici Decastello i Sturli objavljuju otkriće AB grupe. Nakon toga slijedi eksplozija otkrića koja su dovela do znatnog unaprjeđenja transfuzijskog liječenja. Godine 1907. Hecten shvaća važnost krvnih grupa za sigurnost transfuzije i preporuča prije transfuzije učiniti križnu probu između krvi davatelja i primatelja. Iste godine Ottenberg provodi prvo prije transfuzijsko ispitivanje in vitro. Do novog napretka dovodi istovremeno otkriće trojice liječnika iz različitih zemalja, Hustin (Belgija), Lewisohn (SAD) i Agote (Argentina) da dodavanje natrijevog citrata u krv može spriječiti zgrušavanje što omogućava čuvanje krvi izvan tijela, davanje konzervirane krvi i stvaranje prvih „skladišta za krv“ u 1. svjetskom ratu (zaslužan medicinski istraživač O.H. Robertson). Time je stvoren čvrsti temelj za daljnji razvoj transfuzije i otvaranje prvih transfuzijskih jedinica. Može se reći da je to bilo uzbudljivo razdoblje istraživanja i pokušaja u kojem su stvoreni preduvjeti za kasniji razvoj transfuzijske medicine. Transfuzijska se medicina svakako može svrstati među najmlađe medicinske struke. Nove znanstvene spoznaje, razvoj medicinske znanosti i biotehnologija, starenje populacije i povećan pobol od kroničnih bolesti nameću potrebu za reorganizacijom čitavog zdravstvenog sustava, uključivši i transfuzijsku

medicinu. Danas, na pragu 21. stoljeća, u žarištu interesa su etička, edukacijska i organizacijska pitanja koja se međusobno preklapaju. Vizija kojoj teži transfuzijska medicina 21. stoljeća je uspostava sigurnog, kvalitetnog, učinkovitog i ekonomičnog transfuzijskog liječenja uz razvijanje strategije smanjenja i izbjegavanja nepotrebnog i neopravdanog transfuzijskog liječenja te primjenu alternativa alogenoj krvi. Apsolutna sigurnost transfuzijskog liječenja do danas nije postignuta i još uvijek predstavlja jedan od najvećih izazova. Veliki se naponi ulažu u istraživanje „umjetne“ krvi no čini se da prihvatljivog rješenja još uvijek nema. Posljednjih 100 godina transfuzijska se medicina razvijala munjevito. Što nam nosi budućnost?

Okupnjavanje službe kao temelj sigurnosti transfuzijskog liječenja u RH

Doc. dr. sc. Irena Jukić

Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

Kvaliteta i sigurnost transfuzijskog liječenja uvelike zavise o organizaciji nacionalne transfuzijske službe, a okvir organizacije definiraju suglasno transfuzijska struka i nadređene institucije. Svi postupci utemeljeni su na legislativi usklađenoj na europskim direktivama.

Ciljevi okupnjavanja su jasno definirani:

1. ujednačena sigurnost i kvaliteta krvnih pripravaka u cijeloj Hrvatskoj na razini sigurnosti
2. postignutoj u Europskoj zajednici ili postizanje najvišeg prihvatljivog standarda glede sigurnosti davatelja i bolesnika, uzimanja krvi, pripreme krvnih pripravaka, testiranja i transfuzijskog liječenja;
3. dostatna opskrba i samodostatnost sigurnim i kvalitetnim krvnim pripravcima i uslugama u
4. cijeloj Hrvatskoj tijekom cijele godine, uz slobodnu razmjenu među transfuzijskim centrima;
5. ekonomičnost rada i korištenja krvnih pripravaka i usluga;
6. standardizacija transfuzijskog liječenja

Povezivanje u nacionalni informatički program bio je nedjeljivi dio okupnjavanja transfuzijskih centara i bilo je savršeno vrijeme usklađivanja ovih kompatibilnih postupaka. Svi koraci bili su dobro planirani, u usklađenom vremenskom hodogramu kako bi konačan rezultat bio značajno povećanje sigurnosti i transfuzijskog liječenja na nacionalnoj razini. Prednosti povezanosti su u stručnom, ali i ekonomskom pogledu neprocjenjive jer su svi potrebni podaci o svim darivateljima krvi dostupni u svim transfuzijskim jedinicama (sukladno razini ovlaštenja djelatnika), racionalnije je upravljanje zalihama krvnih pripravaka, smanjen je „otpis“ krvnih pripravaka, nesmetana razmjena krvnih pripravaka između centara, standardizirana je proizvodnja, smanjeno je ponavljanje testiranja, uvedena kontrola i osiguranje kvalitete na nacionalnoj razini. Kompjuterska blokada izdavanja u slučaju nesukladnosti koja se odnosi na određenu dozu krvi važna je mjera sigurnosti prije izdavanja krvnog pripravka. Sve propisane postupke trebamo poštivati i nadzirati kako bi osigurali što učinkovitije liječenje bolesnika i smanjili

rizik transfuzijskog liječenja. Unatoč svim našim nastojanjima i znanjima taj rizik nikada neće biti „nula“ jer je krvni pripravak lijek koji se proizvodi od biološki varijabilnog „ulaznog materijala“. Proizvodnja i čuvanje utječu i na varijabilnost završnog proizvoda, a nije moguće iskontrolirati stabilnost, djelotvornost, količinu aktivne supstance kao niti neškodljivost i sterilnost svake pojedine doze krvi. Sve ove aktivnosti dovode do smanjenje ukupnih troškova transfuzijskog liječenja, ali i povećanje kvalitete i sigurnosti transfuzijskog liječenja. Dodatnu sigurnost ovog liječenja omogućava veća angažiranost educiranog kadra koji je ranije radio preširoki raspon poslova, a sada je usmjeren na kliničku transfuzijsku praksu (aktivnije sudjelovanje u kliničkim konzultacijama glede transfuzijskog liječenja, prijetransfuzijsko ispitivanje, poremećaji koagulacije, nadzor nad transfuzijskim liječenjem,...). Liječnik transfuziolog, voditelj bolničke transfuzijske jedinice može pružati specijalističke konzultacije tijekom 24 sata. Okrupnjavanje transfuzijske službe već je polučilo vidljive i mjerljive rezultate od povećanja broja prikupljenih doza krvi do boljeg nadzora transfuzijskog liječenja. Koncentriramo znanje, usmjeravamo se na specifična područja, razmjenjujemo iskustva i surađujemo i usklađujemo rad cijele službe na razinu koja maksimalno garantira učinkovitost i sigurnost transfuzijskog liječenja.

Značenje genskih polimorfizama u individualizaciji terapije varfarinom

Prof. dr. sc. Marina Samardžija

Klinički bolnički centar Osijek; Medicinski fakultet Sveučilšta u Osijeku, Osijek

Neupitna je spoznaja da je u zadnjih dvadesetak godina farmakogenetika privukla pozornost kao znanstvena disciplina koja može pridonijeti boljoj zdravstvenoj skrbi bolesnika. Farmakogenetika je novija grana farmakoloških znanosti koja proučava vezu između genetske predispozicije neke osobe i njezine sposobnosti da metabolizira farmakološki aktivne tvari. Razlike u metabolizmu lijeka i odgovora na lijek, između dviju osoba s istom dozom i istom tjelesnom masom, mogu biti izazvane uzrocima kao što je prolazna inhibicija i indukcija enzima ili trajnim uzrocima kao što je genska mutacija, delecija ili amplifikacija gena. Osnovni je zadatak farmakogenetike identificirati individualne varijacije u odgovoru na egzogene supstancije. Ove razlike u metabolizmu pri primjeni standardne doze lijeka mogu dovesti do izražene toksičnosti ili terapijskog neuspjeha zbog promijenjenog odnosa doze i koncentracije farmakološki aktivne tvari. Od svih je potencijalno rizičnih čimbenika za nedjelotvornost lijeka ili njegovu toksičnost najznačajnije nasljeđe. Za gen kažemo da je polimorfan ako varijacija gena postoji u normalnoj populaciji u frekvenciji većoj od 1%. Geni su funkcionalno polimorfni kada su alelne varijante postojane u populaciji, jedna ili više, i mijenjaju aktivnost kodiranog proteina u odnosu na divlji (normalni) tip. Na temelju se sposobnosti metaboliziranja lijekova genski polimorfizam povezuje s tri vrste fenotipa (ekstenzivni, slabi, ultraekstenzivni, opisuje se i prijelazni). Citokrom P450 CYP2C9 je glavni enzim za metabolizam S-varfarina koji je lijek izbora među oralnim antikoagulantima. In vitro istraživanja pokazuju da su CYP2C9 *2 i *3 aleli povezani sa značajno smanjenim metabolizmom različitih CYP2C9 supstrata u odnosu na divlji tip.

Dosadašnje je iskustvo u liječenju bolesnika s tromboembolijskim komplikacijama pokazalo da postoje objektivne poteškoće u titriranju terapije varfarina prilikom uvođenja lijeka i da se etničko porijeklo mora uzeti u obzir u farmakogenetskim studijama. Podaci su se o učestalosti alela *1 CYP2C9 (84.1%), alela *2 (11.5%) i alela *3 (4.0%) u skupini zdravih ispitanika u našem ispitivanju podudarali s podacima iz literature za bijelu populaciju. U našem smo ispitivanju dobili da postoji statistički značajno niža potrebna optimalna dnevna doza varfarina u bolesnika s genotipom *1/*3 u odnosu na divlji tip ($p=0.022$), niža optimalna dnevna doza varfarina u žena u odnosu na muškarce, te u osoba starijih od 65 godina u odnosu na mlađe od te dobi. Pojava krvarenja je bila češća u osoba s INR-om $>5.0.$, a nije ovisila o genotipu CYP2C9 bolesnika i dobi. Vitamin K epoksid reduktaza, kojeg kodira gen VKORC1, je ključni enzim u ciklusu vitamina K. VKORC pretvara neaktivni vitamin K epoksid u biološki aktivni oblik koji katalizira stvaranje faktora zgrušavanja II, VII, IX, X. Gen VKORC1 se nalazi na 16 kromosomu, više je od trideset varijanti alela tog gena povezano s faktorima zgrušavanja ovisnih o vitaminu K, te povećanom rezistencijom ili osjetljivosti na varfarin. Za oralne je antikoagulanse (4-hidroksikumarin, varfarin) ciljno mjesto djelovanja upravo podjedinica 1 vitamin K ovisne epoksid reduktaze (VKORC1). Ovi antikoagulansi ostvaruju svoj učinak tako da inhibiraju aktivnost VKORC1. Polimorfizmi gena VKORC1 značajno pridonose varijabilnosti terapijskog odgovora na kumarinske preparate. Dva su polimorfizma najznačajnija za terapiju varfarinom: VKORC1 1173C>T i VKORC1 -1639G>A. Prema podacima iz farmakogenetičkih studija o povezanosti CYP2C9 i VKORC1, zabilježeno je nekoliko klinički značajnih posljedica na farmakokinetiku-farmakodinamiku oralnih antikoagulanasa. Heterozigotni nositelji polimorfizama VKORC1 u kombinaciji s polimorfizmom CYP2C9 mogu imati pojačani i produženi učinak varfarina. Homozigotni nositelji polimorfizma VKORC1 sporo metaboliziraju varfarin čime je učinak lijeka pojačan i produžen, osobito s istovremeno nađenim polimorfizmom CYP2C9. Primjena je farmakogenetike u unapređenju koncepta personalizacije medicine i ovisi o sposobnosti kliničkih laboratorija da pruže točne, korisne i pravodobne informacije kliničarima.

Recipient's immune response to the mismatched HLA antigens of the kidney donor

Prof. dr. sc. Blanka Vidan-Jeras
Blood Transfusion Center of Slovenia
Ljubljana, Slovenija

Allosensitisation to non-self, human leucocyte antigens (HLA) is a major limitation to effective organ transplantation. When patient's serum at the time of transplantation contains complement fixing antibodies (IgG1 and/or IgG3) directed to HLA-A and/or HLA-B present in a donor kidney (DSA) there is the inevitability of hyperacute or accelerated acute rejection. In other instances, such as presence of IgM antibody isotype, non-complement fixing antibodies or historically present DSA, there is a risk of antibody mediated rejection, which may or may not be refractory to therapeutic intervention. Attrition of transplanted kidney function year on year

is largely an antibody mediated response to mismatched donor HLA. Exposure of the recipient to mismatched donor HLA can be expected to lead to de novo post-transplant antibody (dnDSA) formation. The introduction of highly specific, sensitive and semi-quantitative bead array technique, commercially available as Luminex single antigen beads (SAB), for antibody testing, raises questions of HLA epitope specificity and clinical relevance of patient's pre and post-transplant serum reactivity. Solid-phase tests for HLA antibodies now play a key role in transplantation laboratories and are widely utilized by transplant programs around the world. Although there are not rigid standards for their use and interpretation, transplant patients are benefiting from the use of these tests. Results of studies with SAB tests showed that antibody responses correlate with the numbers of epitopes on mismatched HLA antigens. Wide range of dnDSA found in kidney recipients is mostly due to the shared epitopes on distinct HLA molecules. It seems that improved allocation schemes that favour donor-recipient pairs with low HLA epitope mismatch load would be beneficial. Special emphasis on the HLA-DR and DQ molecules would have major impact on the reduction of post-transplant allosensitisation of the patients. For the analysis of the pattern of dnDSA at the epitope level high resolution HLA typing of donor/recipient pairs is needed. The same stays for the epitope matching. Many of the immunogenetics and histocompatibility laboratories supporting organ transplantation are accredited for HLA high resolution typing, but we still lack the method quick enough to meet cadaveric kidney cold ischemia requirements. Rapidly developing new generation sequencing methods will very likely overcome this problem in the future.

Uloga povijesnog razvoja u upravljanju metodama tipizacije tkiva u Rijeci

Mr. sc. Nataša Katalinić

KBC Rijeka i Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

Tipizacija tkiva je pretraga kojom se određuje polimorfizam gena i antigena sustava humanog leukocitnog antigena – HLA. Sukladno biološkoj ulozi koju ima u pokretanju i regulaciji imunskog odgovora, sustav obilježava izraziti polimorfizam i poligenija. Zbog svoje složenosti i raznolikosti predstavlja najintenzivnije istraživanu regiju u genomu čovjeka. Uz iznimnu važnost koju ima u transplantacijskoj medicini, značaj sustava HLA se ogleda u genetici, ispitivanju nasljeđivanja sklonosti prema različitim bolestima, reproduktivnoj imunologiji, sudskoj medicini, transfuzijskom liječenju, antropološkim proučavanjima. Povijest otkrivanja sustava HLA je započela određivanjem polimorfizma antigena HLA razreda I, a potom razreda II, korištenjem seroloških metoda. Osnovna metoda kojom se i danas određuju antigeni HLA je test mikrolimfocitotoksičnosti ovisne o komplementu (engl. Complement Dependent Cytotoxicity - CDC) koji su uveli Terasaki i McClelland 1964. godine. Nove spoznaje omogućila je primjena tehnika molekularne biologije i određivanje gena HLA, danas i do razine njihova sekvencioniranja. U širem značenju, u laboratorijima za tipizaciju tkiva provode se imunogenetske pretrage vezane uz sustav HLA koje uz određivanje gena/antigena HLA uključuju otkrivanje protutijela HLA i određivanje njihove specifičnosti. Najstarija i standardna metoda za određivanje

protutijela HLA je test CDC koji i danas predstavlja "zlatni standard". Međutim, niska osjetljivost testa bila je povod razvoju novih metoda koje omogućuju otkrivanje protutijela u niskom titru. Tako su se uz protočnu citometriju (engl. flow cytometry) razvile tehnike čvrste faze – ELISA (engl. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) i danas najosjetljiviji, Luminex. Povijesno, otkriće sustava HLA usko je povezano sa spoznajama o njegovoj važnosti u transplantaciji organa. Upravo su pripreme za transplantaciju bubrega u Rijeci potaknule osnivanje prvog Laboratorija za tipizaciju tkiva u Republici Hrvatskoj, 1971. godine. Sudjelovanjem u razvoju transplantacijskog programa i stjecanjem akreditacije Europske federacije za imunogenetiku u rujnu 2008. godine, uz njeno redovito obnavljanje, Laboratorij je pridonio stvaranju statusa KBC-a Rijeka kao vodećeg transplantacijskog centra koji aktivno surađuje s ostalim centrima Eurotransplanta. Uz imunogenetska testiranja primatelja i davatelja u svrhu transplantacije organa, u Laboratoriju se provodi i određivanje gena/antigena HLA povezanih s autoimunim bolestima. Već su od prvih transplantacija u Rijeci utvrđeni imunosni kriteriji u izboru davatelja i primatelja među kojima je što bolja podudarnost u sustavu HLA uz negativnu križnu reakciju između seruma primatelja i limfocita davatelja. U pravilnom odabiru davatelja organa važno je ispitivanje stupnja podudarnosti u pojedinim lokusima HLA pa su uz serološku metodu tipizacije antigena HLA u rad Laboratorija uvedene tehnike molekularne tipizacije gena HLA razreda I i II: PCR-SSP (engl. Polymerase Chain Reaction - Sequence Specific Primers) i PCR-SSO (engl. PCR - Sequence Specific Oligohybridization). S obzirom na važnost protutijela HLA u transplantaciji bubrega već je 1972. godine u Rijeci tipiziran prvi panel limfocita u Hrvatskoj čime je započeo redoviti probir seruma bolesnika na prisustvo protutijela HLA metodom CDC. Metoda CDC koristi se i danas kako u screeningu seruma bolesnika tako i u prijetransplantacijskoj križnoj reakciji. Prateći nove spoznaje i napredak tehnologije, u screeningu seruma bolesnika od 2012. godine uvedena je metoda Luminex. Poznavanjem i praćenjem povijesnog razvoja metodologije tipizacije tkiva utječe se na odabir i primjenu najoptimalnijih metoda rada u Laboratoriju za tipizaciju tkiva. Upravljanjem različitim laboratorijskim tehnikama imajući pri tom u vidu i upravljanje materijalnim, financijskim i ljudskim resursima postižu se najbolji rezultati u transplantacijskoj medicini.