Predtransfúzne vyšetrenia u hematologického pacienta - kazuistika

Pre-transfusion examinations in a hematological patient - case report

Marcela MARCINEKOVÁ, Vladimír MELUŠ, Pavel GRABCZAK

[1] *Fakulta zdravotníctva, Trenčianska univerzita Alexandra Dubčeka v Trenčíne, Trenčín*

ABSTRAKT

Predtransfúzne vyšetrenia sú nevyhnutnou súčasťou hemoterapie a starostlivosti o hematologických pacientov. Poskytujú kľúčové informácie pre správny manažment terapie. Rôzne faktory ako sú hematologické ochorenia, aplikovaná liečba, komorbidity a imunologické reakcie, môžu výrazne ovplyvniť výsledky týchto vyšetrení. Interferencie v predtransfúznych vyšetreniach môžu mať vážny dopad na bezpečnosť a účinnosť podania transfúzneho lieku.

V našej práci prinášame kazuistiku pacienta po alogénnej transplantácii kostnej drene, kde bol pozorovaný vývoj krvného chimérizmu. V dôsledku transplantácie hematopoetických orgánov došlo u pacientky k zmene krvnej skupiny, respektíve k zmene prítomnosti aglutinínov, avšak tento jav bol iba dočasný a u pacientky bola diagnostikovaná pôvodná konštitúcia aglutinínov.

Kľúčové slová: Predtransfúzne vyšetrenia. Krvné skupiny. Antierytrocytové protilátky. Mnohopočetný myelóm. Krvný chimérismus.

ABSTRACT

Pretransfusion tests are an essential part of hemotherapy and care for hematological patients. They provide key information for the proper management of therapy. Various factors such as hematological diseases, applied treatment, comorbidities and immunological reactions can significantly affect the results of these tests. Interferences in pretransfusion tests can have a serious impact on the safety and effectiveness of the administration of the transfusion drug.

In our work, we present a case report of a patient after allogeneic bone marrow transplantation, where the development of blood chimerism was observed. As a result of hematopoietic organ transplantation, the patient's blood group changed, or rather, the presence of agglutinins changed, but this phenomenon was only temporary, and the patient was diagnosed with the original agglutinin constitution.

Key words: Pretransfusion testing. Blood groups. Antierythrocyte antibodies. Multiple myeloma. Blood chimerism.

ÚVOD

Hemoterapia patrí medzi základné terapeutické postupy v medicíne, najmä u pacientov s hematologickými ochoreniami. Títo pacienti často vyžadujú opakované transfúzie na stabilizáciu zdravotného stavu, liečbu anémií, krvácavých stavov či ďalších komplikácií spojených s ich diagnózami. Aby bola transfúzia krvi bezpečná a efektívna, je nevyhnutné vykonať sériu predtransfúznych vyšetrení, ktoré overujú zlučiteľnosť transfúzneho prípravku s krvou príjemcu. U hematologických pacientov sa však pri predtransfúznych vyšetreniach často stretávame s interferenciami, ktoré môžu negatívne ovplyvniť laboratórne výsledky. Onko-hematologickí pacienti sú navyše skupinou, u ktorej je predpoklad vyššej miery interferencií v dôsledku základného ochorenia alebo vplyvom aplikovanej liečby, napríklad chemoterapie či podávania imunosupresívnych liekov. Medzi najčastejšie patria: prítomnosť nepravidelných protilátok, hemolýza, paraproteíny alebo autoimunitné procesy [1].

Problematika interferencií v predtransfúznych vyšetreniach je nielen vysoko odborná ale aj prakticky a klinicky významná, keďže bezpečnosť transfúzií závisí od správnej diagnostiky a laboratórnych vyšetrení. Táto téma je aktuálna najmä v kontexte narastajúceho počtu pacientov s komplexnými hematologickými diagnózami a ich imunohematologickými nálezmi. Nesprávna interpretácia výsledkov v prípade falošnej pozitivity alebo negativity v predtransfúznych vyšetreniach

môže viesť k výberu inkompatibilného krvného prípravku, čo zvyšuje riziko vzniku transfúznych reakcií a ďalších komplikácií pri opakovanej substitúcii krvi. V extrémnych prípadoch môže podanie inkompatibilného krvného prípravku vyvolať život ohrozujúci stav, ako je diseminovaná intravaskulárna koagulácia až úmrtie pacienta [2].

Komplikácie predtransfúznych vyšetrení

Interferencie v predtransfúznych vyšetreniach u hematologických pacientov sú veľmi variabilné, ovplyvňuje ich mnoho faktorov ako sú: prítomnosť paraproteínov, hemolýza vzorky, prítomnosť antierytrocytových protilátok, vysoké hladiny bilirubínu v krvi a v neposlednom rade aplikovaná liečba. Hemolytické ochorenia ako je napríklad autoimunitná hemolytická anémia (AIHA), môže viesť k hemolýze a tá dokáže interferovať nepriamy antiglobulínový test. Na zníženie rizika hemolýzy je dôležitý správny odber a u pacientov s AIHA pracovať so vzorkou bezprostredne po odbere.

Prítomnosť paraproteínov spôsobuje zvýšenú sedimentáciu a možné riziko falošnej pozitivity pri nepriamom i priamom antiglobulínovom teste (NAT a PAT) [3].

Vysoké hladiny bilirubínu sú časté u pacientov s ochorením pečene a dokážu ovplyvniť vizuálne hodnotenie testu kompatibility alebo aj PAT. U pacientov po alogénnej transplantácií periférnych krvotvorných buniek alebo transplantácií kostnej drene sa často vyskytuje fenomén- chimérizmus.

Krvný chimérizmus je stav kedy u pacienta nastáva zmena v aglutinogénoch a aglutinínoch na základe podania geneticky odlišnej kostnej drene alebo periférnych buniek. Vznik chimérizmu je čiastočne aj ukazovateľom úspešnosti prijatia štepu, pri zmene krvnej skupiny na pôvodnú pacientovu nastáva stav relapsu ochorenia, resp. neúspešná transplantácia alebo efektivita aplikovanej liečby. U pacientoch po transplantácii kostnej drene alebo hematopoetických buniek sa vykonáva kompletné vyšetrenie krvnej skupiny vždy pred podaním transfúzie, aby sa predišlo inkompatibilnému výberu transfúzneho lieku.

Interferencie v predtransfúznych testov často spôsobujú aj lieky, ktoré sú indikované pri onkohematologických ochoreniach. Pacienti liečení monoklonálnymi protilátkami ako je daratumumab (anti-CD38), môžu vykazovať falošne pozitívne výsledky v NAT, čo do veľkej mieri znemožňuje detekciu prípadných relevantných aloprotilátok. Liek Daratumumab sa viaže na CD38, ktorý je v nízkych hladinách exprimovaný na povrchu červených krviniek a môže viesť k pozitívnemu výsledku NAT [4]. Pozitivita NAT môže pretrvávať po dobu až 6 mesiacov od posledného podania daratumumabu. Po naviazaní na červené krvinky môže maskovať detekciu protilátok proti menším antigénom v sére pacienta. Pred začatím liečby daratumumabom je nevyhnutné vykonať typizáciu ery-antigénov a skríning antierytrocytových protilátok pacienta.

V prípade potreby hemoterapie počas cyklu podávania lieku daratumumabu je potrebné pred samotným predtransfúznym vyšetrením opracovať darcovské erytrocyty a aj komerčne vyrábané skríningové krvinky, aby sme predišli možnej falošnej pozitivite. Opracovanie erytrocytov vykonávame za použitia činidla Ditiotreitol (DTT), ktorý má schopnosť rozrušiť disulfidové väzby. Práca s DTT je časovo náročná pretože podlieha prepratiu erytrocytov a 20 min. inkubácií. Až s takto opracovanými erytrocytmi môžeme vykonať skúšku kompatibility.

Ďaleko efektívnejšou metódou od DTT je použitie komerčne vyrábaného činidla DaraEx, ktoré inhibuje aglutinačný účinok anti-CD38 v nepriamom Coombsovom teste bez vedľajších účinkov. Metodika je časovo nenáročná, nevyžaduje si medzikroky ako je to pri DTT. Skúška kompatibility s činidlom DaraEx trvá 45 min až hodinu. Pre absolútny účinok činidla DaraEx musíme však poznať aspoň približne dátum podania poslednej dávky lieku Daratumumab, aby sme použili adekvátny pomer činidla a plazmy pacienta [1, 5].

Výskyt chladových/tepelných protilátok môže skresliť odčítanie a následné určenie krvnej skupiny. Je nutné na to myslieť ešte v predanalytickej fáze, vzorky je potrebné odoberať za tepla, respektíve pracovať so vzorkami ihneď po odbere. Polytransfundovaní pacienti sa dokážu veľmi ľahko imunizovať a vytvárať si nepravidelné antierytrocytové protilátky, čo je iba ďalšou komplikáciou pre zabezpečenie vhodného transfúzneho lieku. Pokiaľ nevieme pre pacienta zabezpečiť kompatibilný erytrocytárny prípravok, lekár môže požiadať o vydanie transfúzie na reverz z vitálnej indikácie, kedy musí zvážiť riziko podania sérovo inkompatibilného transfúzneho lieku pred jeho nepodaním. V takom prípade

volíme transfúzne lieky s čo najväčšou antigénnou zhodou pacienta, aby sme predišli možným transfúznym komplikáciám [6].

CIEĽ

Popis časovej dynamiky zmien výsledkov hematologických vyšetrení krvnoskupinového systému ABO u pacientky s onkohematologickým ochorením, u ktorej bol pozorovaný vývoj krvného chimérizmu.

PACIENT A METODOLÓGIA

Pacient

Vek: 45 rokov
Pohlavie: žena
Diagnóza: mnohopočetný myelóm, následná alogénna transplantácia kostnej drene
Krvná skupina: 0, RhD pozit.

Metodológia

Stanovenie hematologických parametrov krvnoskupinového systému ABO sa vykonalo zo vzorky krvi odobratej do citrátu alebo K2EDTA v zmysle štandardných pracovných postupov pracoviska.

VÝSLEDKY

Vstupná diagnóza pacientky znela ako „choroba krvi, bližšie nešpecifikovaná“. Počas liečby bola opakovane transfundovaná erytrocytárnymi koncentrátmi. Krvná skupina pacientky bola pôvodne 0 RhD pozitívna, pričom laboratórne vyšetrenia potvrdili aj prítomnosť prirodzených aglutinínov anti-A a anti-B.

Z dôvodu progresie ochorenia a zhoršenia klinického stavu bolo indikované vykonanie alogénnej transplantácie kostnej drene. O necelé dva mesiace od potvrdenia diagnózy ,,mnohopočetný myelóm“, bol pre pacientku nájdený vhodný darca s krvnou skupinou AB RhD pozitív. Vzhľadom na veľkú inkompatibilitu darcovej a príjemcovej krvnej skupiny sa pri hemoterapii postupovalo podľa protokolu uvedeného v tabuľke 1 (upravené podľa [7]). Transplantácia bola realizovaná na špecializovanom pracovisku.

Tabuľka 1 Výber transfúzneho lieku podľa typov AB0 nezhody a štádia transplantácie (upravené podľa [7])

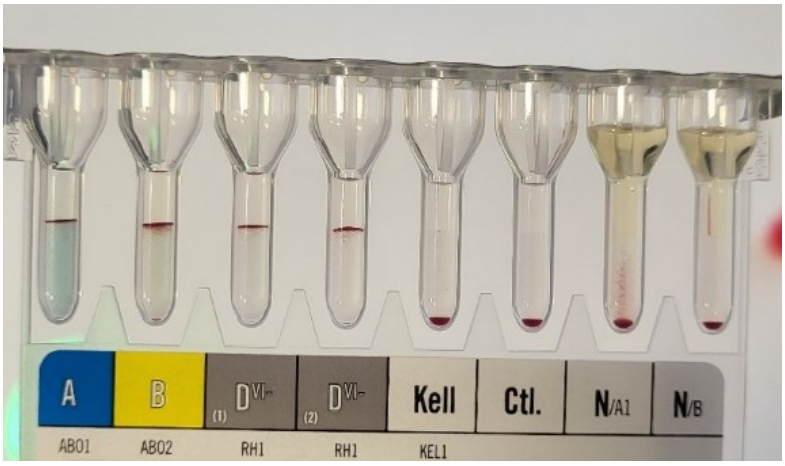
Typy nezhody	**Štádium transplantácie**	**Transfúzny liek**		
		ERD	TAD/TKBD	PCZ
Veľká	mobilizácia	P	D	D
	transplantácia	P	D	D
	prítomné Ab príjemcu	P	D	D
	neprítomné Ab príjemcu	D	D	D
Malá	mobilizácia	D	P	P
	transplantácia	D	P	P
	prítomné Ab príjemcu	D	P	P
	neprítomné Ab príjemcu	D	D	D
Kombinovaná	mobilizácia	(0)	(AB)	(AB)
	transplantácia	(0)	(AB)	(AB)
	prítomné Ab príjemcu	(0)	(AB)	(AB)
	neprítomné Ab príjemcu	D	D	D

Legenda: P-príjemca, D-darca, (0), (AB)-krvné skupiny, ERD -erytrocyty resuspendované deleukocytované, TAD - tromobocyty z aferézy deleukotizované, TKBD - trombocyty poolované delekotizované z buffy coatu, PCZ – čerstvo zmrazená plazma

V súlade s odbornou literatúrou, pri úspešnej transplantácii kostnej drene sa očakáva úplná zmena krvnej skupiny v priebehu 100 dní od zákroku [8]. V tomto prípade bola začínajúca zmena krvnej skupiny zaznamenaná už po necelých troch mesiacoch od transplantácie, čo potvrdzovalo dobré prihojenie štepu a úspešný priebeh chimerizácie. Tento vývoj je v súlade s fenoménom úplnej

hematopoetickej reštitúcie, kedy nové krvotvorné bunky darcu postupne nahrádzajú pôvodný imunitný a erytrocytový systém príjemcu.

Pacientka bola počas obdobia prihojovania štepu polytransfunovaná erytrocytmi krvnej skupiny 0 RhD pozit., pričom trombocytové koncentráty a plazmu dostávala striktne krvnú skupinu: ,,AB“. Po pol roku od transplantácie sa prejavil u pacientky chimérizmus, čo je zachytené aj na obrázku 1. V prvých štyroch mikroskúmavkách vidíme pozitívnu reakciu na 4+, teda je zrejmé, že sa jedná o krvnú skupinu AB pozit. Avšak za normálnych okolností krvná skupina AB nemá žiadne prirodzené protilátky anti-A a anti-B. V tomto prípade, je ale prítomný aglutinín anti-A (pozitivita na 1+) čo naznačuje začiatok preklápania pôvodnej krvnej skupiny na darcovskú (AB RhD+). Po dvoch mesiacoch bola pacientka prepustená do ambulantnej starostlivosti pre prípadnú potrebu hemoterapie. Avšak onedlho nastal relaps ochorenia, čo sme spozorovali aj pri orientačnom vyšetrení krvnej skupiny, kde sa javila slabšia reakcia (aglutináty sa ľahko rozpadali) s diagnostickými sérami anti-A a anti-B. Následné kompletné vyšetrenie krvnej skupiny na mikrotitračnej platni potvrdilo, že pacientka recidivuje k svojej pôvodnej krvnej skupine (0RhD+). Bohužiaľ transplantácia tento krát nebola úspešná, no aktuálne sa pacientka mobilizuje na ďalšiu alogénnu transplantáciu kostnej drene.



Obrázok 1 Vyšetrenie krvnej skupiny pacientky po alogénnej transplantácii kostnej drene

DISKUSIA

Naša kazuistika je príkladom, že krvnoskupinový systém ABO u pacientov po alogénnej transplantácii kostnej drene nemusí byť z pohľadu jeho laboratórnej diagnostiky trvalý a môže bohužiaľ recidivovať k pôvodnej krvnej skupine. V dôsledku transplantácie hematopoetických orgánov došlo u nami popísanej pacientky k zmene krvnej skupiny, respektíve k zmene prítomnosti aglutinínov. V tomto prípade bol stav po 100 dňoch od transplantácií PKB veľmi priaznivý. V sére pacientky sa podarilo dokázať neprítomnosť aglutinínov anti-A a anti -B, čo značilo preklápanie krvnej skupiny pacientky (0+) na darcovu krvnú skupinu (AB+). V tom čase sme na základe výsledkov predtransfúznych vyšetrení mohli predpokladať úspešný štep. Avšak tento jav bol iba dočasný, u pacientky došlo k recidíve ochorenia. Postupom času sme v sére pacientky začali zachytávať prítomnosť aglutinínov anti-A. Môžeme konštatovať, že aj tento prípad potvrdzuje potrebu individuálneho prístupu k predtransfúznym vyšetreniam u pacientov po transplantáciách. Vďaka tomuto prípadu sa ukázalo, že výskyt interferencií môže byť dôsledkom nielen patológie samotného ochorenia alebo liečby, ale aj zmien v krvnoskupinovom profile pacienta.

Z dostupných štúdií týkajúcich sa podobnej problematiky, krvného chimérizmu, sme vybrali pozoruhodnú kazuistiku 76-ročnej pacientky s myeloidnou neopláziou, ktorá podstúpila alogénnu transplantáciu kmeňových buniek, bola zistená zmiešaná expresia ABO antigénov počas rutinného sledovania po transplantácii. Táto zmiešaná expresia bola prvým klinickým znakom zmeny stavu transplantátu a predchádzala zmenám zisteným formálnym testovaním chimérizmu. Štúdia zdôrazňuje význam ABO typizácie ako skorého indikátora recidívy ochorenia po transplantácii [9].

ZÁVER

Na základe výsledkov nami popísanej kazuistiky môžeme konštatovať, že systematické hematologické vyšetrenia onkohematologických pacientov zohrávajú kľúčovú úlohu pre výslednú úspešnosť liečby počas terapie ako aj následnej dispenzarizácie. Z pohľadu laboratórnych vyšetrovacích metód je však nutné brať do úvahy aj možné interferencie molekúl, ktoré môžu ovplyvniť získané laboratórne výsledky.

ZOZNAM BIBLIOGRAFICKÝCH ODKAZOV

[1] QUACH H., BENSON S., HAYSOM H. et al. Consideration for pre-transfusion immunohematology testing in patients receiving the anti-CD38 monoclonal antibody daratumumab for the treatment of multiple myeloma. *Internal Medicine Journal*. 2018; 48 (2): 210-20.

[2] GARRATY G., TELEN M.J., PETZ LD. Red cell antigens as functional molecules and obstacles to transfusion. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2002: 445-62.

[3] ZANTEK N.D., KEOPSELL S.A., THARP D.R., COHN C.S. The direct antiglobulin test. A critical step in the evaluation of hemolysis. *Am J Hematol*. 2012, 87: 707-709.

[4] ZOCHCHI E., FRANCO L., GUIDA L. et al. A single protein immunologically identified as CD38 displays NAD+ glycohydrolase, ADP-ribosyl cyclase and cyclic ADP-ribosa hydrolase activities at the outer surfaces of human erythrocytes. *Biochem Biophys Res Cummun*. 1993; 196 (3): 1459-1465.

[5] GrifolsCD38-3.0-IFU-sk Proteínová reagencia pre DG Gel a skúmavkové testy, s. 2-4

[6] CEIZLOVÁ L. Výskyt aloprotilátok proti erytrocytom zachytených pri predtransfúznom vyšetrení v r. 1982-1986. *Vnitřní lékařství*. 1978; 33 (10): 845-848. ISSN 1801-7592

[7] MASOPUST J., PÍSAČKA M. *Praktická imunoohematológia-erytrocyty.* Grada, Praha, 2022, 448 s. ISBN 978-80271-337-2

[8] ZHANG X., CAO D. Harnessing matrix stiffness to engineer a bone marrow niche for hematopoietic stem cell rejuvenation. Cell Stem Cell. 2023; 30 (4): 378-395.e8.

[9] YURTSEVER N., LEE E.S., PINATTI L. et al. Mixed-field ABO front typing as an early sign of disease recurrence in ABO-matched stem cell transplantation. *Immunohematology*. 2024; 40 (3): 89-92.