

Transplantation and Immunology

บรรยายโดย อ.นพ.สมชัย ลิ้มศรีจำเริญ

เรียบเรียง นพ.กิตติ์วี จิรธานีเรืองกิจ

อาจารย์ที่ปรึกษา อ.นพ.ราวิณ วงษ์สถาปนาเลิศ

Outline

1. Immunology
2. Immunosuppression: drug use in transplantation
3. Clinical transplant: liver pancreas intestine and kidney transplant

ในอเมริกา ทำ Transplant เยอะมาก และ resident ศัลยกรรมทุกคนต้องผ่าน rotation transplant ดังนั้น ในอนาคต บ้านเรา จะทำกันมากขึ้น และอาจจะบรรจุ เป็น requirement ให้ resident ต้องผ่าน

- Immunology
ประวัติศาสตร์ เริ่มจาก

Jensen reported in 1902

- มีการทดลอง ศึกษาเกี่ยวกับ tumor และ immunology ของ tumor พบว่า สามารถนำเอา tumor จากหนูไป transplant ให้ตัวอื่นได้ (ทำใน 19 successive generation)
- พบว่าหนูบางส่วนจะ reject tumor ไม่ให้เติบโต (50% of mice)
- โดยจะ reject ทุกครั้ง ที่นำ tumor มา transplant ใหม่ (มี resistant to subsequent challenge) และ หากนำเอา normal tissue ใส่ไปก่อน และเอา tumor มา transplant ก็จะไม่ reject ได้เร็วขึ้น
- เกิด Theory อธิบายเหตุการณ์นี้ คือ Athrepsia theory (เกี่ยวกับ nutrition) เพราะ เวลาใส่ tumor เข้าไปแรกๆ จะยังเจริญได้ช่วงหนึ่งจากนั้น จึงตายไป เชื่อว่าเกิดจากการขาด สารอาหาร หลังจาก tumor ใช้สารอาหารหมด มันก็จะตายไป นับเป็นจุดเริ่มต้นที่ใช้ tumor ในการศึกษาหลักการเรื่อง Transplantation

Medawar reported in 1943 (Nobel prize)

- เมื่อมี rejection เกิดขึ้น หากเราใช้ graft ครั้งที่ 2 จาก donor เดิม จะเกิดการ reject เร็วขึ้น ซึ่งคิดว่าเกิดจาก Actively acquired immune reaction จากนั้นมีการศึกษาอีกหลายอย่างเพื่อศึกษา transplant immunology

Owen reported in 1947

- ถ้านำสัตว์เช่น ลูกวัว ที่เป็น dizygotic twin ซึ่งมีการ share ของเลือด in utero มาก่อน หากนำมา transplant จะไม่เกิด rejection (มี blood cell chimera)
- เราพบว่า twin จะไม่สามารถตอบสนองต่อ Ag อีกคนได้
- ทำให้เชื่อว่า immunologic response เกิดขึ้นในภายหลัง และจะยังไม่พบตอนเป็น fetal life
- ภายหลังจึงอธิบายได้ ว่า Ag ที่เราเจอตั้งแต่ fetal life ร่างกายจะยัง consider ให้เป็น self-antigen/marker จะมีการกำจัด Ag ที่ response ต่อ Cell ตนเองออกไป เพื่อป้องกัน Autoimmunity จากนั้น Ag ที่พบภายหลังจึงจะถือเป็น non-self Ag และจะกระตุ้น Immune response ต่อไป

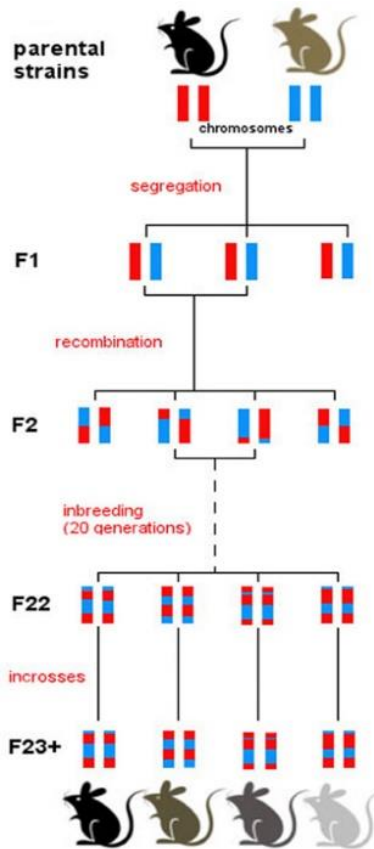


Fig. 1 Inbred strain ของสัตว์ทดลอง

ในอดีตจะมีการสร้าง Inbred strains ของหนูขึ้นมา เพื่อทำการศึกษาวิจัย ควบคุมตัวแปรต้น คือ นำ หนู A,B มาผสมพันธุ์กัน และนำลูกมาผสมพันธุ์กันเองต่อไปเรื่อยๆ ประมาณ 20 generations จะพบว่า โอกาสเกิด Homozygosity ในทุกๆ allele จะสูงมาก (Same genetic made up in every loci) เพราะจะมี fatal gene บางชนิด ที่จะทำให้หนูที่เป็น heterozygote ตายไปหมดก่อน

หากเรานำ tumor จากตัวหนึ่งไป ยังหนู inbred strain ด้วยกัน tumor จะเจริญได้ ไม่เกิด rejection แต่เราพบว่า capacity of graft rejection จากพ่อแม่ไปสู่รุ่นลูก จะหายไป ใน F1 และจะกลับมา regain ใน F2 generation บางส่วน

กำเนิด Laws of transplantation

1. Transplants within inbred strains will succeed เนื่องจากมี genetic made up เหมือนกัน
2. Transplants between inbred strains will fail เนื่องจาก rejection
3. Transplants from member of an inbred parental strain to an F1 offspring will succeed, but those in the reverse direction will fail
4. Transplant from F2 and all subsequent generations to F1 animals will succeed
5. Transplant from inbred parental strains to the F2 generation will usually, but not always fail

Major histocompatibility complex

- Highly polymorphic genes บน short arm ของ Chromosome คู่ที่ 6
- สร้าง specific Ag ต่อสิ่งแปลกปลอม ที่เรียกว่า Human leukocyte Antigen(HLA) ซึ่งจำเป็นสำหรับ T cell recognition และ T cell response
- แบ่งเป็น Class I ได้แก่ HLA-A/B/C พบบนผิวของ Nucleated cell ทุกชนิด และ Class II ได้แก่ HLADR/DP/DQ พบที่ Macrophage, B lymphocyte, dendritic cell, activated T cell

T cell

ต่อไปต้องมาดูการทำงานของ T cell โดยปกติแล้วตั้งแต่เราเกิดมา ร่างกายจะมี T cell ที่ตอบสนอง และ recognize Ag ต่างๆ จำนวนมากถึง 10^9 antigens แต่ทั้งหมดนี้หากทุกตัวยังอยู่รอดได้ ก็จะทำให้เกิดการ reject ร่างกายตนเองด้วย เราจึงต้องมีกระบวนการคัดเลือกที่เรียกว่า Positive & Negative selection

T-lymphocyte development

- T cell precursors :
do not express TCR, CD3, CD4 or CD 8 -> double negative
develop into cells: CD4+ CD8+ & express low level of TCR/CD3 complex -> double positive
undergo positive and negative selection

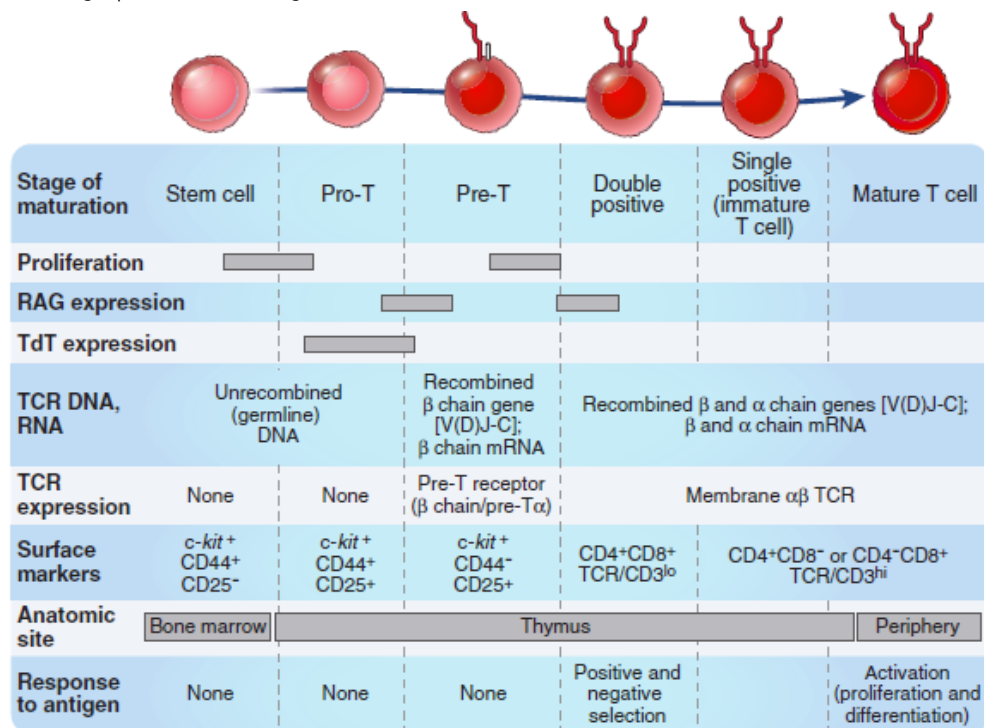


Fig. 2 Maturity of T-cell lymphocyte

ธรรมชาติ ของ T cell จะไปจับกับ Ag โดยตรง เหมือน APCs, B cell, neutrophil ไม่ได้ แต่ต้องทำงานร่วมกับ MHC class I หรือ II มันจึงจะ recognize Ag นั้นๆ

โดย T cell จำนวนมากมายเหล่านี้ หากมันสามารถ bind กับ MHC และ recognize Ag ได้ ก็จะผ่าน positive selection และอันใดที่ recognize ไม่ได้ ก็จะไม่ผ่าน positive selection และเมื่อ recognize มาได้แล้ว ก็จะดู Affinity ต่อ MHC-Ag นั้นต่อ หากมัน strong affinity มากไป ก็เสี่ยงต่อการเกิด Autoimmune disease ทำลาย Self Ag ตนเอง T cell เหล่านี้จะถูก negative selection เกิด apoptosis ทำลายทิ้งไป

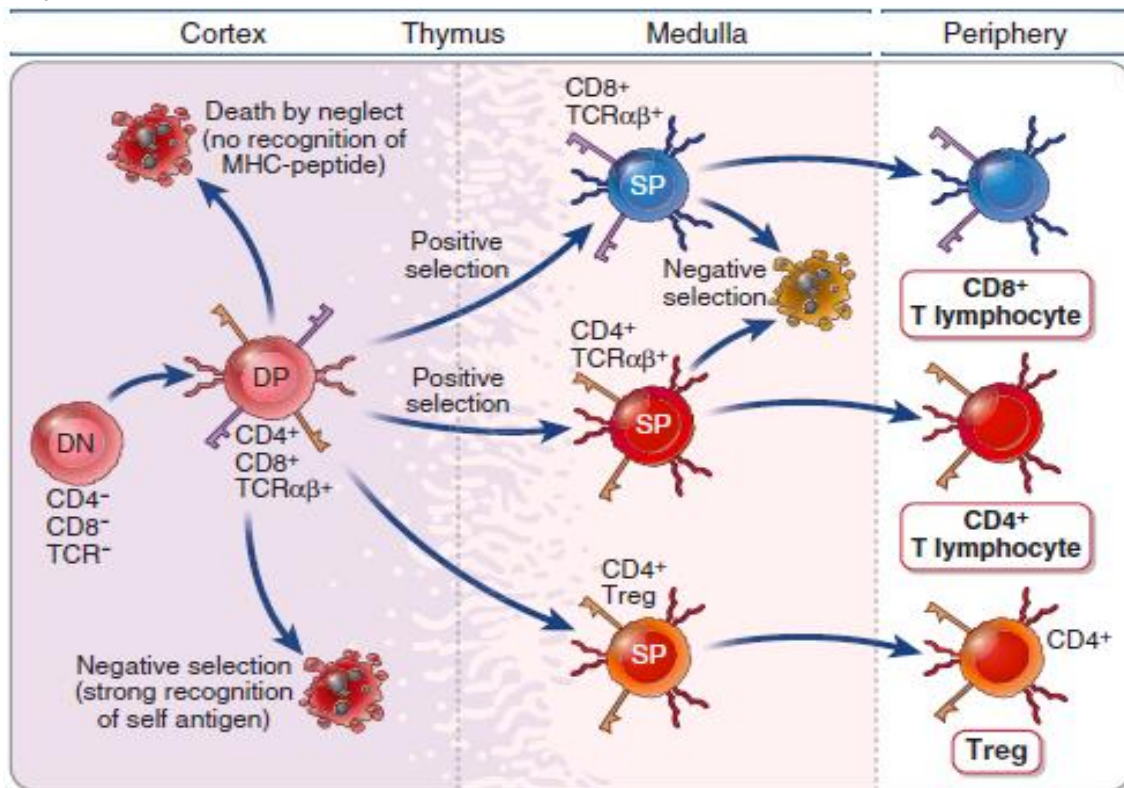


Fig. 3 An overview of T cell development in the thymus. Precursors of T-cells travel from the bone marrow through the blood to the thymus. The progenitors of αβ T-cells are double-negative (DN) T-cell. In the thymic cortex, these cells begin express TCRs and CD4 and CD8 coreceptors. Selection process eliminate self-reactive T-cells in the cortex at the double-positive (DP) stage and also eliminate single-positive (SP) medullary thymocytes. They promote survival of thymocytes whose TCRs bind self MHC molecules with low affinity. Functional and phenotypic differentiation into CD4⁺CD8⁻ or CD8⁺CD4⁻ SP T cells occurs in the medulla, and mature T cells are released into the circulation. Some DP cell differentiate into CD4⁺CD8⁻ regulatory T-cell

T-lymphocyte Ag recognition

- Require presentation in association with MHC class I or II (CD4 recognize Class II and CD8 recognize Class I) แต่ถ้าเพียงขั้นตอนนี้ จะไม่กระตุ้น T lymphocyte แต่จะทำให้ฝอลง (Anergy) จำเป็นต้องมีขั้นตอน Co-stimulation ร่วมด้วย
- โดยในมนุษย์ ส่วนใหญ่ คือ B7 (มี 2 ตัวคือ B7-1 และ B7-2 หรืออีกชื่อ คือ CD 80 และ CD 86) ซึ่งจะจับคู่ กับ CD 28 จึงจะกระตุ้น T cell ให้เกิด Proliferation ต่อไปได้

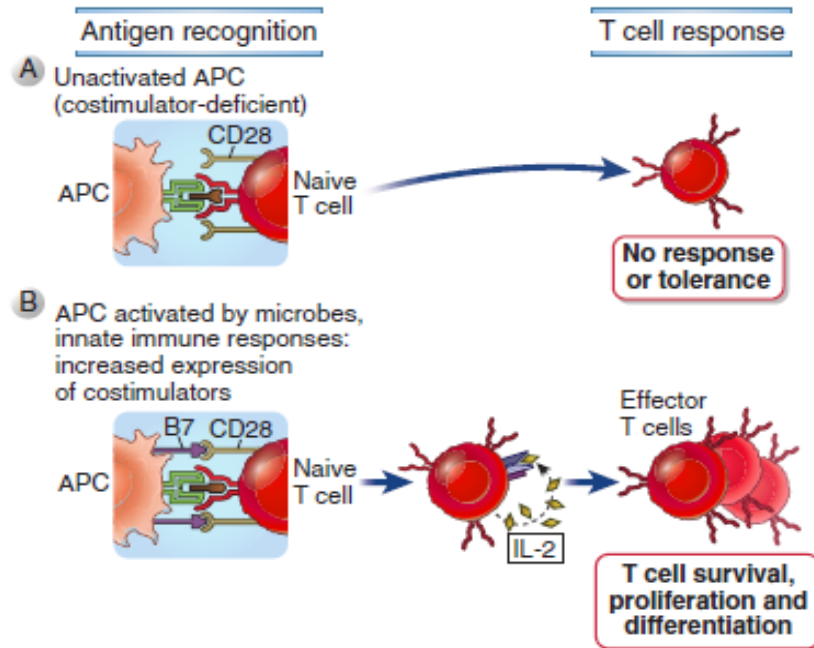


Fig. 4 Function of costimulators in T-cell activation. A, The resting APC (typically dendritic cell presenting self antigens) expresses few or no costimulators and fails to activate naïve T cells. (Antigen recognition without costimulation may make T cells unresponsive (tolerant) B, Microbes and cytokines produced during innate immune responses activate APCs to express costimulators, such as B7 molecules. The APCs (usually presenting microbial antigens) then become capable of activating naïve T cells. Activated APCs also produce cytokines such as IL-12, which stimulate the differentiation of naïve T-cells into effector cells.

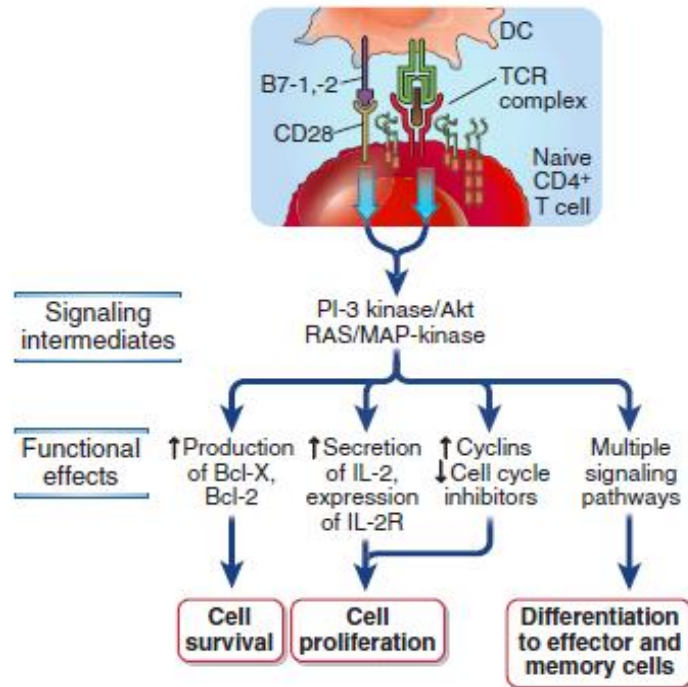


Fig. 5 Mechanism of T cell costimulation by CD28. CD28 engagement includes signaling pathways that enhance TCR signals or trigger additional signals, all of which stimulate the expression of survival proteins, cytokines, and cytokines receptors: promote cell proliferation; and induce differentiation toward effector and memory cell by activating various transcription factors

ที่นี้ความรู้ที่เราจะไปใช้อะไรได้บ้าง สมมติเราทำการ Transplant organ เข้าไป จะมี Ag ของ donor มากมาย เข้าไปใน recipient เมื่อ APCs จับกับ Ag เหล่านั้น หากเรามียาที่มา Block Co-stimulation ได้ T cell ที่ specific ต่อ Donor Ag นี้ ก็จะถูกทำลายลง เกิดภาวะ Tolerance ได้ แต่ในความเป็นจริงเราพบว่า Co-stimulation ของมนุษย์นั้นมีหลาย Pathways ที่ยกมา คือ pathway ที่พบมากที่สุด การกระตุ้น T lymph จะอาศัย interaction ของ TCR/CD3 complex และ ligand (MHC) ที่มาเกาะ จากนั้นจะกระตุ้น tyrosine kinase ให้เกิดการสร้าง IL-2 ผ่าน Calcium-calcineurin pathway และ IL-2 นี้ก็จะไปกระตุ้น Cell อื่นๆ ต่ออีกมากมาย เช่น T/B cell

สรุป Key control sites in T lymphocytes มี 3 signals คือ

1. Ag recognition
2. Co-stimulation
3. Cytokines e.g. IL-2

ความรู้เหล่านี้เป็นที่มาของการใช้ยาป้องกันการเกิด Rejection โดยตัวที่ใช้บ่อยที่สุดคือ Calcineurin เช่น Prograf(tacrolimus) หรือ Block Nuclear factor ของ T cell เช่น steroids และยังสามาร block ในตำแหน่งอื่นๆ เพื่อให้เกิด tolerance ขึ้น

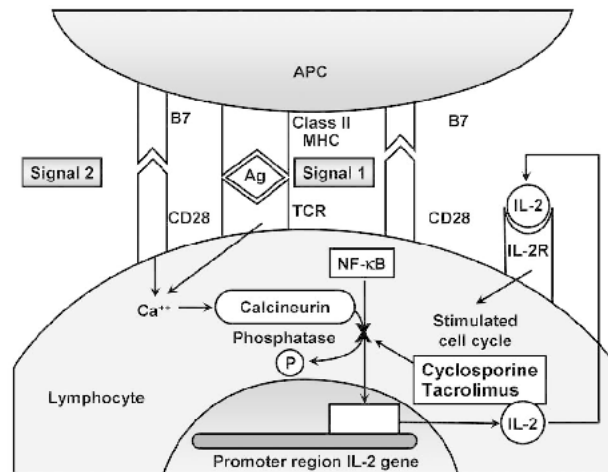


Fig. 6 APC and T-cell response

Termination of immune response

ร่างกายจะมีกลไกทำให้เกิดการหยุดกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ตัวที่สำคัญ คือ

1. CTLA4 (Cytotoxic T-lymphocyte Ag 4) หรือ CD152 บนผิว regulatory T cell ซึ่งจะแย่งจับกับ CD 28 เพื่อยับยั้ง Co stimulator
2. Activation-induced cell death (Fas/Fas ligand)

การกระตุ้น Cell หากไม่พอเหมาะ ก็เกิด Cell death ได้ ซึ่งต้องอาศัย IL-2 เคยมีการทดลองเอาชิ้นสร้าง IL-2 ออกจากสัตว์ทดลอง พบว่า สัตว์เหล่านั้นจะตายด้วย autoimmune disease แทนที่จะเป็น Infection

T lymphocyte function

- Helper T cell จะช่วยกระตุ้น B cell ให้เป็น Antibody-producing cell
- เพิ่ม Microbial action ให้กับ Monocyte and Macrophage
- Direct killing of target cells
- Inhibit some immune response
- Mobilize inflammatory response

Cytotoxic T lymphocytes

- MHC class I restricted CD8+ cells
 - มี 2 mechanisms to kill targets ได้แก่ Perforin & granzyme และ Fas/Fas ligand pathway
- ในร่างกายเรามี Fas ใน cell ต่างๆ ซึ่งหากถูก กระตุ้น ด้วย Fas ligand จาก T cell ก็เกิด Apoptosis

B cell

B lymphocyte activation

1. Direct activation (Cross-linkage-dependent B cell stimulation)

เพราะ ผิวของ B cell จะมี Antibody เกาะอยู่ จึงสามารถถูกกระตุ้นได้ แต่ผลมักไม่ค่อย effective พบเฉพาะใน Ag ที่มี repetitive epitopes เท่านั้น เช่น Cell wall ของ Bacteria

2. Indirect activation (Cognate T cell-B cell stimulation)

คือ B cell นำ Ag-MHC class II complex ไป present ให้ T cell เกิด CD40-CD40L binding ตัวนี้จะกระตุ้นได้ effective กว่ามาก -> เกิด proliferation and differentiation B cell -> isotype switching

Class switching and affinity maturation

First Antibody คือ IgM เสมอ จากนั้นในอนาคตจึงมีการเปลี่ยนไป ขึ้นกับตัวกระตุ้น เช่น IgG IgA เป็นต้น

สำหรับในคนที่ทำ Transplantation แล้ว On immunosuppression อยู่ อาจจะมีปัญหาได้ คือ persistent of IgM ดังนั้น จึงอาจพบ ผล Lab Serology เป็น False positive of IgM ได้ เพราะมันไม่ถูกเปลี่ยนออกไป

Pretransplant crossmatch

ก่อนการทำ transplant หากมีเวลา เราสามารถทำ crossmatch ก่อน เพื่อให้มั่นใจว่า จะไม่เกิด rejection เช่นใน kidney transplant แต่มักไม่ทำใน Liver เนื่องจากไม่มีเวลาเพียงพอ และมักต่อสู้กับภาวะ rejection ได้

หลักการคือ นำ cell ของ donor มาผสม serum ผู้ป่วย และสังเกต reaction เพื่อดูว่า Recipient จะมี Antibodyต่อต้านกับ MHC ของ donor หรือไม่(ดู Class I เป็นหลัก เพราะมีเกือบทุก cell) ซึ่งหากมี reaction ขึ้นจะเกิดการกระตุ้น Complement dependent antibody cytotoxicity(CDC) มาทำลาย donor cell อย่างรวดเร็ว สำหรับ cell ที่นิยมนำมาใช้ตรวจ คือ T cell ใน lymph node ที่ groin

สรุป คือ เอา Serum ผู้ป่วย มา incubate กับ T cell ใน LN แล้วเติม complement จากนั้น detect Dead cell โดยการเติม Vital dye -> เรียกว่า NIH method วิธีอื่นๆ เช่น

- Anti-human globulin-enhanced technique ใช้กรณี ที่ Antibody น้อยมาก กระตุ้น Complement ได้ไม่ดี พอการใช้วิธีนี้ จะเพิ่ม sensitivity
- B cell enriched crossmatch technique ใช้ ตรวจสอบ MHC class II ด้วย
- Flow cytometry crossmatch technique ใช้ กรณีที่ Ab เกาะน้อยมาก sensitivity สูง

Graft rejection

1. Hyperacute rejection onset นาที-ชม.

- Antibody mediated rejection คือ มี Endothelial MHC Ag + Preformed Antibody + Complement and coagulation cascade โดย target ที่ donor vascular endothelium ทำให้เกิด Diffuse intravascular coagulation, edema, and thrombus แล้วเกิด graft necrosis ตายอย่างรวดเร็ว
- ปัจจุบันไม่ค่อยเกิด หากเกิด มักเกิดจาก human error เช่น ให้เลือดผิดหมู่

- อาจพิจารณาทำ Plasmapheresis + IVIG high dose เพื่อทำลาย preform Ab ไปก่อน แต่ใช้ทุนสูง
 - ป้องกันได้โดย การทำ Pretransplant crossmatch, donor specific antibody
2. Accelerated rejection onset 2-3 วันแรก
- Antibody mediated rejection เช่นกัน แต่ระดับ Ab ต่ำ ไม่มากพอจะทำลาย graft ในช่วงแรก แต่จากนั้นจะเกิดการสร้าง Ab ตามมาภายหลัง มา target ที่ vascular endothelium เกิดเป็น Fibrinoid necrosis of donor arteriole and intravascular thrombosis เช่น ในคนไข้ เปลี่ยนไต จะดู Panel reactive antibody (PRA) ว่าค่าเท่าไร คือการนำ serum มาตรวจเป็นระหว่างรอเปลี่ยนไต แล้วใช้ cell มาตรฐานในการตรวจ ซึ่งต้องมี HLA เหมือนใน population ทั่วไป แล้วดูว่า positive กี่% จะช่วยบอกความ sensitize ทั่วไปของคนไข้ได้(คนปกติไม่มีลูก ไม่เคยรับเลือด PRA 0) ถ้าค่าสูง เรียกว่า Presensitized patient คือ โอกาสเกิด accelerated rejection มากกว่าคนธรรมดาทั่วไป
3. Acute rejection onset 3-5 วัน ถึง สัปดาห์
- พบบ่อยที่สุด กลไกเกิดจาก T-Cell mediated rejection และ Antibody-mediated rejection
 - T cell mediated คือมีการ recognize MHC ของ Donor กระตุ้นให้เกิด CD4+ CD8+ T cell infiltrate เข้าไปใน endothelium และ parenchymal cell ของ graft และสร้าง damage ต่อ cell
 - Antibody-mediated เกิดจาก Specific Preformed Antibody ที่มีอยู่ กลไกเดียวกับ accelerated rejection
 - ยาที่ใช้ในการรักษา ทั่วไป คือ รักษา acute rejection ได้แก่ high dose steroid + Ab depletion
4. Chronic rejection onset อย่างน้อย 60 วัน
- Non immunologic mechanism เช่น ischemia/reperfusion injury, oxidative stress, side effect of medication, hyper filtration injury, hypertension, hyperlipidemia ซึ่งกลุ่มเหล่านี้ มักไม่ตอบสนองต่อการให้ยากดภูมิคุ้มกัน
 - Immunologic mechanism กลุ่มนี้มักมีหลาย mechanism รวมกัน

Immunologic tolerance

หากทำให้เกิด tolerance ได้ คนไข้จะสบาย เพราะไม่ต้องใช้ยากดภูมิคุ้มกัน และ immune ในร่างกาย ที่ specific ต่อ Ag ก็จะถูก block ไว้

1. Central tolerance
2. Peripheral tolerance

Immunosuppression: Drug use in transplantation

แบ่งออกเป็นกลุ่มต่างๆ คือ

1. Corticosteroids
2. Non-biological immunosuppression
 - 2.1 Immunophilin binders: Calcineurin inhibitors (CNI) e.g. Cyclosporine, Tacrolimus
mTOR inhibitors e.g. Rapamycin (Sirolimus), Everolimus
 - 2.2 Anti-metabolites: Azathioprine, Mycophenolate mofetil
3. Biological immunosuppression
 - 3.1 Monoclonal Ab: Anti-CD25, OKT3
 - 3.2 Polyclonal Ab: Antilymphocyte globulin
4. Immunoglobulin therapy อื่นๆ: IVIG, Rituximab, Alemtuzumab
5. ยาอื่นๆอีก : CTLA4 Ig (Co-stimulation blockade), Belatacept

Corticosteroids

- เป็นยาที่ใช้มากที่สุดใน transplant ทั้งการ induction, maintenance, treatment of rejection เช่น การให้ pulse steroids
- Block NF- κ B $\rightarrow$ Reduce cytokine production & adhesion molecule expression
- Inhibit macrophage function & Induce lymphocyte apoptosis แต่ไม่มีผลกับการสร้าง Antibody
- ข้อเสีย คือ Long term side effect มาก เช่น Osteoporosis, avascular necrosis, hyperlipidemia, DM, HT, peptic ulcer, delayed wound healing โดยสุดท้ายมัก เสียชีวิตจาก Cardiovascular disease

Cyclosporine (CsA)

- เป็นยาที่สำคัญมากในอดีต เพราะ ลด rate of rejection ได้มากถึง 50% ในอดีต
- จับกับ cyclophilin เพื่อ Inhibit Calcineurin pathway เกิด no NF-AT activation เพื่อหยุดการสร้าง IL-2
- Metabolize โดย P450 enzyme (CYP 3A4) มีความสำคัญ คือ ระดับยาที่มากเกินไป คนไข้ sepsis ตาย ให้น้อยไป เกิด graft rejection ได้ ดังนั้น ระดับยาต้องพอดี มีการ monitor ระดับยา ในอดีตจะดู trough level (ค่าต่ำสุด) ในปัจจุบันนิยมใช้ C2 monitor (ระดับยาที่ 2 ชม.) ดังนั้นระวังการให้ยาต่างๆ oral ATBs เช่น FQs, ยา TB เช่น Rifampicin, ยากันชัก เช่น Phenytoin, Antifungal drug เช่น azole เป็นต้น
- Side effect: nephrotoxicity, HT, neurotoxicity, gingival hyperplasia, hirsutism

Tacrolimus (Prograf[®], FK506)

- เป็นตัวยาที่มาแทน CsA ตั้งแต่ปี 1995 ออกฤทธิ์เป็น CNI เหมือนกัน
- จับกับ FK-binding protein เพื่อ inhibit Calcineurin pathway ทำให้ prevent transcription of IL-2 gene
- Side effect เหมือนกับ CsA แต่ไม่ทำให้เกิด gingival hyperplasia, hirsutism
- Metabolize ด้วย P450 enzyme (CYP 3A4) เช่นกัน
- ตัวยา effective กว่า CsA 50-100 เท่า พบ rate of acute rejection ต่ำกว่า แต่ก็ยังมี S/E มากกว่าเช่นกัน

Azathioprine

- ตัวนี้เลิกใช้ไปแล้ว
- ถูก metabolize ที่ตับ โดย 6-MP (Mercaptopurine) ทำให้ Inhibit purine synthesis ยับยั้ง DNA synthesis
- Side effect: myelosuppression, megaloblastic anemia, hepatotoxicity, pancreatitis

Mycophenolate mofetil

- เป็น ester derivative ของ mycophenolic acid (MPA) inhibit IMPDH (inosine MP dehydrogenase) ซึ่งควบคุมการสร้าง guanosine monophosphate จึง block การสร้าง purine ซึ่งใช้ใน DNA synthesis
- ยับยั้ง proliferation of T and B lymphocyte
- Side effect: myelosuppression and GI symptoms: diarrhea

Rapamycin

- จับกับ FK-BP เช่นกัน แต่ไม่มีผลต่อ calcineurin pathways
- Bind and inhibit TOR (target of rapamycin) -> impaired signal transduction by IL-2 receptor และหยุด Cell cycle ในช่วง G1 phase
- Side effect: thrombocytopenia, dyslipidemia, impaired wound healing and pneumonitis

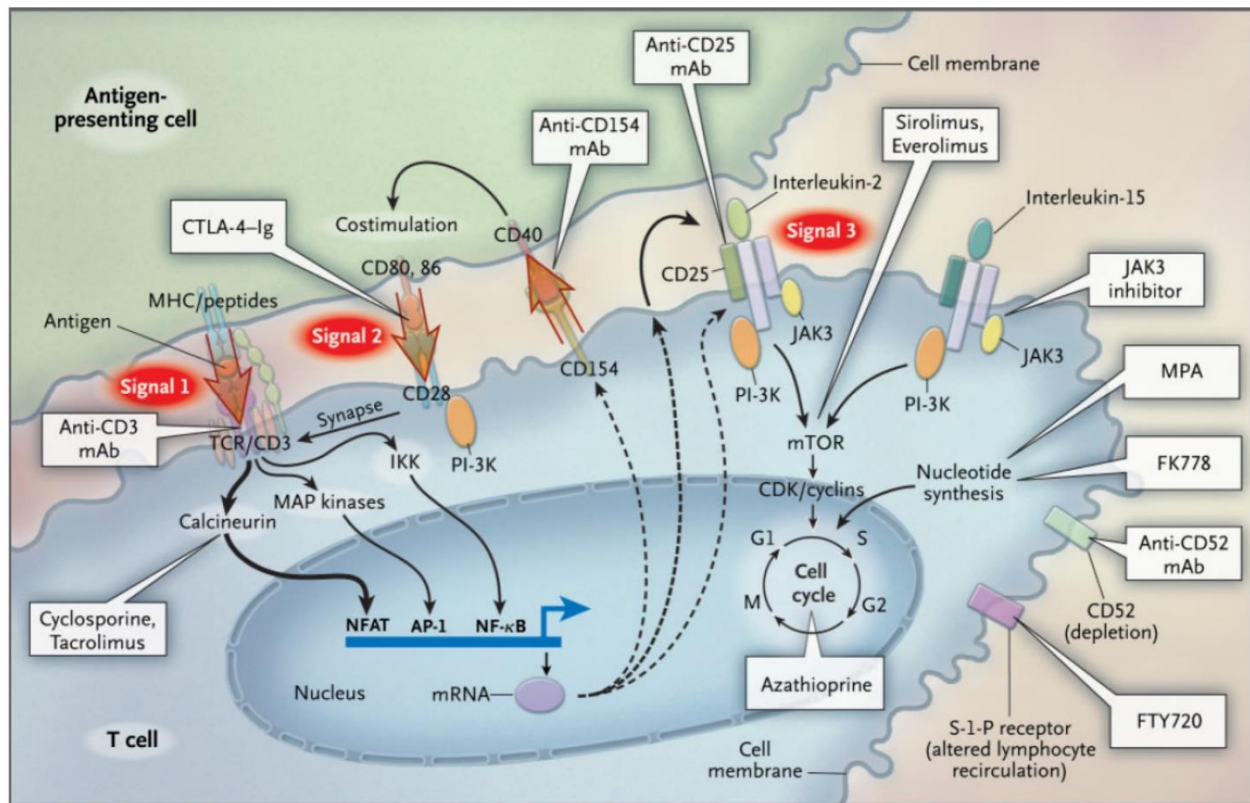


Fig. 7 Molecular mechanism of immunosuppressive drugs

Table 1 Human liver P450s (CYPs), and some of the drugs metabolized (substrates), inducers, and selective inhibitors

CYP	Substrates	Inducers	Inhibitors
3A4	● Immunosuppressants Cyclosporin, tacrolimus, sirolimus ● Chemotherapeutics Docetaxel, tamoxifen, paclitaxel, cyclophosphamide, doxorubicin, erlotinib, etoposide, ifosfamide, teniposide, vinblastine, vincristine, vindesine, imatinib, irinotecan, sorafenib, sunitinib, vemurafenib, temsirolimus, anastrozole, gefitinib ● Azole antifungals Ketoconazole, itraconazole ● Macrolides Clarithromycin, erythromycin, telithromycin, dapsone ● Tricyclic antidepressants Amitriptyline, clomipramine, imipramine, cyclobenzaprine ● SSRIs Citalopram, norfluoxetine, sertraline ● Other antidepressants Mirtazapine, nefazodone (NaSSA), reboxetine, venlafaxine, trazodone, vilazodone ● Antipsychotics Haloperidol, aripiprazole, risperidone, ziprasidone, pimozide, quetiapine ● Opioids Alfentanil, buprenorphine, codeine, fentanyl, hydrocodone, methadone, levacetylmethadol, tramadol	Strong potency ● Antiandrogens Enzalutamide Unspecified potency ● Anticonvulsants, mood stabilizers Carbamazepine, phenytoin, oxcarbazepine, topiramate ● Barbiturates Phenobarbital, butalbital ● Bactericidals Rifampicin, rifabutin ● Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors Efavirenz, nevirapine ● Hypoglycemics Pioglitazone, troglitazone ● Glucocorticoids ● Modafinil ● Quercetin ● capsaicin	Strong potency ● Protease inhibitors Ritonavir, indinavir, nelfinavir, saquinavir ● Macrolide antibiotics Clarithromycin, telithromycin ● Chloramphenicol ● Azole antifungals Ketoconazole, itraconazole, posaconazole, voriconazole ● Nefazodone ● Cobicistat Moderate ● Amiodarone ● Aprepitant ● Calcium channel blockers Verapamil, diltiazem ● Macrolide antibiotics erythromycin ● Azole antifungals Fluconazole ● Cimetidine ● Ciprofloxacin ● Cyclosporine ● Donedarone

Table 1 Human liver P450s (CYPs), and some of the drugs metabolized (substrates), inducers, and selective inhibitors (cont.)

CYP	Substrates	Inducers	Inhibitors
3A4	● Immunosuppressants Cyclosporin, tacrolimus, sirolimus ● Chemotherapeutics Docetaxel, tamoxifen, paclitaxel, cyclophosphamide, doxorubicin, erlotinib, etoposide, ifosfamide, teniposide, vinblastine, vincristine, vindesine, imatinib, irinotecan, sorafenib, sunitinib, vemurafenib, temsirolimus, anastrozole, gefitinib ● Benzodiazepines Alprazolam, midazolam, triazolam, diazepam ● Some hypnotics Zopiclone, zaleplon, zolpidem ● Donepezil (Acetylcholinesterase inhibitor) ● Statins Atorvastatin, lovastatin, simvastatin, cerivastatin ● Calcium channel blockers Diltiazem, felodipine, nifedipine, verapamil, amlodipine, lercanidipine, nitrendipine, nisoldipine ● Amiodarone (class III antiarrhythmic) ● Dronedarone (class III antiarrhythmic) ● Quinidine (class I antiarrhythmic) ● PDE5 inhibitors Sildenafil, tadalafil ● Kinins		Moderate ● Amiodarone ● Aprepitant ● Calcium channel blockers Verapamil, diltiazem ● Macrolide antibiotics ● Fluvoxamine ● Imatinib ● Valerian ● Verapamil Weak ● Buprenorphine ● Cafestol (in unfiltered coffee) ● Cilostazol ● Fosaprepitant ● Gabapentin ● Lomitapide ● Orphenadrine ● Ranitidine ● Ranolazine ● Tacrolimus ● Ticagrelor ● Valproic acid

Table 1 Human liver P450s (CYPs), and some of the drugs metabolized (substrates), inducers, and selective inhibitors (cont.)

CYP	Substrates	Inducers	Inhibitors
3A4	- Sex hormones agonists and antagonists Finasteride, estradiol, progesterone, ethinylestradiol, testosterone, toremifene, bicalutamide - H1-receptor antagonists Terfenadine, astemizole, chlorphenamine - Protease inhibitors Indinavir, ritonavir, saquinavir, nelfinavir - Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors Nevirapine - Some glucocorticoids Budesonide, hydrocortisone, dexamethasone - Albendazole - Aprepitant - Cisapride - Caffeine, cocaine - Cilostazol - Dextromethorphan - Domperidone, ondansetron - Eplerenone - Lidocaine - Propranolol, Salmeterol - Warfarin - Clopidogrel - Omeprazole - Nateglinide - Methoxetamine - Vilaprisan		Unspecified potency - Cannabidiol - Dithiocarbamate - Mifepristone - Norfloxacin - some non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors Delavirdine - Gestodene - Mibefradil - Star fruit - Milk thistle - Niacinamide - Ginkgo biloba - Piperine - Isoniazid - Quercetin

Clinical use

- การให้ยา แบ่งเป็น 2 ช่วง คือ Induction therapy เพื่อลดภาวะ acute rejection และ ต่อด้วยการให้ maintenance therapy โดยการค่อยๆลดยาอย่างช้าๆ ใน 3-6 เดือนแรก และใช้ยาน้อยที่สุดที่พอเหมาะ
- Use at least 2 drugs (เพื่อหลีกเลี่ยงการให้ dose ที่สูงเกินไป) เช่น CNI + steroid
- 3 drugs : CNI + steroid + anti-metabolites
- CNI + steroid + mTOR inhibitor
- 4 drugs : add antibody induction
- มีประมาณ 30 regimens แต่ยังไม่สามารถทำ study เปรียบเทียบว่าอันไหนดีที่สุดได้
- trend ช่วงปี 1994-2003 ของการให้ Maintenance พบว่านิยม FK > CsA และ MFM > Azathioprine
- trend การให้ยาเหล่านี้ ให้ไปเปิดดูใน website เพื่อความอัปเดต แต่ส่วนใหญ่ trend คล้ายเดิม

Specific property

จะกล่าวถึงในเรื่องการเปลี่ยนดับเป็นหลัก เพราะยาบางตัวมีคุณสมบัติพิเศษเพิ่มขึ้นมา เช่น

- Anti-tumor effect ใช้ในกรณี ที่เป็น HCC
- Anti-viral effect ใช้ในกรณี ที่เป็น Hepatitis C virus
- Anti-fibrosis ใช้ในคนไข้ ที่มี prone ต่อการเกิด fibrosis
- Cyclosporine
 - สามารถ inhibit Hepatitis C virus replication in vitro -> ลด rate of recurrence ได้
 - Anti-tumor growth
- Mycophenolate mofetil
 - มีฤทธิ์ anti-viral activity at high dose -> ช่วยลด หรือชะลอ การเกิด recurrence
- mTOR inhibitor
 - Anti-tumor activity
 - Anti-fibrosis activity มีการนำมาใช้เคลือบ DES ในการทำ PCI เช่น sirolimus

Rational in specific disease

1. Hepatitis C
 - ยังไม่มี solid evidence ชัดเจน ที่จะสนับสนุนว่า CNI ตัวใดดีกว่า ใช้ได้ทั้ง CsA/FK506
 - Avoid steroid เพราะ จะเพิ่ม replication ของ Hepatitis C virus ได้
2. Oliguric renal failure
 - ใช้ non-nephrotoxic drugs เช่น steroid, mTOR inhibitor, anti-metabolite
 - withhold CNI 48-72 hr
3. Autoimmune disease
 - ต้องใช้ long term steroid เพราะ มี rate ของการเกิด rejection สูงมาก
4. HCC
 - mTOR inhibitor, cyclosporine ใช้ 2 ตัวนี้ช่วยลด tumor recurrent rate ได้

Protocol ของ ศิริราช (Liver transplant)

- Steroid + CNI
- Wean off steroid ภายใน 2-3 เดือน
- บางรายจะ add 3rd agent เข้าไป เช่น high risk, เกิด Side effect จากยาเดิมมาก, เกิด rejection ขึ้น

Clinical transplantation

Cadaver donor management

- การดูแล donor 1 คน สามารถช่วยคนได้มากมาย
- Brain death criteria ในแต่ละประเทศไม่เหมือนกัน แต่มีหลักๆคล้ายกัน 3 ข้อ คือ
 - 1) Coma or unresponsiveness from known cause
 - 2) Absence of brain stem reflexes
 - 3) Apnea
- ญาติต้องลงชื่อ consent of donation ก่อน จึงจะทำ invasive procedure อื่นๆ ได้

Pathophysiology of brain death

- Cushing's response
- Autonomic storm คือ มีการ rising of catecholamine โดยจะเกิดขึ้นประมาณ 15 min ก็ลดลงเอง
- Decreased hepatic perfusion due to intrahepatic shunt
- Neurogenic pulmonary edema
- Diabetes insipidus
- Abolished vagal tone
- Decreased CO₂ production
- Arterial and venous vasomotor collapse

Routine care and monitoring

จำเป็นมาก เพื่อให้ได้ organ ที่มีคุณภาพดี ให้กับ recipient จึงมี routine management ที่ต้องทำ ได้แก่

- Arterial line
- CVP
- Temperature
- Hourly urine output เนื่องจาก มักเกิด DI จน dehydration
- Frequent lab tests
- Swan-Ganz catheter เลือกใช้ในรายที่มีปัญหาในเรื่องของ cardiovascular จริงๆ

Goal of management

- เราต้องการให้ perfusion ไปที่ organ ดีที่สุด โดยการ maintain physiologic status ของ donor ให้ใกล้เคียงธรรมชาติมากที่สุด เพื่อ -> increase usability of organs
- SBP 100-120 mmHg
- CVP 8-10 mmHg
- UOP 100-300/hr
- Core temperature > 35 Celsius
- PaO₂ 80-100 mmHg
- SO₂ > 95%
- pH 7.35-7.45
- HCT 30-35%

Cardiovascular support

- Hypertension/Hypotension
- Hypovolemia
- Decreased vascular resistance

Respiratory support

- Frequent ET suction
- low level of PEEP (PEEP มาก กด heart)
- TV 10-15 mL/kg
- Maintain PaO₂ > 100 mmHg
- เพิ่ม FiO₂ ได้ในกรณีที่ เป็น non-lung donor (เพราะ จะมี Oxygen toxicity เกิดใน lung)

Renal function

- Maintain adequate perfusion/UOP
- Minimize use of vasopressors
- 80 % เกิด DI แล้วมี polyuria จนเกิด hypernatremia ซึ่งหากสูงมากไป (เกิน 155) liver 1/3 จะหยุดทำงานลง เพิ่มโอกาสเกิด Graft loss ได้ถึง 33% ดังนั้น ต้อง correct Na

* Criteria for Central DI : UOP > 500 mL/hr, Serum Na > 155 mEq/L

Urine sp.gr. < 1.005, serum osmolarity > 305

treatment of DI: Hypotonic solution e.g. 5% DW, 0.45% NaCl

Desmopressin, vasopressin

Cause of hypotension

- เกิดได้จากหลายสาเหตุมาก เรียงลำดับที่พบบ่อย คือ
- 1) Hypovolemia
 - เกิดได้จาก Polyuria (DI, osmotic diuresis, hypothermia), vasomotor collapse, 3rd space loss แล้ว resuscitation ไม่ทัน จนเกิดภาวะ dehydration
 - ให้ optimize volume และ ใช้ dopamine เป็น Drug of choice
 - หลีกเลี่ยง Alpha-adrenergic agonists เพราะ จะลด organ perfusion ได้
 - 2) Hypothermia
 - 3) Cardiac dysfunction
 - Arrhythmia
 - Acidosis
 - Hypoxemia
 - Excessive PEEP
 - Congestive heart failure
 - Myocardial sequelae of autonomic storm

Organ preservation

- เพื่อ preserve viability of organ ให้นานที่สุด
 - เรารู้ว่า Hypothermia slows metabolism โดยลด ครึ่งหนึ่ง ในทุก 10 องศา
 - แต่ปัญหาคือ ภาวะ Ischemia จะทำให้เกิด cell swelling ได้ เพราะ Na/K ATPase ไม่ทำงาน จนสุดท้าย cell จะตาย ดังนั้น จึงต้องมีน้ำยา preserve organ โดยเฉพาะ ได้แก่
1. Collin's solution
 2. University of Wisconsin solution (UW) ปริมาณ 1 L ราคา 10,700 บาท
 - ทั้งสองชนิดมี K สูง เพื่อให้เหมือน intracellular fluid
 - UW solution จะมีสาร impermeant อยู่ เพื่อป้องกันการเกิดภาวะ cell swelling

Ideal cadaver donor

- Young adult ที่ไม่มี medical problem
- Brain death จาก Closed head injury
- No extracerebral trauma
- Brief hospitalization
- Normal BP and HR without vasopressor
- Excellent organ function

Infectious disease consideration

- HIV, Hepatitis B (ถ้าเป็นเปลี่ยนตับไม่เอา แต่เปลี่ยนไตทำได้), Uncontrolled donor sepsis
- Hepatitis C เป็น relative C/I พอจะใส่ใน Hepatitis C ด้วยกันได้ (ถ้ายังไม่ cirrhosis)
- Syphilis แล้วแต่สถาบัน เป็นโรคที่รักษาได้หายขาด แต่ต้องระวัง HIV ร่วมด้วย
- Fungus infection ถือว่าน่ากลัวที่สุด หาก Aspergillus ขึ้น 1 colony 50% จะ death

Contraindication

- Unknown cause of death
- Extracranial malignancy
- HIV
- Uncontrolled sepsis esp. fungal

Relative contraindication

- Extreme age
- Intracranial malignancy
- HCV+
- Hepatitis B core antibody positive ตัวนี้ แปลว่า เคยรับเชื้อจริงมาแล้ว พวกนี้ genome ของ virus บางส่วน จะ incorporate เข้าไปใน hepatocyte ดังนั้น หากทำ liver transplant แล้วได้ยากดภูมิ เชื้อจะมีโอกาส flare up แล้ว transmit โรคไปยัง recipient ได้ แต่หากเปลี่ยนอวัยวะอื่นๆ ให้ทำได้
- Bacteremia

Liver transplantation

Transplant คือการผ่าตัดที่อันตราย ยากอันตราย และราคาสูง ดังนั้นควรใช้เป็นหนทางสุดท้าย

Indication

- Primary hepatic malignancy
- Chronic viral hepatitis – cirrhosis
- Fulminant hepatic failure
- Alcoholic cirrhosis

Timing for transplant (Consensus ปี 1983)

- Child-Turcotte-Pugh score ≥ 7
- MELD score (Model for end-stage liver disease) ≥ 15
- Immediate need for liver transplant
- กรณีผู้ป่วยมี variceal bleeding หรือ spontaneous bacterial peritonitis โดยไม่ขึ้นกับ Child-pugh score

Liver allocation

Allocate organ to sickest patient อาศัยความหนักเบาของโรคเป็นหลัก สมัยก่อนดูจาก UNOS status 1-4 แต่ปัจจุบัน ดูจาก MELD score (range 6-40) ยิ่งค่าสูง คือป่วยหนัก (ถ้าเป็นเด็กเรียก PELD score)

Model for end stage liver disease scoring system

Model for end stage liver disease scoring system (MELD) is a linear regression model based on objective laboratory values (INR, bilirubin level, and creatinine level). It was originally developed as a tool to predict mortality after transjugular intrahepatic portosystemic shunt (TIPS) but has been validated and used as the sole method of liver transplant allocation in United States since 2002. The MELD formula is as follows:

$$\text{MELD Score} = 9.57\ln(\text{SCr}) + 3.78\ln(\text{Tbil}) + 11.2\ln(\text{INR}) + 6.43$$

Where ln represents natural logarithm. SCr is serum creatinine level (in md/dL), and Tbil is serum bilirubin level (in mg/dL)

Table 2 Child-Turcotte-Pugh (CTP) score

Variable	1 Point	2 Points	3 Points
Bilirubin level	<2 mg/dL	2 – 3 mg/dL	>3 mg/dL
Albumin level	>3.5 g/dL	2.8 – 3.5 g/dL	<2.8 g/dL
International normalized ratio (INR)	<1.7	1.7 – 2.2	>2.2
Encephalopathy	None	Controlled	Uncontrolled
Ascites	None	Controlled	Uncontrolled

Child-Turcotte-Pugh class

- Class A : 5 – 6 points
- Class B : 7 – 9 points
- Class C : 10 – 15 points

Chronic hepatitis B

- ปัจจุบัน ผลการรักษาดี ด้วยยา เช่น Lamivudine สามารถป้องกันการเกิด recurrence ได้

Chronic hepatitis C

- ยาในปัจจุบันที่ให้ interferon, ribavirin ยังไม่ effective ในการป้องกัน recurrence และผู้ป่วยมักทน Side effect ไม่ได้ เช่น กระตุ้น immune จนเกิด rejection, hemolysis ตามลำดับ

Hepatocellular carcinoma

- Most common primary liver cancer
- โดยทั่วไปการผ่าตัด มักมี recurrence ได้บ่อย ดังนั้นจึงควรรู้ก่อนว่า หากไม่ผ่าตัดจะมี prognosis อย่างไร เพื่อเปรียบเทียบ survival rate กับการทำ transplant
- จากการศึกษาพบว่า
 - 5 yr survival ของการ best supportive care อยู่ระหว่าง 0-20% (แต่ 1 yr 80% กรณี intermediate stage)
 - 5 yr survival ของการ resection อยู่ระหว่าง 38-62% (1 yr survival 70-92%)
 - 5 yr survival ของการ transplantation อยู่ระหว่าง 61-75% (1 yr survival 80-90%)
- แต่ในความเป็นจริง โดยทั่วไปตัวเลข Intention to treat ของ Transplant จะแย่กว่าที่เห็น เนื่องจากจำเป็นต้องอยู่ใน waiting list ก่อน
- Milan criteria (1996) ศึกษาข้อมูลในคนไข้ 48 คน ระบุว่า criteria ที่ดีในการเปลี่ยนตับ ได้แก่
 - Tumor ก้อนเดียว ขนาด < 5 cm
 - Tumors ไม่เกิน 3 ก้อน โดยที่ทุกก้อน ขนาด < 3 cm
 - ไม่มี vascular invasion
- การเปลี่ยนตับในคนไข้กลุ่มนี้ จะให้ result ที่ดี มี 4 yr survival rate ถึง 75%, recurrence 8%

Pancreas transplantation

- ใช้รักษา T1DM ไม่ใช่ CA pancreas, chronic pancreatitis
- Improve quality of life แต่ไม่ได้เป็น life-saving procedure(เพราะ ยังมียา insulin)
- มี 3 setting คือ

1) Simultaneous kidney and pancreas transplant (SPK)

เนื่องจาก เวลาเป็น DM นานๆ สุดท้ายจะเกิด CKD จนต้องทำ dialysis ซึ่ง prognosis ไม่ดี การได้เปลี่ยน kidney จะ improve survival ดังนั้นจึงควรทำทั้งคู่

- Criteria คือ

1.1 T1DM

1.2 Renal failure หรือ impending

1.3 low cardiac risk

1.4 No major amputation due to diabetic vascular disease

1.5 Compliance ดี

1.6 Willingness to follow post-transplant guidelines

2) Pancreas transplant alone (PTA)

คือ เป็น DM อย่างเดียว ใต้ยังดีอยู่ เหมาะกับเคสที่ปรับ insulin ยากมาก ทำแล้วจะลดการฉีด insulin ลด complication จาก DM แต่ต้องรับผลจาก Immunosuppression แทน

- Criteria คือ

2.1 T1DM

2.2 ≥ 2 end organ complications : including peripheral/autonomic neuropathy, retinopathy, vasculopathy

2.3 Hyperlabile diabetes or hypoglycemic unawareness

2.4 no evidence of nephropathy

3) Pancreas transplant after kidney transplant (PAK)

สำหรับ T1DM with functioning transplanted kidney

Contraindication

- Severe, irreversible cardiac risk
- Severe vascular disease
- Psychiatric illness
- Severe obesity
- Presence of active infection
- Recent malignancy
- Active substance abuse or dependence

Ideal pancreas donor

- Age 10-40
- Weight 30-80
- No pancreatic injury, fatty infiltration, aberrant hepatic artery anatomy

Technique

เวลาเปลี่ยน pancreas นอกจาก insulin จะมีสิ่งที่ได้ควบคุมด้วย คือ pancreatic enzyme

- Exocrine drainage

จะต่อกับ Bladder หรือ enteric drain แต่นิยมต่อกับ enteric มากกว่า

- Venous drainage

ต่อเข้ากับ systemic system ผ่าน Iliac vein หรือ portal system คือทาง portal vein โดยการต่อกับ portal vein นั้นดีกว่า

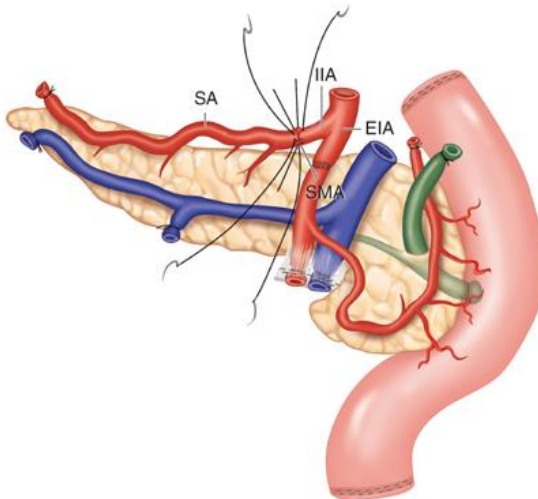


Fig. 8 Harvested pancreas and reconstruction (back-table prepared)

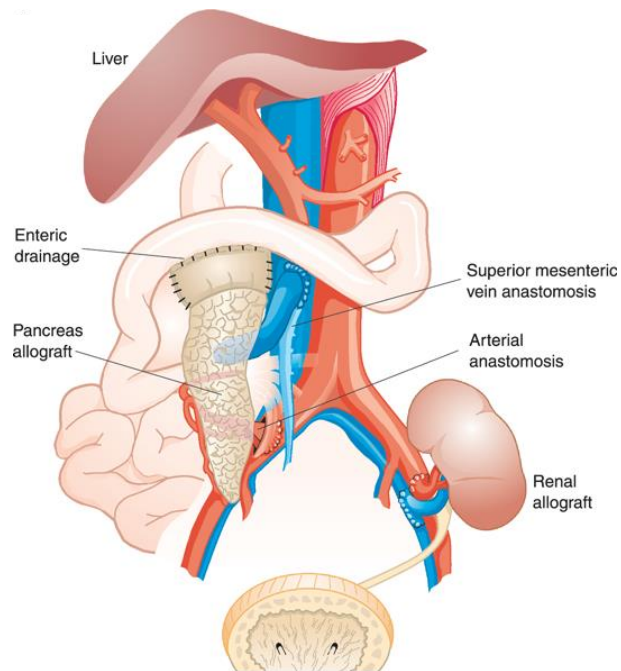


Fig. 9 Porto-enteric reconstruction

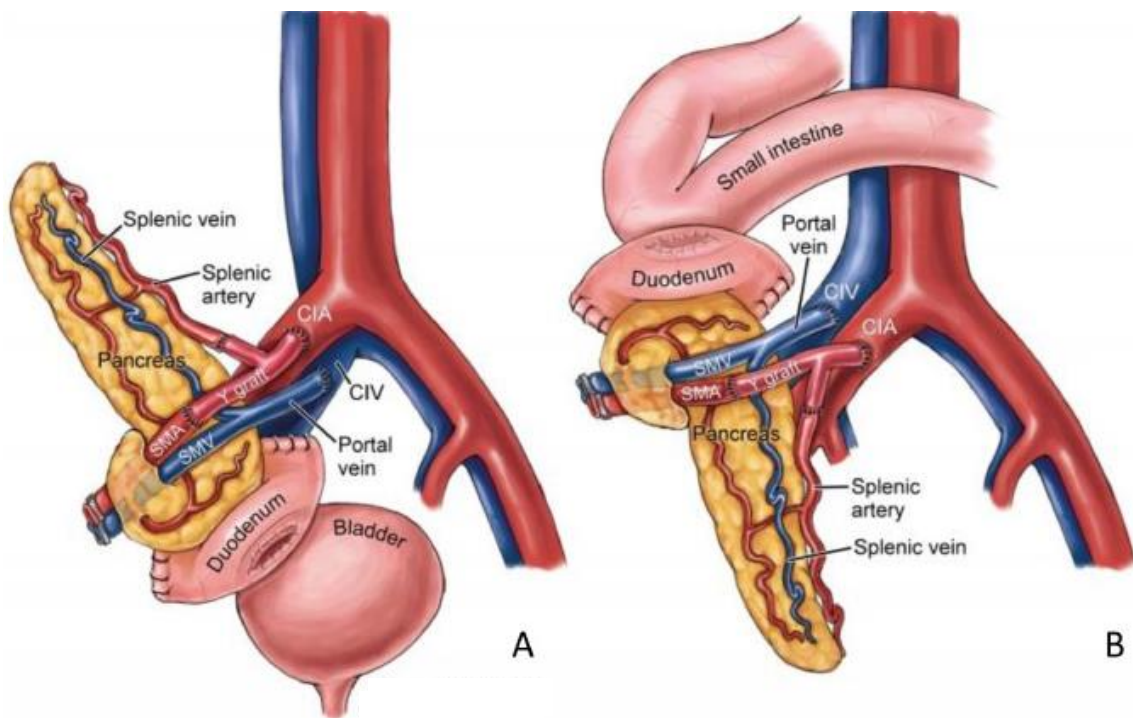


Fig. 10 Pancreatic transplantation (A) Bladder drainage, (B) Enteric drainage

Intestinal transplantation

- ปัจจุบัน survival ของคนไข้ที่ทำ small bowel transplantation นั้นต่ำกว่า การให้ TPN
- Indication: Intestinal failure ที่ให้ TPN ไม่ได้ หรือให้แล้วเกิดปัญหา (เช่น Short bowel syndrome, Intestinal motility disorder, congenital epithelial mucosal disease)

Kidney Transplantation

ถือเป็นการรักษาหลัก ในคนไข้ ESRD เพราะ สามารถ improve quality of life, increase survival rate และ ลด cost การรักษา เมื่อเทียบกับการทำ dialysis

- Contraindication: malignancy ที่ยังไม่รักษา หรือยังไม่หายขาด, acute/chronic infection
- ต้องประเมิน CVS risk, PAD, KUB disease เช่น chronic infection, VUR

Donor nephrectomy

1. Cadaveric donor
 - ในไทย จะได้มาจาก Brain death donor โดยต้องมีการประเมิน kidney function ก่อน พิจารณาจาก อายุ U/D, cause of death ของ donor และต้องตรวจ Creatinine, UA
2. Living donor
 - คือ ไตจากผู้ยังมีชีวิต จำเป็นต้องคำนึงถึงความปลอดภัย ของ donor เป็นสำคัญ
 - ได้ไต ที่มีคุณภาพสูง เตรียมการผ่าตัดได้ดี ischemic time สั้น
 - Graft survival จะสูงกว่า cadaveric donor

Reference

- <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2012.00198/full>
- https://www.researchgate.net/figure/Mechanisms-of-action-of-calcineurin-inhibitors-within-lymphocytes-Lymphocyte-activation_fig1_230885521
- บันทึกเทปการบรรยาย Basic science หัวข้อ transplant and immunology อ.สมชัย
- ศัลยศาสตร์วิวัฒน์ เล่มที่ 55 หน้า 140-217
- Schwartz's principle of surgery, 10th edition
- Cellular and molecular immunology, 9th edition, p.199-214
- Katzung, Basic and clinical Pharmacology, 12th edition, p.58