Laboratórne vyšetrenie nešpecifických erytrocytárnych protilátok

Laboratory examination of non-specific erythrocyte antibodies

Helena JANČEKOVÁ, Vladimír MELUŠ, Zdenka KRAJČOVIČOVÁ, Patrik BEŇOVIČ

Fakulta zdravotníctva, Trenčianska univerzita Alexandra Dubčeka v Trenčíne

ABSTRAKT

Východiská: V našej práci sme sa zaoberali problematikou laboratórneho stanovenia nešpecifických erytrocytárnych protilátok, ktoré majú klinický význam predovšetkým v transfúznej medicíne a pri diagnostike autoimunitných ochorení. Vzhľadom na variabilitu týchto protilátok sme sa sústredili na metódy ich detekcie, ich biologickú variabilitu a vplyv rozličných faktorov na ich prítomnosť a prevalenciu v populácii.

Ciele: Hlavným cieľom tejto štúdie bol dôkaz a analýza výskytu nešpecifických erytrocytárnych protilátok v súbore pacientov ako aj následné zhodnotenie ich variability. Predpokladali sme, že výsledky vyšetrenia prítomnosti nešpecifických erytrocytových protilátok môžu byť ovplyvnené faktormi, ako sú vek, pohlavie a zdravotný stav jedinca.

Vzorka: Spracovali sme súbor 64 pacientov ktorí boli testovaní vybranými diagnostickými metódami na skríning protilátok. Zber dát a ich spracovanie prebiehalo vo vybranom hematologickom laboratóriu v období od 10/2024 do 02/2025.

Metódy: Pri stanovení prítomnosti nešpecifických erytrocytárnych protilátok sme použili testovanie LISS/NAT, 2-fázový enzýmový test, PAT, PAT s anti- IgG, PAT s anti-C3d. Na analýzu dát sme využili štatistické metódy na posúdenie variability a jej klinického významu.

Výsledky: Výsledná analýza nešpecifických erytrocytárnych protilátok v našej štúdii vykazovala značnú variabilitu medzi pacientmi. Najčastejšie vyskytujúcou sa protilátkou bola anti-Cw, pričom u žien dominovali anti-E, anti-Cw a anti-Jka, u mužov anti-Lua. Najmenej časté boli protilátky anti-e, anti-C, anti-CD, anti-K, anti-Kell, anti-Fya, autoanti-Fya, anti-M a anti-Leb. Celkovo, najčastejšie sa vyskytovala nešpecifická antierytrocytová autoprotilátka triedy IgG, ktorá bola prítomná u mužov aj žien. Naopak, najmenej častá u žien bola slabá nešpecifická antierytrocytová autoprotilátka triedy IgG, ako aj non IgG1, non IgG3, a kombinácia IgG + C3d (non IgG1 a IgG3). U mužov bola najmenej častá nešpecifická antierytrocytová autoprotilátka triedy IgG non IgG1 a autoprotilátka komplementovej povahy.

Záver: Laboratórne stanovenie nešpecifických erytrocytárnych protilátok zohráva dôležitú úlohu pre bezpečnosť transfúznej terapie a diagnostike niektorých patologických stavov. Výsledky našej štúdie potvrdili potrebu dôkladného sledovania erytrocytárnych protilátok, pričom je zásadné zohľadniť individuálnu variabilitu pacientov a ich klinickú anamnézu.

Kľúčové slová: Nešpecifické erytrocytárne protilátky. Systémy krvných skupín. Imunohematologické vyšetrenia erytrocytov. Hemoterapeutické komplikácie. Výroba transfúznych prípravkov.

ABSTRACT

Background: In our work, we dealt with the issue of laboratory determination of nonspecific erythrocyte antibodies, which are clinically significant primarily in transfusion medicine and in the diagnosis of autoimmune diseases. Given the variability of these antibodies, we focused on methods for their detection, their biological variability, and the influence of various factors on their presence and prevalence in the population.

Objectives: The main objective of this study was to demonstrate and analyze the occurrence of nonspecific erythrocyte antibodies in a group of patients and to subsequently evaluate their variability. We assumed that the results of testing for the presence of non-specific erythrocyte antibodies could be influenced by factors such as age, gender, and the individual's state of health.

Sample: We processed a group of 64 patients who were tested using selected diagnostic methods for antibody screening. Data collection and processing took place in a selected hematology laboratory between October 2024 and February 2025.

Methods: To determine the presence of nonspecific erythrocytic antibodies, we used LISS/NAT testing, a two-phase enzyme test, PAT, PAT with anti-IgG, and PAT with anti-C3d. We used statistical methods to analyze the data and assess variability and its clinical significance.

Results: The final analysis of nonspecific erythrocyte antibodies in our study showed considerable variability among patients. The most common antibody was anti-Cw, with anti-E, anti-Cw, and anti-Jka dominating in women and anti-Lua in men. The least common antibodies were anti-e, anti-C, anti-CD, anti-K, anti-Kell, anti-Fya, autoanti-Fya, anti-M, and anti-Leb. Overall, the most common antibody was a nonspecific IgG anti-erythrocyte autoantibody, which was present in both men and women. Conversely, the least common in women were weak non-specific anti-erythrocyte autoantibodies of the IgG class, as well as non-IgG1, non-IgG3, and the combination of IgG + C3d (non-IgG1 and IgG3). In men, the least common were non-specific IgG non-IgG1 anti-erythrocyte autoantibodies and autoantibodies of a complement nature.
Conclusion: Laboratory determination of non-specific erythrocyte antibodies plays an important role in the safety of transfusion therapy and the diagnosis of certain pathological conditions. The results of our study confirmed the need for thorough monitoring of erythrocytic antibodies, while it is essential to take into account the individual variability of patients and their clinical history.

Key words: Non-specific erythrocyte antibodies. Blood group systems. Immunohematological testing of erythrocytes. Hemotherapy complication. Production of blood transfusion components.

ÚVOD

Prítomnosť nešpecifických protilátok u pacienta znamená syntézu autoprotilátok vlastným organizmom proti konkrétnym štruktúram buniek a tkanív. Ako napovedá ich názov, nereagujú iba s jediným, špecifickým antigénom, ale môžu rozpoznávať štruktúru a následne sa viazať na viacero antigénov. Nešpecifické erytrocytárne protilátky predstavujú heterogénnu skupinu autoprotilátok alebo aloprotilátok, ktoré môžu interferovať s laboratórnymi testami a tak ovplyvňovať správnu diagnostiku. Laboratórne stanovenie nešpecifických erytrocytárnych protilátok je preto dôležitou súčasťou transfúznej medicíny ako aj imunologických vyšetrení. Tieto protilátky majú schopnosť ovplyvniť kompatibilitu medzi darcovskou krvou a príjemcom, čím predstavujú významný faktor pri prevencii hemolytických reakcií [1, 2]. Ich charakteristika a identifikácia je nevyhnutná pre bezpečnosť aplikácie transfúznych prípravkov, pri hemolytických ochoreniach a správnej diagnostike imunologicky podmienených ochorení.

Autoimunitná hemolýza

Hemolýzu pri autoimunitnej hemolytickej anémii (AIHA) sprostredkovávajú autoprotilátky proti erytrocytom, pričom v niektorých prípadoch je ich deštrukcia zosilnená aktiváciou komplementového systému. V závislosti od izotypu autoprotilátky, teplotného optima autoprotilátky reagujúcej s povrchom erytrocytov (RBC) a aktivácie/neaktivácie komplementového systému delíme autoimunitnú hemolytickú anémiu na štyri hlavné typy. Tepelná AIHA inak označovaná aj ako WAIHA je najrozšírenejší typ, ktorý je zvyčajne sprostredkovaný protilátkou triedy IgG. Tie reagujú pri vyšších teplotách, ale v niektorých prípadoch boli zaznamenané prípady AIHA spôsobené protilátkami triedy IgA. Choroba chladových aglutinínov (CAD) je druhým najčastejším typom AIHA, ktorý je najčastejšie sprostredkovaný chladovými protilátkami triedy IgM, ktoré majú schopnosť aktivovať komplement. Tento typ AIHA umožňuje detekciu zložiek komplementu ako sú C3b a C3D na povrchu erytrocytov a niektoré z nich ako C3b a C4d môžu poukazovať na akútne štádiá ochorenia. Ďalším chladovým typom AIHA je paroxyzmálna chladová hemoglobinúria (PCH). Spôsobujú ju dvojfázové autoprotilátky triedy IgG, ktoré v prvej fáze pri nízkej teplote podporujú čiastočnú aktiváciu komplementového systému. Jedná sa o menej obvyklý typ AIHA. Jedným z najzávažnejších typov ochorenia je zmiešaný typ AIHA, ktorý je sprostredkovaný tepelnými protilátkami triedy IgG a chladovými IgM protilátkami s aktiváciou komplementového systému. Tieto štyri typy autoimunitným hemolytických anémii majú rozdielne účinky na imunitný systém a vyvolávajú rôzne príznaky. Taktiež liečba a prognóza pacientov sa líši. Z týchto dôvodov je dôležitá detekcia rôznych izotopov imunoglobulínov ako aj rôznych zložiek komplementového systému. Pri hemolytickej chorobe plodu a novorodenca sú erytrocyty plodu/novorodenca obalené materskými protilátkami triedy IgG proti antigénom na erytrocytoch zdedených po otcovi, ktorý spôsobujú deštrukciu erytrocytov. Pri hemolytickej transfúznej reakcii vyvolávajú protilátky triedy IgG a IgM proti erytrocytom transfúzneho prípravku a faktorom komplementu imunitnú odpoveď. Táto odpoveď vedie k deštrukcii erytrocytov [3-5].

Vyšetrenia potransfúznej reakcie

Medzi základné vyšetrenia pri riešení potransfúznej reakcie patria: overenie krvnej skupiny pacienta a screening antierytrocytových protilátok vo vzorke pacienta pred a po transfúzii, priamy antiglobulínový test (PAT) vo vzorke pacienta pred a po transfúzii, overenie krvnej skupiny transfúzneho prípravku, overenie krížovej skúšky so vzorkou pacienta pred a po transfúzii, vyšetrenie antileukocytových protilátok v plazme transfúzneho prípravku, pátranie po hemolýze erytrocytov v sére pacienta a krvnom prípravku, bakteriologické vyšetrenie zvyšku transfúzneho prípravku.

Masívne transfúzie môžu spôsobovať hypotermiu, kedy v prípade nahradenia cca 50% krvného obehu môže pacientovi teplota klesnúť až na 32-34°C. Ako prevencia slúži ohrievanie transfúznych prípravkov. Rýchle podanie transfúzie erytrocytov má za dôsledok vznik hyperkalémie. Po rýchlom podaní väčšieho množstva plazmy najmä pacientom s poškodenou funkciou pečene, novorodencom, či pacientom v šoku vzniká citrátová toxicita. Jej klinickými prejavmi sú predĺženie intervalu QT na krivke EKG, srdečná arytmia a pokles krvného tlaku. Tieto prejavy môžeme odstrániť podaním kalcia glukonátu intravenózne. U pacientov, ktorí sú liečení transfúznymi prípravkami dlhodobo, vzniká potransfúzna hemosideróza. Jedná sa o preťaženie organizmu železom, ktoré vzniká kvôli obmedzenej možnosti ľudského organizmu vylučovať železo. Vzhľadom na uvedené komplikácie je nutné dbať na správny odber, spracovanie, skladovanie ale aj indikáciu transfúznych prípravkov [6, 7].

CIEĽ

Cieľom našej práce bolo vyšetriť prítomnosť nešpecifických erytrocytárnych protilátok vo vybranom súbore pacientov:

- s pomocou špecifikácie protilátky stĺpcovou aglutináciou a vybranými komerčne dostupnými vyšetrovacími súpravami, s identifikáciou kritických bodov jednotlivých diagnostických postupov z aspektu rizika vzniku chýb
- s prihliadnutím na možné populačné rozdiely medzi obomi pohlaviami
- s analýzou výskytu a rozlíšenia nepravidelných antierytrocytových protilátok u pacientov v súbore, určením ich špecifickosti a nešpecifickosti a porovnaním získaných údajov s dostupnými publikovanými štúdiami

MATERIÁL A METÓDY

Biologický materiál

K dispozícii sme mali 64 vzoriek pacientov, ktorých indikáciou na špecifikáciu protilátky bol pozitívny skríning protilátok vyšetrený stĺpcovou aglutináciou. Z pacientov bolo 28 mužov a 36 žien. Vzorky boli spracované na vybraných laboratórnych pracoviskách Trenčianskeho a Žilinského samosprávneho kraja v časovom období od 10. 2024 do 02. 2025.

Metódy

U pacientov bolo vykonané laboratórne hematologické vyšetrenia podľa štandardných pracovných postupov pracoviska v rámci rutinnej laboratórnej diagnostiky vzoriek pacientov [8].

Štatistické spracovanie dát

Numerické hodnoty sme spracovali pomocou parametrického dvojvýberového t-testu s Welchovou korekciou. Za štatisticky významné sme považovali rozdiely pri p menšom ako 0,05.

VÝSLEDKY

Overenie základných charakteristík súboru pacientov

Vyšetrovaný súbor zahŕňal 64 pacientov so zastúpením oboch pohlaví (28 mužov a 36 žien), ktorí boli testovaní rovnakými testami na tom istom pracovisku, aby bola zabezpečená objektivita výsledkov. Priemerný vek pacientov u mužov bol 67,2±17,2 rokov, u žien 72,7±16,2 rokov (tabuľka 1). Najstarším pacientom bola 98 ročná žena, najmladším pacientom bol 30 ročný muž.

Napriek tomu, že v tabuľke 1 možno vidieť nižšie ukazovatele stredu (aritmetický priemer aj medián) u mužov, použitý štatistický test (t-test) nepreukázal zásadne štatisticky významný rozdiel vo veku medzi obomi sledovanými pohlaviami (p=0,201, t-test s Welchovou korekciou). Dáta spĺňali požiadavku pre použitie parametrického testu (prítomná normalita dát, testovaná Kolmogorov-Smirnovovým testom), pričom aj hodnoty smerodajnej odchýlky boli pomerne podobné.

Tabuľka 1 Overenie základných vlastností vyšetreného súboru pacientov: vek pacientov

Kategórie	*n*	$\bar{x}$	*sd*	x_m	*min.*	*max.*	*p*
Muži	28	67,2	17,2	72,0	30	93	0,201
Ženy	36	72,7	16,2	76,5	34	98	

Legenda: *n* – počet pacientov, $\bar{x}$ – aritmetický priemer veku v rokoch, *sd* – smerodajná odchýlka, x_m – medián, *min.* – minimálna hodnota, *max.* – maximálna hodnota, *p* – hodnota testovacieho kritéria dvojvýberového t-testu s Welchovou korekciou

Výsledky vyšetrenia prítomnosti nešpecifických protilátok

V tabuľke 2 sú uvedené výsledky testovania súboru pacientov testami: LISS/NAT, 2-fázovým enzýmovým testom, PAT, PAT s anti- IgG, PAT s anti-C3d. Testovanie LISS/NAT je založené na znížení zeta potenciálu využitím LISS (z angl. *Low Ionic Strength Solution*), čím sa urýchľuje väzba protilátky na antigén na erytrocytovom povrchu. NAT test metóda, ktorá sa využíva na potvrdenie prítomnosti/neprítomnosti špecifických protilátok. LISS/NAT test je vykonávaný v štyroch fázach vždy s rozdielnym typom diagnostických erytrocytov, čo zvyšuje špecificitu testovania (tabuľka 2). 2-fázový enzýmový test slúži na detkciu protilátok pomocou úpravy erytrocytovej membrány príslušným enzýmom, čím sa zvyšuje jeho citlivosť. PAT test slúži na detekciu protilátok triedy IgG alebo komplementových zložiek (C3d) viazaných na povrch erytrocytov. Variabinty PAT testovania sú PAT s anti-IgG, ktorý slúži na detekciu IgG protilátok naviazaných na erytrocyty a a PAT s anti-C3d, čo je kombinovaný test na detekciu komplementu C3d.

Ako je vidieť v tabuľke 2 testy (ako aj ich jednotlivé fázy) vykazujú rôznu citlivosť na nešpecifické erytrocytárne protilátky. Výsledky jednotlivých testov interpretujeme ako: negatívne, pozitívne a -/+, pričom výsledok testovania -/+ vyhodnocujeme ako pozitívny. 2-fázový test vykázal v porovnaní s LISS/NAT testovaním väčšie množstvo pozitívnych výsledkov (celkovo 111 pozitívnych testovaní), zatiaľ čo LISS/NAT mal celkovo 73 pozitívnych testovaní.

Tabuľka 2 Súhrn výsledku skríningu protilátok u vybraného súboru pacientov

Typ testovania	Výsledok testovania		
	Negatívny	+/-	Pozitívny
LISS/NAT 1	43	3	18
LISS/NAT 2	45	2	17
LISS/NAT 3	48	1	15
LISS/NAT 4	47	3	14
2-fázový enz. test 1	36	4	24
2-fázový enz. test 2	37	2	25
2-fázový enz. test 3	36	2	26
2-fázový enz. test 4	36	3	25
PAT	0	0	64
PAT s anti- IgG	1	0	63
PAT s anti-C3d	58	0	6

V prípade pozitívneho výsledku screeningu protilátok sa vykonáva špecifikácia protilátok. Kompletný prehľad výsledkov špecifikácie protilátok poskytuje tabuľka 3. Vo všeobecnosti prevažujú pozitívne výsledky (150) oproti negatívnym (101) z čoho vyplýva, že u väčšiny pacientov boli diagnostikované špecifické erytrocytárne protilátky. Tabuľka 4 uvádza závery diagnostiky testovania prítomnosti nešpecifických protilátok u pacientov.

Tabuľka 3 Výsledky špecifikácie protilátky

Typ testovania	Výsledok testovania		
	Negatívny	+/-	Pozitívny
LISS/NAT	29	2	33
Autokontrol. test v LISS/NAT	5	8	46
2-fázový enz. Test	25	4	35
Autokontrol. Test	42	3	19

Tabuľka 4 Podrobné závery diagnostiky testovania prítomnosti nešpecifických protilátok

Kategórie	Výsledok laboratórneho vyšetrenia							
	A	B	C	D	E	F	G	H
Muži	10	11	3	1	0	1	1	0
Ženy	12	10	0	0	1	0	0	1
Spolu	22	21	3	1	1	1	1	1

Legenda: A – slabá nešpecifická antierytrocytová autoprotilátka triedy IgG, B – nešpecifická antierytrocytová autoprotilátka triedy IgG, C – nešpecifická antierytrocytová autoprotilátka triedy IgG+ C3d, D – slabá nešpecifická antierytrocytová autoprotilátka triedy IgG, non IgG1, non IgG3, E – nešpecifická antierytrocytová autoprotilátka triedy IgG non IgG1, F – nešpecifická antierytrocytová autoprotilátka triedy IgG non IgG1, non IgG3, G – nešpecifická antierytrocytová autoprotilátka triedy IgG+ C3d (non IgG1 a IgG3), H – nešpecifická autoprotilátka komplementovej povahy

Tabuľka 5 Závery diagnostiky testovania prítomnosti aloprotilátok

Kategórie	Výsledok laboratórneho vyšetrenia																
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R
Muži	0	1	2	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	3	2
Ženy	1	3	3	2	1	0	1	1	0	0	1	1	3	1	2	0	1
Spolu	1	4	5	2	1	1	2	1	1	1	1	1	4	2	2	3	3

Legenda: A – antierytrocytová aloprotilátka “anti-e“, B – antierytrocytová aloprotilátka “anti-E“, C – antierytrocytová aloprotilátka “anti-Cw“, D – antierytrocytová aloprotilátka “anti-c“, E – antierytrocytová aloprotilátka “anti-C“, F – antierytrocytová aloprotilátka “anti-C+D“, G – antierytorcytová aloprotilátka “anti-CD“, H – antierytrocytová aloprotilátka “anti-K“, I – antierytrocytová aloprotilátka “anti-k“, J – antierytrocytová aloprotilátka “anti-Kell“, K – antierytrocytová aloprotilátka “anti-Fya“, L – antierytrocytová aloprotilátka “autoanti-Fya“, M – antierytrocytová aloprotilátka“anti-Jka“, N – antierytrocytová aloprotilátka “anti-M“, O – antierytrocytová aloprotilátka “anti-S“, P – antierytrocytová aloprotilátka “anti-Lua“, R – antierytrocytová aloprotilátka “anti-Leb“

Tabuľka 5 poskytuje prehľad celkových zistených aloprotilátok u pacientov testovaného súboru. Celkovo bolo detegovaných 17 typov protilátok. Najčastejšie vyskytujúcou sa protilátkou bola aloprotilátka anti-Cw (5-krát). U žien sa najčastejšie vyskytovala aloprotilátka anti-E (3-krát), anti-Cw (3-krát) a anti-Jka (3-krát). U mužov sa najviac vyskytovala aloprotilátka anti-Lua (3-krát). Naopak najmenej sa vyskytujúcimi protilátkami u žien boli aloprotilátky: anti-e, anti-C, anti-CD, anti-K, anti-Fya, autoanti-Fya, anti-M a anti-Leb. U mužov to boli protilátky: anti-E, anti-C+D, anti-CD, anti-k, anti-Kell, anti-Jka, anti-M. Celkovo najmenej vyskytujúce sa protilátky boli: anti-e, anti-C, anti-anti-C+D, anti-K, anti-k, anti-Kell, anti-Fya, autoanti-Fya. U žien sa vôbec nevyskytli protilátky: anti-C+D, anti-k, anti-Kell, anti-Lua. U mužov sa nevyskytli protilátky: anti-e, anti-c, anti-C, anti-K, anti-Fya, autoanti-Fya, anti-S.

Najviac reaktívne sú aloprotilátky v oboch sérach LISS/NAT a papaín (tabuľka 6). V LISS/NAT boli najviac reaktívne aloprotilátky anti-E (u žien 2 pacientky), anti-M (u mužov 1 pacient, u žien 1 pacientka) a anti-S (u žien 2 pacientky). V papaíne bola najreaktívnejšia aloprotilátka anti-c u jednej pacientky. Iné protilátky reaktívne neboli. V LISS/NAT a papaíne bola najreaktívnejšou aloprotilátkou anti-Cw (muži 2, ženy 3). Naopak nepotvrdila sa reaktivita aloprotilátok: anti-k, anti-Fya, autoanti-Fya, anti-M, anti-S. Najviac aloprotilátok bolo detegovaných v LISS/NAT+papín - celkovo 23 z čoho je 12 mužov a 11 žien.

Tabuľka 6 Reaktivita jednotlivých aloprotilátok v sérach

Aloprotilátka	LISS/NAT			Papaín			LISS/NAT a papaín		
	muži	ženy	Spolu	muži	ženy	spolu	muži	ženy	Spolu
A – antierytrocytová aloprotilátka “anti-e“,	-	-	-	-	-	-	-	1	1
B – antierytrocytová aloprotilátka “anti-E“,	-	2	2	-	-	-	1	1	2
C – antierytrocytová aloprotilátka “anti-Cw“,	-	-	-	-	-	-	2	3	5
D – antierytrocytová aloprotilátka “anti-c“,	-	-	-	-	1	1	-	1	1
E – antierytrocytová aloprotilátka anti-C,	-	-	-	-	-	-	-	1	1
F – antierytrocytová aloprotilátka “anti-C+D“,	-	-	-	-	-	-	1	-	1
G – antierytorcytová aloprotilátka “anti-CD“,	-	-	-	-	-	-	-	1	1
H – antierytrocytová aloprotilátka “anti-K“,	1	-	1	-	-	-	1	1	2
I – antierytrocytová aloprotilátka “anti-k“,	1	-	1	-	-	-	-	-	-
J – antierytrocytová aloprotilátka “anti-Kell“,	-	-	-	-	-	-	1	-	1
K – antierytrocytová aloprotilátka “anti-Fya“,	-	1	1	-	-	-	-	-	-
L – antierytrocytová aloprotilátka “autoanti-Fya“,	-	1	1	-	-	-	-	-	-
M – antierytrocytová aloprotilátka“anti-Jka“,	-	1	1	-	-	-	2	1	3
N – antierytrocytová aloprotilátka “anti-M“,	1	1	2	-	-	-	-	-	-
O – antierytrocytová aloprotilátka “anti-S“,	-	2	2	-	-	-	-	-	-
P – antierytrocytová aloprotilátka “anti-Lua“,	-	-	-	-	-	-	3	-	3
R – antierytrocytová aloprotilátka “anti-Leb“	1	-	1				1	1	2

Legenda: A – antierytrocytová aloprotilátka “anti-e“, B – antierytrocytová aloprotilátka “anti-E“, C – antierytrocytová aloprotilátka “anti-Cw“, D – antierytrocytová aloprotilátka “anti-c“, E – antierytrocytová aloprotilátka anti-C, F – antierytrocytová aloprotilátka “anti-C+D“, G – antierytorcytová aloprotilátka “anti-CD“,H- antierytrocytová aloprotilátka “anti-K“, I – antierytrocytová aloprotilátka “anti-k“, J – antierytrocytová aloprotilátka “anti-Kell“, K – antierytrocytová aloprotilátka “anti-Fya“, L – antierytrocytová aloprotilátka “autoanti-Fya“, M – antierytrocytová aloprotilátka“anti-Jka“, N – antierytrocytová aloprotilátka “anti-M“, O – antierytrocytová aloprotilátka “anti-S“, P – antierytrocytová aloprotilátka “anti-Lua“, R – antierytrocytová aloprotilátka “anti-Leb“

DISKUSIA

Na úvod musíme zdôrazniť relatívne malú početnosť nášho súboru (*n*=64), ktorá nám bohužiaľ nedovolila porovnať výsledky našich testovaní so zaujímavou štúdiou z roku 2010, ktorá priniesla prekvapivo významné rozdiely v zastúpení protilátok anti-E, anti-Diaa anti-Jka medzi mužmi a ženami (p<0,05) [9]. Autori však zmieňujú dôležitú skutočnosť, že táto japonská štúdia bola vykonaná v krajine, v ktorej sú populácie darcov i príjemcov (pacientov) transfúznych prípravkov podobné a relatívne homogénne. Sami autori však uvádzajú, že význam vplyvu pohlavia na zastúpenie nešpecifických erytrocytárnych protilátok nebol na väčšej skupine osôb preskúmaný až do realizácie tejto štúdie z roku 2010. Rovnako správne odvodzujú, že je nutné zohľadniť aj rozdiely súvisiace s rasovými a etnickými faktormi. Tu treba konštatovať, že naša populácia, ktorá žije v priestore SR je kaukazoidná pričom japonská populácia, hoci je veľmi homogénna, už patrí do mongoloidnej rasy. V tejto téme pokračuje aj obšírna vedecká literárna review autorov Verduin et al. (2012), ktorá bola zrealizovaná o dva roky neskôr s otázkou, či je ženské pohlavie rizikovým faktorom pre aloimunizáciu po podaní erytrocytov v transfúznom prípravku [10]. Z výsledkov štúdie vyplýva, že u žien je síce častejšie prítomný výskyt erytrocytárnych protilátok, avšak autori sa to pokúšajú vysvetliť pravdepodobným imunizačným vplyvom prekonaných gravidít. Okrem toho uvádzajú aj ďalší možný dôvod, ktorý je však v podmienkach SR málo predpokladateľný – potransfúzny vývoj u žien s kosáčikovitou anémiou. Rozdiely však nevyšli štatisticky relevantné a autori štúdie uzatvárajú výsledky s konštatovaním, že ženské pohlavie nie je významným rizikovým faktorom. Tu treba zdôrazniť, že v rámci nášho testovania s obmedzeným počtom pacientov (*n*=64) sme v našom súbore mali výhradne jedincov, u ktorých boli detegované nešpecifické erytrocytárne protilátky. Preto by ani posúdenie „rizikovosti“ žien v rámci uvedenej štúdie nebolo možné. Ako však ukazuje tabuľka 1, u mužov je nižší vek z pohľadu ukazovateľov stredu (aritmetické priemery a mediány) v porovnaní so ženami, čo by mohlo nasvedčovať tomu, že ženy sú tomuto deju vystavené vo svojom živote „skôr“, naše výsledky však takisto nevykazujú štatisticky významný rozdiel (p=0,201).

Nedostatok kvalifikovaných laborantov a digitalizácia systémov v zdravotníctve vyvíja tlak na automatizáciu laboratórnych procesov. Automatizácia procesov ponúka výhodu eliminácie chýb spôsobených ľudským faktorom a zvýšenie efektivity testovania. Nie je prekvapením, že tento trend je veľmi jasný najmä u veľkých nadnárodných biotechnologických výrobcov [11].

Charakterizácia stanovovanej protilátky je dôležitá pre určenie jej klinického významu. Ak píšeme o klinickom význame protilátky, uvažujeme o jeho dvoch rovinách. Prvou rovinou je laboratórno-diagnostická, druhá je rovina (pato)fyziologická. Z aspektu laboratórno-diagnostickej roviny môže prítomná protilátka interferovať s diagnostickými testami, čo môže ovplyvniť správne vyhodnotenie testovania, či už ide o skríningový test, alebo o testovanie kompatibility. Z aspektu druhej, patofyziologickej roviny je to prítomnosť protilátok a komplementových zložiek, ktorá, je z klinického hľadiska dôležitá najmä pri diagnostike AIHA. Štúdia o úlohe klasickej komplementovej dráhy v AIHA [12] potvrdila doterajšie vedomosti a informácie, že prítomnosť komplementovej zložky C3d naviazanej na erytrocytoch má významný vplyv na prejav ochorenia resp. závažnosť hemolýzy. Protilátky IgM sa efektívne viažu na komplement, čím urýchľujú hemolytický proces, najmä u ochorení s chladovými aglutinínmi. Zároveň táto štúdia z roku 2015 dokázala, že pri AIHA spôsobenej tepelnými protilátkami komplement pri hemolýze zohráva len čiastočnú úlohu ale naopak pri ochoreniach spojených s prítomnosťou chladových protilátok je hemolýza plne závislá od aktivácie komplementového systému. Antierytrocytové aloprotilátky významným spôsobom vplývajú na transfúznu medicínu a sú výrazným faktorom vplývajúcim na hemolytickú chorobu novorodenca (HCHN). Ich klinický význam a frekvencia výskytu sa líšia v závislosti od konkrétneho antigénu, pričom v kaukazoidnej populácii sú niektoré aloprotilátky obzvlášť rozšírené a klinicky relevantné. Najviac rozšírenými a klinicky najvýznamnejšími sú aloprotilátky anti-E, anti-c a anti-K. V nami vyšetrenom súbore sa najviac vyskytovala protilátka anti-Cw, čím sa nezhodujeme so štúdiou vykonanou kolektívom českých autorov v roku 2013, ktorí v Univerzitnej nemocnici Olomouc testovali 45 435 tehotných žien [13]. Uvedení autori uvádzajú ako najčastejšiu príčinu aloimunizácie antigén E s celkovou incidenciou 5,7. Tieto rozdiely mohli byť spôsobené pomernou málopočetnosťou nášho súboru, rozdielnou metodikou testovania ako aj rozdielnymi regionálnymi faktormi. Na druhej strane sme však volili porovnanie našich výsledkov s výsledkami tejto štúdie vzhľadom na identickú kaukazoidnú populáciu a veľmi podobný systém organizácie zdravotníctva vďaka desiatkam rokov bývalého spoločného štátu a rovnakej organizácie zdravotníctva s tým súvisiacej. Zmienená štúdia zároveň potvrdzuje výsledok nášho testovania a to, že u žien boli najčastejšie sa vyskytujúcimi protilátkami protilátky anti-E, anti-Cw a anti-Jka. Vysoký výskyt protilátky anti-Jka potvrdzuje aj štúdia z roku 2015, ktorá sa zameriavala na výskyt aloimunizácie erytrocytov ich prevalenciu a patogenitu v kanadskej prenatálnej populácii [14]. Rok publikovania uvedenej štúdie (2015) je však vzhľadom k spracovaným dátam nenáležitý, pretože autori iba retrospektívne spracovali výsledky prenatálnych laboratórnych vyšetrení z obdobia rokov 2006 – 2010. U mužov dominovala protilátka anti-Lua, ktorej výskyt sa nám nepodarilo potvrdiť žiadnou štúdiou. Nedostatok údajov môže byť spôsobený špecifickou distribúciou v populácii. Je to však iba nepotvrdený predpoklad, keďže populačná štruktúra obyvateľstva Kanady je takisto skôr kaukazoidného typu bez výraznejšej heterogenity, než akú môžeme sledovať vďaka afroamerickej populácii jej južného suseda. Zároveň to ale môže naznačovať aj to, že táto protilátka je pri testovaniach menej sledovaná.

ZÁVER

Špecifikácia erytrocytárnych protilátok je rozsiahlym a pomerne mladým odvetvím transfúznej medicíny. U darcov krvi je súčasťou rutinnej analýzy, ale jej klinický význam spočíva najmä v prevencii vzniku hemoterapeutických komplikácii. Zatiaľ čo antigény anti-A a anti-B sú v literatúre označované ako „prirodzene sa vyskytujúce“, ostatné klinicky významné protilátky často sa vyskytujúce v populácii vznikajú ako dôsledok imunizácie pacienta. Imunizácia môže nastať po podaní transfúzie, tehotenstve alebo transplantácii, pričom niektoré protilátky môžu pretrvávať v krvi pacienta dlhodobo, čo predstavuje riziko pri ďalších hemoterapeutických postupoch. Výsledky našej štúdie potvrdili potrebu dôkladného sledovania erytrocytárnych protilátok, pričom je zásadné zohľadniť individuálnu variabilitu pacientov a ich klinickú anamnézu.

Poďakovanie

Tento príspevok vyšiel s podporou projektu KEGA č. 003TnUAD-4/2024 „Inovatívna adaptácia vzdelávacej platformy pre hyperbarickú oxygenoterapiu za účelom synergie zvýšenia vedomostného potenciálu absolventov zdravotníckych odborov a zlepšenia verejného zdravia“.

ZOZNAM BIBLIOGRAFICKÝCH ODKAZOV

[1] FÁBRYOVÁ, V. et al. *Imunohematológia a transfúzna medicína pre prax*, Bratislava: Grada 2012, 232s. ISBN: 978-80-8090-002-1

[2] PŘIKRYLOVÁ K., MELUŠ V. et. al. *Současné možnosti využití laboratorní diagnostiky RhD inkompatibility mezi těhotnou ženou a plodem*. Zdravotnícke listy, roč. 13, č. 3, 2025, s. 33-42, ISSN 2644-4909

[3] NEW ZEALAND BLOOD SERVICE. Transfusion medicine handbook. 7. Adverse Effects of Transfusion – 7.14 Transfusion-associated Graft-versus-host Disease [online]. Dostupné na internete: https://www.nzblood.co.nz/healthcare-professionals/transfusion-medicine/transfusion-medicine-handbook/7-adverse-effects-of-transfusion/7-14-transfusion-associated-graft-versus-host-disease/

[4] ABO-Rh Confirmation CE. Grifols. [online]. [s.a.] [cit. 2025-03-27]. Dostupné na: https://www.diagnostic.grifols.com/en/blood-typing/assays/abo-rh-confirmation-ce

[5] Serascan Diana 1.0 – IFU. MSA. [online]. [s.a.] [cit. 2025-03-12]. Dostupné na: https://msa.sm.ee/ctrl/en/Fail/laadi_alla/173067

[6] SANDLER, S. G., CHEN, L., FLEGEL, W. A. Understanding the Role of Hemolytic Anemia in Blood Transfusion. *Serological weak D phenotypes: A review and guidance for interpreting the RhD blood type using the RHD genotype* [online]. Dostupné na internete: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5612847/

[7] HINRICHS, M., KEITH, M. A. Clinical Aspects of Hematologic Disorders. *Cold acid elution (ELU Kit II)* [online]. PMID: 25695435. Dostupné na internete: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25695435/

[8] NEMOCNICA S POLIKLINIKOU POVAŽSKÁ BYSTRICA. *Štandardné pracovné postupy.* Hematologicko-transfúzne oddelenie [rukopis]. Považská Bystrica: NsP Považská Bystrica, 2024.

[9] TAKESHITA, A., WATANABE, H., et al. *Erythrocyte Alloimmunization Analyzed by Gender and Transfusion Status*. Blood, vol.116, issue 21, 2010, p. 4407, [online]. Dostupné na: https://doi.org/10.1182/blood.V116.21.4407.4407

[10] VERDUIN, E. P., BRAND, A., SCHONEWILLE, H. *Is Female Sex a Risk Factor for Red Blood Cell Alloimmunization After Transfusion? A Systematic Review*. Transfusion Medicine Reviews, vol. 26, issue 4, 2012, p.342-353 [online]. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.tmrv.2011.12.001

[11] REIS, K. J., CHACHOWSKI, R., et al. *Column agglutination technology: the antiglobulin test*. Transfusion, vol.33, issue 8, 1993, p. 639-643. [online]. Dostupné na: https://doi.org/10.1046/j.1537-2995.1993.33893342744.x

[12] BERENTSEN, S. *Role of Complement in Autoimmune Hemolytic Anemia.* Transfusion Medicine and Hemotherapy. 2015 Sep;42(5), p.303-310 [online]. Dostupné na: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26696798/

[13] HOLUSKOVÁ, I., LUBUŠKÝ, M., et al. *Incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women in Olomouc region*. Česká gynekologie. 2013 Jan;78(1):56-61. PMID: 23607383 [online]. Dostupné na internete: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23607383/

[14] ZWINGERMAN, R., JAIN, V., et al. *Alloimmune red blood cell antibodies: Prevalence and pathogenicity in a Canadian prenatal population*. J Obstet Gynaecol Can. 2015 Sep;37(9):784-790. doi: 10.1016/S1701-2163(15)30148-1. PMID: 26605447 [online]. Dostupné na internete: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26605447/