

Klara Železnik^{1*}, Ivica Marić^{2*}

Etiologija, diagnostika in klinični pomen aloimunizacij na eritrocitne antigene

Etiology, Diagnostics, and Clinical Significance of Alloimmunization to Erythrocyte Antigens

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: transfuzija, protitelesa, hemoliza, imunohematologija, imunost

Eritrocitna aloprotitelesa nastanejo ob stiku s tujimi eritrocitnimi antigeni (po prejetju transfuzije, po presaditvi organov, med nosečnostjo), lahko pa nastanejo tudi brez jasnega predhodnega imunskega dražljaja. V tem primeru govorimo o t. i. naravno prisotnih protitelesih. Na nastanek aloimunizacije vpliva mnogo dejavnikov. Med najpomembnejšimi so genetski dejavniki (npr. fenotip humanih levkocitnih antigenov prejemnika), vplivi okolja (npr. način priprave krvnih komponent), trajanje stika s tujim antigenom, imunogenost eritrocitnih antigenov, stopnja neskladnosti med prejemnikom in dajalcem oz. nosečnico in plodom, imunski status ter pridružena obolenja pri prejemniku. Eritrocitna protitelesa lahko povzročijo hemolitično transfuzijsko reakcijo pri prejemniku transfuzije ter hemolitično bolezen ploda in novorojenčka. Dodatni zapleti so težave pri zagotavljanju skladnih enot eritrocitov, podaljšanje časa predtransfuzijskega testiranja in posledični zamik pri sproščanju krvi ter višji finančni stroški obravnave bolnika. Zakonodaja opredeljuje presejalno testiranje na prisotnost eritrocitnih protiteles pri nosečnicah, prejemnikih transfuzije in krvodajalcih. Objav statističnih podatkov o incidenci aloimunizacij za Slovenijo ni. Groba ocena je, da ima 1–1,5 % bolnikov prisotna aloimuna protitelesa, kar je primerljivo z nekaterimi tujimi raziskavami. Aloimunizacija med krvodajalci je po naših ocenah še redkejša (< 0,001 %).

ABSTRACT

KEY WORDS: transfusion, antibodies, hemolysis, immunohematology, immunity

Red cell alloantibodies can be formed after contact with foreign red cell antigens (after a transfusion or organ transplant, during pregnancy). Naturally occurring antibodies may also be present without an obvious previous immune stimulus. Many factors influence the occurrence of alloimmunization. Among the most important are genetic factors (e.g., human leukocyte antigen phenotype of the recipient), environmental influences (e.g., processing of blood components), duration of contact with the foreign antigen, immunogenicity of erythrocyte antigens, degree of mismatch between recipient and donor or pregnant

* Avtorja si delita mesto prvega avtorstva

¹ Dr. Klara Železnik, dr. med., Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino, Šlajmerjeva ulica 6, 1000 Ljubljana; klara.zeleznik@ztm.si

² Ivica Marić, dr. med., Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino, Šlajmerjeva ulica 6, 1000 Ljubljana

woman and fetus, immune status, and comorbidities of the recipient. Depending on the clinical significance of the red cell antibodies, they may cause a hemolytic transfusion reaction in the transfused recipient and hemolytic disease of the fetus and newborn. Additional complications include difficulties in providing compatible units of erythrocytes, prolongation of the pre-transfusion testing time with the consequent delay in the issue of the blood, and increased financial costs of patient management. The legislation defines red cell antibody screening for pregnant women, transfusion recipients, and blood donors. There are no published statistics on the incidence of alloimmunizations for Slovenia. A rough estimate is that between 1 and 1.5% of patients have antibodies present, which is comparable to some foreign studies. We estimate that alloimmunization among blood donors is even rarer ($< 0.001\%$).

UVOD

Transfuzija je del osnovnega zdravljenja mnogih obolenj. V ZDA je z 11 milijoni transfuzij letno zdravljenje s krvnimi komponentami najpogostejše izveden postopek pri hospitaliziranih bolnikih (1). Omenjenega podatka za Slovenijo sicer nimamo, vendar je s približno 100.000 izdanimi krvnimi komponentami letno transfuzija verjetno med pogostejše izvedenimi postopki zdravljenja (2). Obravnave hudih oblik anemij,

trombocitopenij ali krvavitev si ne moremo predstavljati brez transfuzijske podpore. Zdravljenje s krvnimi komponentami je varno, vendar kljub temu lahko pride do zapletov oz. neželenih učinkov (tabela 1). Med najpogostejšimi transfuzijskimi reakcijami sta nehemolitična vročinska transfuzijska reakcija (angl. *non-hemolytic febrile transfusion reaction*, NHFTR) z mrzlico ali brez ter blaga alergijska reakcija s kožno reakcijo v ospredju. Med pogostejšimi zaple-

Tabela 1. Neželeni učinki zdravljenja s transfuzijo. TRALI – s transfuzijo povzročena okvara pljuč (angl. *transfusion-related acute lung injury*), TACO – s transfuzijo povezana volumna preobremenitev (angl. *transfusion-associated circulatory overload*), GVHD – bolezen presadka proti gostitelju (angl. *graft-versus-host disease*).

Akutne reakcije (nastanek < 24 ur po transfuziji) – imunske	Akutne reakcije (nastanek < 24 ur po transfuziji) – neimunske
hemolitična reakcija	sepsa
vročinska nehemolitična reakcija	hipotenzija
TRALI	TACO
alergijska reakcija	sepsa
	neimunska hemoliza
	zračna embolija
	hipokalcemija
Odložene reakcije (nastanek > 24 ur po transfuziji) – imunske	Odložene reakcije (nastanek > 24 ur po transfuziji) – neimunske
aloimunizacija	preobremenitev z železom
hemolitična reakcija	prenos okužbe
GVHD	
potranfuzijska purpura	

ti transfuzije je tudi aloimunizacija. Aloimunizacija je imunski odgovor telesa s tvorbo protiteles proti vnesenemu tujemu (telesu nelastnemu) antigenu. Posledica aloimunizacije na eritrocitne antigene je lahko hemoliza, ki se kaže v obliki akutne ali odložene hemolitične transfuzijske reakcije (HTR) in hemolitične bolezni ploda oz. novorojenca (HBPN). Aloimunizacija ima lahko še dodatne zaplete, kot so težave pri zagotavljanju antigeno ustreznih enot, podaljšanje časa predtransfuzijskega testiranja in posledičnega zamika pri sproščanju krvi za namene transfuzije ter višji strošek obravnave bolnika. Čeprav lahko tvorimo protitelesa proti kateremukoli antigenu na različnih krvnih celicah, se bomo v tem preglednem članku omejili na etiologijo, klinični pomen in diagnostiko aloimunizacij na eritrocitne antigene ter predstavili dostopne epidemiološke podatke za bolnike in krvodajalce v Sloveniji (3–7).

ZNAČILNOSTI ERITROCITNIH ANTIGENOV

Eritrocitni antigeni so dedna znamenja, ki jih podedujemo od staršev. Poleg eritrocitov najdemo nekatere eritrocitne antigene tudi na drugih celicah, tkivih oz. organih, kot so trombociti, endotelij, ledvice, srce, črevo, trebušna slinavka in pljuča (8). Trenutno je poznanih 354 eritrocitnih antigenov, ki so razporejeni v 44 krvnoskupinskih sistemov (9). Glede na biokemijsko zgradbo eritrocitne antigene v splošnem delimo na beljakovine in ogljikove hidrate. Vzrok za razliko med posameznimi eritrocitnimi antigeni znotraj krvnoskupinskega sistema so lahko le polimorfizmi posamezne aminokisline (npr. KEL1/KEL2, DI1/DI2, DO1/DO2 itd.), pri drugih sistemih pa se antigeni med sabo razlikujejo v številnih aminokislinah (npr. sistem rezus (angl. *rhesus*, Rh)). Z razvojem molekularnobioloških preiskav so ugotovili, da imajo lahko določeni antigeni številne variantne oblike. Med najbolj raziskanimi so ABO, RHD in RHCE.

Določeni eritrocitni antigeni se razvijajo že zelo zgodaj v embriogenezi (antigeni sistema ABO se razvijajo že od petega do šestega tedna nosečnosti), drugi pa se razvijajo šele več let po porodu (antigen I je značilen za odraslo populacijo in se dokončno razvije v adolescenci). Na izražanje (fenotip) eritrocitnih antigenov lahko vplivajo nekatera obolenja in stanja, kot so hematološke maligne bolezni, presaditev krvotvornih matičnih celic, nosečnost itd. Vloga eritrocitnih antigenov je različna in v večini primerov nepopolno pojasnjena. Med drugim eritrocitni antigeni sodelujejo pri celičnem sporazumevanju kot receptorji, transportni kanali in encimi. Sodelujejo tudi pri celični adheziji, vzdrževanju celične integritete, imunskih reakcijah, vnetjih in okužbah (7, 8, 10, 11).

ALOIMUNIZACIJA

Aloimunizacija je tvorba protiteles proti antigenom, ki so telesu tuji. Naravno prisotna protitelesa anti-A in/ali anti-B iz sistema ABO so normalna in pričakovana najdba v serumu oz. plazmi odrasle osebe. Vsa ostala protitelesa proti eritrocitnim antigenom izven sistema ABO so nepričakovana.

Mehanizem aloimunizacije na eritrocitne antigene ni dokončno pojasnjen. Za aloimunizacijo morata biti izpolnjena dva osnovna pogoja. Prvi je izpostavljenost tujemu (eritrocitnemu) antigenu, najpogostejše s transfuzijo ali nosečnostjo. Drugi je prisotnost ustreznega podtipa humanega levkocitnega antigena (HLA), ki je sposoben predstaviti tujega antigena. Odkrili so številne podtipove HLA, ki so sposobni predstaviti eritrocitnih antigenov, predvsem pomemben je podrazred HLA-DR (1, 12–14). Upoštevajoč le omenjena pogoja bi večina bolnikov po transfuziji eritrocitov razvila protitelesa, vendar jih ne, kar pomeni, da obstajajo še dodatni dejavniki.

Na oba, dajalca in prejemnika transfuzije, vplivajo tako genetski dejavniki kot

dejavniki okolja. Različni načini priprave krvnih komponent imajo za posledico različno koncentracijo citokinov in drugih molekul, ki aktivirajo imunski sistem ter posledično vodijo v različne stopnje imunogenosti krvne komponente. Krvne komponente z višjo koncentracijo mikro RNA (miRNA) so bolj imunogene, saj naj bi miRNA uravnavala delovanje limfocitov T. Na imunizacijo vpliva tudi hitrost odstranjevanja dajalčevih eritrocitov iz krvnega obtoka prejemnika. Hitrejša kot je odstranjevanje eritrocitov (stari ali poškodovani eritrociti, krvavitev itd.), tem krajši je čas izpostavitve tujemu antigenu in manjša je verjetnost imunizacije (15, 16).

Na imunizacijo vplivajo tudi lastnosti antigenov na dajalčevih eritrocitih. Eritrocitni antigeni se razlikujejo v imunogenosti – med najbolj imunogenimi so antigeni D, K, E, FY^a in Jk^a. Pri tem sta pomembni stopnja razlike med dajalcem in prejemnikom ter velikost antigena. Polimorfizmi posamezne aminokisline so manj imunogeni kot popolna odsotnost gena (npr. popolna delecija *RHD* pri D-negativnih posameznikov kavkazijske rase). Večji antigeni imajo več regij, ki jih lahko molekule HLA predstavijo kot tuje. Pomembno vlogo ima tudi koncentracija antigena na površini eritrocitov, saj antigeni v nizki koncentraciji ne spodbujajo imunskega odziva k tvorbi protiteles (7, 15, 17).

Poleg omenjenega je pomemben tudi prejemnik, predvsem stanje njegovega imunskega sistema. Poleg razlik v sistemu HLA so pomembne tudi genetske razlike v ekspresiji limfocitov B z označevalcem pripadnosti 81 (angl. *cluster of differentiation 81*), znotrajceličnega receptorja za protitelesa, vsebujoča tripartitni motiv 21 (angl. *tripartite motif containing-21*, TRIM21), regulatornih limfocitov T s CD4 ali CD25, stanje komplementa itd. (12, 15, 16, 18). Pomembna so tudi pridružena obolenja pri prejemniku, predvsem tista, ki vplivajo na imunski odziv (avtoimunska obolenja oz. prisotnost avto-

protiteles, okužbe itd.). Na imunizacijo lahko vpliva prisotnost bakterijskih lipopolisaharidov (15, 19–21). Občasno pri posameznikih zaznamo t. i. naravna eritrocitna protitelesa, ki so posledica stimulacije iz okolja in niso posledica izpostavljenosti eritrocitnim antigenom, saj imajo določene bakterije na svoji površini antigene, ki so jim podobni (15).

V splošnem je stopnja senzibilizacije med bolniki, ki so prejeli transfuzijo, relativno nizka, med 0,5 in 4 %. Se pa močno zviša med bolniki, ki so na dolgotrajnem podpornem zdravljenju s krvnimi komponentami (bolniki z anemijo srpastih celic, mielodisplastičnim sindromom, talasemijo itd.), kjer celo do 50 % prejemnikov razvije protitelesa proti eritrocitnim antigenom (1, 22–26). Eritrocitna protitelesa so večina imunoglobulini razreda G (IgG) in M (IgM), izjemoma oz. v sledovih pa lahko zaznamo tudi imunoglobuline razreda A (IgA). Splošno pravilo, da pri primarnem imunskem odgovoru prevladujejo IgM, ki nato preidejo v IgG, pri eritrocitni serologiji ne velja povsem, saj lahko pogosto še dolgo po primarni senzibilizaciji zasledimo oba razreda protiteles.

Klinični pomen eritrocitnih antigenov oz. protiteles

Klinično pomembna protitelesa so tista, ki lahko povzročijo HTR in/ali HBPN. Klinični pomen je odvisen od pogostosti antigena v populaciji, kako pogosto se pojavljajo specifična protitelesa znotraj krvnoskupinskega sistema in značilnosti protiteles, kot so razred in podrazred, temperaturno območje delovanja ter sposobnost aktivacije komplementa.

Glede na čas nastanka v odvisnosti od prejema transfuzije in mesto hemolize delimo HTR na akutno in odloženo. Klinični potek je hujši pri akutni HTR, za katero je značilna znotrajžilna liza eritrocitov, ki je posledica aktivacije komplementa in posledičnega oblikovanja t. i. kompleksa mem-

branskega napada (angl. *membrane attack complex*, MAC). Skoraj vedno so vzrok IgM, tipično proti antigenom sistema ABO, čeprav so sposobna sprožiti akutno hemolizo tudi protitelesa proti nekaterim drugim eritrocitnim antigenom. Zgolj nekaj mililitrov ABO neskladnih eritrocitov lahko povzroči hudo obliko akutne HTR, ki se lahko konča s smrtjo bolnika. Vzrok za ABO neskladno transfuzijo je skoraj vedno človeška napaka, najpogostejše zaradi napake pri odvzemu vzorca krvi in pri identifikaciji bolnika pred transfuzijo. Zaradi številnih varnostnih mehanizmov je akutna HTR zaradi neskladja v sistemu ABO redek dogodek z incidenco 1 na 76.000 transfuzij oz. s smrtnim izidom pri 1 na 1,8 milijona transfuzij (27, 28).

Pri odloženi HTR fagociti odstranjujejo s protitelesi in/ali s C3b označene eritrocite. Poteka zunajžilno v retikuloendotelijskem sistemu predvsem vranice in jeter. V primeru odložene HTR je izraz hemoliza zastarel in zavajajoč, saj ni dejanske lize eritrocitov, ampak so neskladni eritrociti odstranjeni s fagocitozo, podobno kot pri fiziološki odstranitvi ostarelih eritrocitov. Večinoma so vzrok IgG. Obseg hemolize in posledično klinična slika ter ogroženost bolnika so odvisni od titra protiteles in podrazreda IgG. Protitelesa z nizkim titrom načeloma povzročajo postopno hemolizo z blagim ali nepomembnim kliničnim pomenom. Nasprotno lahko protitelesa z visokim titrom povzročijo burno klinično sliko ter celo ogrozijo življenje bolnika. V izjemnih primerih lahko IgG z zelo visokim titrom povzročijo akutno HTR. Pomemben je tudi podrazred IgG, saj je dokazano, da podrazreda IgG2 in IgG4 ne povzročata hemolize, medtem ko IgG1 in IgG3 jo. Večina protiteles je poliklonske narave in mešanica več razredov in podrazredov (27, 28).

Če plod od očeta podeduje antigene, ki jih mama nima, lahko pride zaradi fetomaternalnih krvavitev do aloimunizacije in tvorbe protiteles proti plodovim antigenom.

HBPN je posledica hemolize plodovih eritrocitov, ki jo povzročajo materina protitelesa, ki prehajajo skozi posteljico v plodov krvni obtok. Skozi posteljico lahko prehajajo samo IgG, IgM pa zaradi svoje velikosti ne prehajajo. Materina protitelesa se v plodovem krvnem obtoku vežejo na dotične eritrocitne antigene, kar povzroči pospešen razpad eritrocitov v retikuloendotelijskem sistemu ploda s posledično anemijo (29).

Najpogostejša klinično pomembna protitelesa so protitelesa iz sistema ABO (anti-A in anti-B), iz sistema Rh (anti-D, anti-C, anti-E, anti-c anti-e in anti-C^w), iz sistema Kell (anti-K) in iz sistemov Kidd (JK), Duffy (FY) ter MNS (tabela 2) (29, 30).

Odkrivanje aloimunizacij

Protitelesa proti eritrocitnim antigenom so lahko prisotna v plazmi in/ali vezana na dotične eritrocitne antigene. Osnova večine testiranj v transfuzijski medicini je aglutinacija eritrocitov, ki jo sproži vezava antigen-protitelo. Uporabljamo dva različna testa, s katerima dokazujemo prisotnost prostih oz. vezanih protiteles. S posrednim Coombsovim testom (angl. *indirect Coombs test*, ICT) oz. posrednim antiglobulinskim testom dokazujemo prisotnost protiteles v plazmi, z neposrednim Coombsovim testom (angl. *direct Coombs test*, DCT) pa njihovo vezavo na eritrocitne antigene. Osnova ICT je inkubacija plazme s komercialnimi (testnimi) eritrociti z znano antigensko sestavo v mediju z dodanim antihumanim globulinom (AHG). Če so v plazmi prisotna protitelesa, se ta vežejo na testne eritrocite, AHG pa navzkrižno poveže protitelesa med seboj in okrepi reakcijo, ki jo s prostim očesom vidimo kot aglutinacijo testnih eritrocitov. V primeru pozitivnega ICT nadalje s specifikacijo eritrocitnih protiteles opredelimo njihovo specifičnost. Princip specifikacije je enak kot pri ICT z izjemo številčnejšega nabora testnih eritrocitov z različnimi fenotipi. Na podlagi pozitivnih in negativnih rezultatov

Tabela 2. Klinični pomen najpogostejših eritrocitnih protiteles iz sistema ABO (anti-A in anti-B), iz sistema Rh (anti-D, anti-C, anti-E, anti-c, anti-e in anti-C^w), iz sistema Kell (anti-K) in iz sistemov Kidd (JK), Duffy (FY) ter MNS (31). HTR – hemolitična transfuzijska reakcija, HBPN – hemolitična bolezen ploda oz. novorojenca, Rh – sistem rezus (angl. *rhesus*).

Sistem	Protitelo	Klinični pomen protiteles	
		HTR	HBPN
ABO	anti-A	• brez reakcije do hude oblike (življenje ogrožajoča), • akutna ali odložena, • znotraj- ali zunajžilna	• blaga do zmerna oblika (redko)
	anti-B		
Rh	anti-D	• zmerna do huda, • odložena ali akutna	• zmerna do huda
	anti-C	• zmerna do huda, • odložena ali akutna	• blaga
	anti-E	• zmerna do huda, • odložena ali akutna	• blaga
	anti-c	• zmerna do huda, • odložena ali akutna	• zmerna do huda
	anti-e	• blaga do zmerna, • odložena	• blaga (redko)
	anti-C ^w	• zmerna do huda, • odložena ali akutna	• blaga do zmerna
Kell	anti-K	• zmerna do huda, • odložena	• zmerna do huda
	anti-k	• blaga do zmerna, • odložena	• zmerna do huda (redko)
	anti-Kp ^a	• blaga do zmerna, • odložena	• zmerna do huda
Duffy (FY)	anti-FY ^a	• zmerna do huda, • odložena ali akutna	• zmerna do huda (redko)
	anti-FY ^b	• blaga do zmerna, • odložena	• zmerna (redko)
Kidd (JK)	anti-Jk ^a	• zmerna do huda, • odložena ali akutna	• blaga do zmerna (redko)
	anti-Jk ^b	• zmerna do huda, • odložena ali akutna	• blaga do zmerna (redko)
MNS	anti-M	• izjemno redko	• izjemno redko
	anti-N	/	/
	anti-S	• zmerna (redko)	• zmerna do huda (zelo redko)
	anti-s	• zmerna (redko)	• zmerna do huda (zelo redko)
Lutheran (LuLU)	anti-Lu ^a	/	• blaga (redko)
	anti-Lu ^b	• zmerna	• blaga
Lewis (LE)	anti-Le ^a	/	/
	anti-Le ^b	/	/

(prisotnost in odsotnost aglutinacije) sklepamo, kakšna je specifičnost protiteles (npr. protitelesa anti-D podajo pozitiven rezultat samo z D-pozitivnimi testnimi eritrociti). ICT in specifikacija protiteles sta rutinska testa za določitev prisotnosti in specifičnosti eritrocitnih protiteles. V primeru nejasne specifičnosti si lahko pomagamo še z encimsko obdelanimi testnimi eritrociti; med najpogostejše uporabljenimi encimi sta papain ter bromelin. Dodatna imunohematološka testiranja so še določitev titra protiteles, elucija protiteles in adsorpcija protiteles (32–34).

Podatki za Slovenijo

Zakon o preskrbi s krvjo (Pravilnik o transfuzijskih preiskavah in postopkih ob transfuziji) določa obvezne imunohematološke preiskave pri nosečnicah ter pri bolnikih pred transfuzijo. Nosečnici do 12. tedna nosečnosti določimo krvno skupino in izvedemo ICT. Bolniku pred transfuzijo katere koli krvne komponente (eritrociti, trombociti, plazma, granulociti) določimo krvno skupino, pred transfuzijo eritrocitov in granulocitov pa dodatno izvedemo še ICT in navzkrižni preizkus med prejemnikovo plazmo in eritrociti krvodajalca (35, 36).

Številčni podatki za Slovenijo so pomanjkljivi, saj nimamo enotnega informacijskega sistema, iz katerega bi lahko pridobili informacijo o incidenci med slovenskimi bol-

niki in nosečnicami. Razpolagamo s podatkom o deležu pozitivnih ICT med bolniki, za katere smo prejeli naročilo eritrocitov, in deležu protiteles glede na specifičnost. Na letni ravni na Zavodu Republike Slovenije za transfuzijsko medicino (ZTM), ki pokriva približno dve tretjini nacionalne preskrbe s krvjo, pridobimo približno 4 % pozitivnih rezultatov ICT, kar zajema bolnike z že znanimi protitelesi, z novoodkritimi protitelesi in z avtoprotitelesi ter bolnike, ki imajo pozitiven ICT zaradi zdravljenja (npr. daratumumab). S približno 300 novoodkritimi aloimunizacijami letno je ocenjena incidenca aloimunizacij med bolniki 1–1,5 %, kar je primerljivo z nekaterimi tujimi raziskavami (22, 23, 26). Najpogostejše odkrita protitelesa so anti-E (26 %), anti-M (12 %) in anti-K (9 %), v čemer smo primerljivi s tujimi raziskavami (tabela 3). Razlikujemo se v nižjem številu odkritih protiteles anti-K, kar je pričakovano, saj v Sloveniji zagotavljamo skladne enote eritrocitov tudi v antigenu K, v tujini pa ni vedno tako (22, 23, 38). Raziskave med bolniki navajajo zelo različno incidenco aloimunizacij, kar je razumljivo, saj na rezultat zelo pomembno vpliva, katere bolnike vključimo v raziskavo (npr. bolniki na dolgotrajnem zdravljenju imajo višjo stopnjo aloimunizacij kot kirurški bolniki), v kateri ustanovi se raziskava izvaja (ustanove, ki obravnavajo hematološke bolnike, imajo

Tabela 3. Podatki za Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino: pregled aloimunizacij pri bolnikih glede na specifičnost protiteles v obdobju 2012–2021.

Specifičnost protiteles	%	Specifičnost protiteles	%	Specifičnost protiteles	%
anti-E	26	anti-C ^w	6	anti-Kp ^a	2
anti-M	12	anti-Le ^a	5	anti-Jk ^b	1
anti-K	9	anti-C	4	anti-Le ^b	1
anti-c	7	anti-Lu ^a	4	anti-e	< 1
anti-Jk ^a	7	anti-Fy ^a	3	anti-s	< 1
anti-D	6	anti-S	2	anti-N	< 1

Tabela 4. Podatki za Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino: število testiranih enot krvi in število (odstotek) enot krvi, pri katerih smo pridobili pozitiven rezultat ICT med leti 2017–2021. ICT – posredni Coombsov test (angl. *indirect Coombs test*).

Leto	Število testiranih enot krvi	Število (%) enot s pozitivnim ICT
2017	61.201	52 (< 0,001 %)
2018	60.309	46 (< 0,001 %)
2019	58.043	48 (< 0,001 %)
2020	52.313	60 (0,001 %)
2021	57.421	82 (0,001 %)

višjo stopnjo aloimunizacij kot ustanove, ki obravnavajo samo kirurške bolnike), ali so v raziskavo vključene ženske (pri ženskah, ki so bile noseče, je včasih težko opredeliti, ali je odkrita aloimunizacija posledica nosečnosti ali transfuzije) itd. Glede na nekatere raziskave odkrijemo le tretjino bolnikov, ki po transfuziji tvorijo protitelesa, bodisi ker bolnika po transfuziji ne dobimo več v imunohematološko obravnavo bodisi ker titer protiteles do naslednjega predtransfuzijskega testiranja pade pod mejo zaznave (1, 27, 38).

Od leta 2005 smo v Službi za hemovigilanco obravnavali 35 prijav odložene HTR (1,6 % vseh prijavljenih transfuzijskih reakcij). Vsi obravnavani primeri so imeli blago do zmerno hemolizo z ugodnim kliničnim potekom. Primera akutne HTR ali smrti bolnika zaradi aloimunizacije oz. transfuzije krvne komponente nismo zaznali.

Natančnejši podatki so dostopni za področje imunohematološkega testiranja krvodajalcev, ki ga izvajajo na ZTM in ga prav tako opredeljuje Zakon o preskrbi s krvjo (35). Pravilnik o obveznem testiranju krvi in komponent krvi med drugim določa, da moramo pri vsaki odvzeti enoti krvi določiti ICT in krvno skupino ABO in D (35, 37). Za transfuzijo bolnikom lahko namenimo zgolj kri, v kateri protiteles proti eritrocitnim antigenom nismo dokazali. Na državnem nivoju na ZTM zberemo približno dve tretjini krvi, preostalo tretji-

no pa zberejo v Centru za transfuzijsko medicino Maribor in v Transfuzijskem centru Celje. Tabela 4 prikazuje celokupno število na ZTM zbranih in testiranih enot krvi ter število (odstotek) enot krvi, pri katerih smo pridobili pozitiven rezultat ICT. Najpogostejše odkrita protitelesa med krvodajalci so t. i. naravna protitelesa (anti-M, anti-Le^a, anti-E), ki niso posledica predhodne transfuzije ali nosečnosti ter so pogosto prehodne narave. Aloimunizacija je pri zdravi populaciji dajalcev krvi redek pojav.

ZAKLJUČEK

ICT in specifikacija protiteles sta rutinska testa za opredelitev prisotnosti in specifičnosti eritrocitnih protiteles. Zaradi kliničnega pomena določenih eritrocitnih protiteles je ICT obvezna preiskava pri nosečnicah, pri bolnikih pred transfuzijo eritrocitov in granulocitov ter pri dajalcih krvi pri vsakem darovanju kri.

Točnih podatkov glede aloimunizacij pri bolnikih za Slovenijo nimamo. Groba ocena ZTM je, da ima 1–1,5 % bolnikov prisotna protitelesa. Najpogostejše specificirana protitelesa so anti-E, anti-M in anti-K. Primera smrti zaradi neodkritih aloimunizacij v Sloveniji nismo zaznali, kar je posledica dobrega sistema presejalnega testiranja na prisotnost nepričakovanih eritrocitnih protiteles ter izvajanja serološkega navzkrižnega preizkusa, ki ga v nekaterih državah ne izvajajo.

Aloimunizacija je med krvodajalci redek pojav. Najpogostejše odkrita protitelesa so naravna protitelesa. Enote krvi, ne glede na vrsto komponente (eritrociti, trombociti, sveža zamrznjena plazma), pri kateri smo ugotovili prisotnost nepričakovanih eri-

trocitnih protiteles, ne smemo uporabiti za transfuzijo ali za izdelavo zdravil iz krvi. V odvisnosti od specifičnosti prisotnih protiteles pri krvodajalcu za določeno obdobje (nekaj let) darovanje krvi odklonimo.

LITERATURA

1. Tormey CA, Hendrickson JE. Transfusion-related red blood cell alloantibodies: Induction and consequences. *Blood*. 2019; 133 (17): 1821. doi: 10.1182/blood-2018-08-833962
2. Razboršek I, Brčić I, Cukjati M, et al. Življenje teče. Poročilo o transfuzijski dejavnosti v Sloveniji med epidemijo covid-19 (2020–2021). Ljubljana: Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino; 2021.
3. Sharma S, Sharma P, Tyler LN. Transfusion of blood and blood products: Indications and complications. *Am Fam Physician*. 2011; 83 (6): 719–24.
4. Abdallah R, Rai H, Panch SR. Transfusion reactions and adverse events. *Clin Lab Med*. 2021; 41 (4): 669–96. doi: 10.1016/j.clm.2021.07.009
5. Marić I, Brčić I. Hemovigilanca – Poročilo Službe za hemovigilanco za leto 2020. *ISIS*. 2021; 11: 48–50.
6. Marić I, Mlakar P, Brčić I. Respiracijske transfuzijske reakcije. *Zdrav Vestn*. 2017; 86 (9–10): 414–21.
7. Zimring JC, Hudson KE. Cellular immune responses in red blood cell alloimmunization. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2016; 2016 (1): 452–6. doi: 10.1182/asheducation-2016.1.452
8. Olsson ML, Westman JS. ABO and other carbohydrate blood group systems. In: Cohn CS, Delaney M, Johnson ST, et al., eds. *Technical Manual*. 20th ed. Bethesda: Association for the Advancement of Blood & Biotherapies; 2020. p. 297–328.
9. ISBT: Red cell immunogenetics and blood group terminology [internet]. Amsterdam: International Society of Blood Transfusion; c2025 [citirano 2022 Sep 20]. Dosegljivo na: <https://www.isbtweb.org/isbt-working-parties/rcibgt.html>
10. Peyrard T, Wagner FF. The Rh system. In: Cohn CS, Delaney M, Johnson ST, et al., eds. *Technical Manual*. 20th ed. Bethesda: Association for the Advancement of Blood & Biotherapies; 2020. p. 329–54.
11. Melland C, Nance S. Other blood group systems and antigens. In: Cohn CS, Delaney M, Johnson ST, et al., eds. *Technical Manual*. 20th ed. Bethesda: Association for the Advancement of Blood & Biotherapies; 2020. p. 355–88.
12. Bao W, Yu J, Heck S, et al. Regulatory T-cell status in red cell alloimmunized responder and nonresponder mice. *Blood*. 2009; 113 (22): 5624–7. doi: 10.1182/blood-2008-12-193748
13. Chiaroni J, Dettori I, Ferrera V, et al. HLA-DRB1 polymorphism is associated with Kell immunisation. *Br J Haematol*. 2006; 132 (3): 374–8. doi: 10.1111/j.1365-2141.2005.05868.x
14. Reviron D, Dettori I, Ferrera V, et al. HLA-DRB1 alleles and Jk(a) immunization. *Transfusion*. 2005; 45 (6): 956–9. doi: 10.1111/j.1537-2995.2005.04366.x
15. Ryder AB, Zimring JC, Hendrickson JE. Factors influencing RBC alloimmunization: Lessons learned from murine models. *Transfus Med Hemother*. 2014; 41 (6): 406–19. doi: 10.1159/000368995
16. Hendrickson JE, Eisenbarth SC, Tormey CA. Red blood cell alloimmunization: New findings at the bench and new recommendations for the bedside. *Curr Opin Hematol*. 2016; 23 (6): 543–9. doi: 10.1097/MOH.0000000000000277
17. Arthur CM, Patel SR, Smith NH, et al. Antigen density dictates immune responsiveness following red blood cell transfusion. *J Immunol*. 2017; 198 (7): 2671–80. doi: 10.4049/jimmunol.1601736
18. Mener A, Arthur CM, Patel SR, et al. Complement component 3 negatively regulates antibody response by modulation of red blood cell antigen. *Front Immunol*. 2018; 9: 676. doi: 10.3389/fimmu.2018.00676

19. Ryder AB, Hendrickson JE, Tormey CA. Chronic inflammatory autoimmune disorders are a risk factor for red blood cell alloimmunization. *Br J Haematol*. 2016; 174 (3): 483–5. doi: 10.1111/bjh.13781
20. Ahrens N, Pruss A, Kähne A, et al. Coexistence of autoantibodies and alloantibodies to red blood cells due to blood transfusion. *Transfusion*. 2007; 47 (5): 813–6. doi: 10.1111/j.1537-2995.2007.01194.x
21. Ahrens N, Pruss A, Mayer B, et al. Association between alloantibody specificity and autoantibodies to red blood cells. *Transfusion*. 2008; 48 (1): 20–4. doi: 10.1111/j.1537-2995.2007.01505.x
22. Liu C, Grossman BJ. Antibody of undetermined specificity: Frequency, laboratory features, and natural history. *Transfusion*. 2013; 53 (5): 931–8. doi: 10.1111/trf.12070
23. Politou M, Valsami S, Dryllis G, et al. Retrospective study on prevalence, specificity, sex, and age distribution of alloimmunization in two general hospitals in Athens. *Turk J Hematol*. 2020; 37 (3): 154–66. doi: 10.4274/tjh.galenos.2020.2019.0459
24. Tormey CA, Fisk J, Stack G. Red blood cell alloantibody frequency, specificity, and properties in a population of male military veterans. *Transfusion*. 2008; 48 (10): 2069–76. doi: 10.1111/j.1537-2995.2008.01815.x
25. Pessonni LL, Ferreira MA, Silva JCRD, et al. Hematology, transfusion and cell therapy red blood cell alloimmunization among hospitalized patients: Transfusion reactions and low alloantibody identification rate. *Hematol Transfus Cell Ther*. 2018; 40 (4): 326–31. doi: 10.1016/j.htct.2018.04.001
26. Wittkopf D, Grundmann A, Sibrowski W, et al. Analysis of irregular antibodies at the department of transfusion medicine of the Hamburg-Eppendorf University Hospital 1984–1988. *Infusionstherapie*. 1990; 17 (5): 280–2.
27. Siddon AJ, Kenney BC, Hendrickson JE, et al. Delayed haemolytic and serologic transfusion reactions: Pathophysiology, treatment and prevention. *Curr Opin Hematol*. 2018; 25 (6): 459–67. doi: 10.1097/MOH.0000000000000462
28. Flegel WA. Pathogenesis and mechanisms of antibody-mediated hemolysis. 2015; 55 (Suppl 2): S47–58. doi: 10.1111/trf.13147
29. Železnik K, Drnovšek TD, Rožman P, et al. Prevention and diagnostics of haemolytic disease of the fetus and newborn. *Zdrav Vestn*. 2012; 81 (2): 312–21.
30. Shirey RS, Boyd JS, Parwani AV, et al. Prophylactic antigen-matched donor blood for patients with warm autoantibodies: An algorithm for transfusion management. *Transfusion*. 2002; 42 (11): 1435–41. doi: 10.1046/j.1537-2995.2002.00234.x
31. Reid ME, Lomas-Francis C, Olsson ML. Front-matter. In: *The Blood Group Antigen FactsBook*. 3rd ed. Burlington: Elsevier; 2012.
32. Garratty G. Advances in red blood cell immunology 1960 to 2009. *Transfusion*. 2010; 50 (3): 526–35. doi: 10.1111/j.1537-2995.2009.02493.x
33. Orlando N, Bianchi M, Valentini CG, et al. Red cell alloantibody screening: Comparative analysis of three different technologies. *Transfus Med Hemother*. 2018; 45 (3): 179–83. doi: 10.1159/000484570
34. Hendrickson JE, Tormey CA. Red blood cell antibodies in hematology/oncology patients: Interpretation of immunohematologic tests and clinical significance of detected antibodies. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2016; 30 (3): 635–51.
35. Zakon o preskrbi s krvjo (ZPKRV-1). Uradni list RS, št. 104/06 2006.
36. Pravilnik o transfuzijskih preiskavah in postopkih ob transfuziji. Uradni list RS, št. 9/07 in 32/18. 2007.
37. Pravilnik o obveznem testiranju krvi in komponent krvi. Uradni list RS, št. 9/07 in 62/18 2007.
38. Tormey CA, Stack G. The persistence and evanescence of blood group alloantibodies in men. *Transfusion*. 2009; 49 (3): 505–12. doi: 10.1111/j.1537-2995.2008.02014.x