Antieritrocitna protutijela u transfundiranih bolesnika s mijelodisplastičnim sindromom

Leskovar, Ivana

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:649691

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Medicine Osijek

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Ivana Leskovar

ANTIERITROCITNA PROTUTIJELA U TRANSFUNDIRANIH BOLESNIKA S MIJELODISPLASTIČNIM SINDROMOM

Diplomski rad

Osijek, 2020.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Ivana Leskovar

ANTIERITROCITNA PROTUTIJELA U TRANSFUNDIRANIH BOLESNIKA S MIJELODISPLASTIČNIM SINDROMOM

Diplomski rad

Osijek, 2020.

Rad je ostvaren u Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb

Mentor rada: prof. dr. sc. Silva Zupančić Šalek

Komentor rada: doc. dr. sc. Branka Golubić Ćepulić

Rad ima 44 listova, 10 tablica i 6 slika.

Zahvale

Zahvaljujem prof. dr. sc. Silvi Zupančić Šalek na mentorstvu, povjerenju i podršci prilikom izrade ovog rada.

Zahvaljujem prof. dr. sc. Marini Samardžiji i timu Kliničkog zavoda za transfuzijsku medicinu Kliničkog bolničkog centra Osijek na toplim riječima i prijateljskoj podršci.

Zahvaljujem suprugu i djeci na strpljenju, pohvalama i kritikama za sve moje studentske uspone i padove.

Zahvaljujem svim dragim ljudima zbog kojih će mi ovaj dio školovanja i Osijek ostati u lijepom sjećanju.

I na kraju, zahvaljujem doc. dr. sc. Branki Golubić Ćepulić, jer je bila dovoljno uporna da me potakne i ohrabri u postizanju zacrtanog cilja.

SADRŽAJ

1. UVOD……1
   1.1. Eritrocitni antigeni……..2
   1.2. Čimbenici eritrocitnog pripravka……5
   1.3. Čimbenici darivatelja……..6
   1.4. Čimbenici primatelja……...6
   1.5. Aloimunizacije u hematoloških bolesnika……..7
   1.6. Mijelodisplastični sindrom……10
   1.7. Transfuzijsko liječenje anemije bolesnika s mijelodisplastičnim sindromom……14
2. CILJ …… ……16
3. ISPITANICI I METODE…….17
   3.1. Ustroj studije i ispitanici……...17
   3.2. Imunohematološko ispitivanje……..17
   3.3. Transfuzijsko liječenje……..18
   3.4. Statističke metode…….18
4. REZULTATI……19
5. RASPRAVA…….27
6. ZAKLJUČAK……..30
7. SAŽETAK……31
8. SUMMARY…….32
9. LITERATURA…….33
10. ŽIVOTOPIS…….37

POPIS KRATICA

AHTR - akutna hemolitička reakcija

DHTR – odgođena hemolitička reakcija

HBFN – hemolitička bolest fetusa i novorođenčeta

KE – koncentrat eritrocita

PAM - profilaktična antigena podudarnost (engl. prophilactic antigen mach)

ISBT - međunarodno udruženje International Society of Blood Transfusion

HLA – humani leukocitni antigeni

TLR – receptori čija građa sliči proteinu Tollu (engl. Toll – like receptors)

MDS – mijelodisplastični sindrom

AML – akutna mijeloična leukemija

AA – aplastična anemija

SCD – bolest srpastih stanica

SZO – Svjetska zdravstvena organizacija

RCUD - refraktorna citopenija s unilinijskom displazijom

RARS - refraktorna anemija s prstenastim sideroblastima

RCMD - refraktorna citopenija s multilinijskom displazijom

RAEB-1 - refraktorna anemija

RAEB-2 - refraktorna anemija s viškom blasta

MDS-del(5q) – mijelodisplastični sindrom s izoliranom delecijom 5q

MDS-U – neklasificirani mijelodisplastični sindrom

RCC – refraktorna citopenija dječje dobi

KROHEM - Hrvatska kooperativna grupa za hematološke bolesti

R-IPSS – revidirani internacionalni prognostički sustav bodovanja

DAT – direktni antiglobulinski test

IAT – indirektni antiglobulinski test

CPD – antikoagulantna otopina citrat, fosfat i dekstroza

SAGM – hranjiva otopina sukroza, adenin, glukoza i manitol

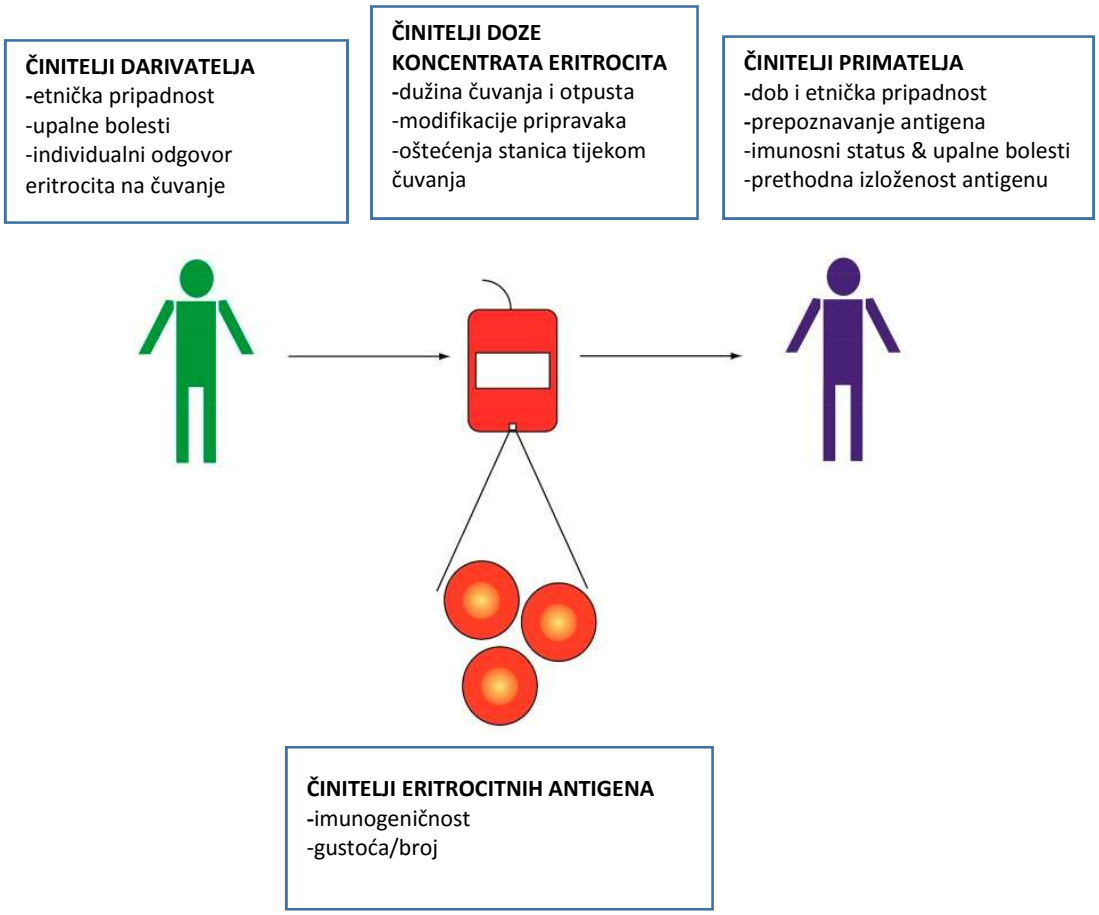
1. UVOD

U Hrvatskoj se godišnje primjeni oko 190.000 doza koncentrata eritrocita (KE), a u svijetu oko 12,5 miliona (1, 2). Primjena tako velikog broja krvnih pripravaka transfuzijsko liječenje čini jednim od najčešćih medicinskih postupaka u bolnicama, ali tek od nedavno mu se posvećuje veća pažnja. Iako se transfuzija krvi primjenjuje već više od jednog stoljeća, još uvijek nemamo jasno definirane indikacije za liječenje krvnim pripravcima. Istraživanja pokazuju da je u većine akutnih bolesnika održavanje hemoglobina na razini oko 70 g/l jednako siguran kao i održavanje hemoglobina na višoj razini, 90 - 100 g/l. Štoviše, mnogi bolesnici imaju bolji ishod liječenja ako su im vrijednosti hemoglobina održavane na nižoj razini (3). Stoga je broj transfuzija KE u razvijenim zemljama u padu. Međutim, istraživanja o ciljanoj vrijednosti hemoglobina u bolesnika kronično ovisnih o transfuziji KE ima malo pa se ovi bolesnici uglavnom liječe na temelju mišljenja uglednih stručnjaka i vlastitog iskustva liječnika koji skrbi za bolesnika.

Aloimunizacija na eritrocitne antigene najčešća je komplikacija transfuzijskog liječenja (4). Razvija se nakon transfuzija krvnih pripravaka, trudnoća ili transplantacije organa, stanica i tkiva u okolnostima kada primatelj na eritrocitima nema antigen koji je izražen na eritrocitima darivatelja. Razvijena protutijela mogu uzrokovati akutnu (AHTR) ili odgođenu (DHTR) hemolizu eritrocita ili hemolitičku bolest fetusa i novorođenčeta (HBFN).

Učestalost aloimuniziranih bolesnika u općoj bolničkoj populaciji kreće se od 1 do 3 %, a u skupinama koje su često liječene transfuzijama KE i do 59 %. Komplikacije uzrokovane antieritrocitnim protutijelima danas su vodeći uzrok smrti povezane s transfuzijskim liječenjem (5, 6). Pretpostavlja se da je stvarni broj bolesnika koji su imali klinički posljedice aloimunizacije ili su zbog njih umrli znatno veći jer se simptomi često ne povezuju s transfuzijskim liječenjem pa se stoga reakcije niti ne prijavljuju.

U razvoju imunizacije na eritrocitne antigene važnu ulogu igra nekoliko čimbenika: čimbenici antigena, čimbenici doze KE te biološki čimbenici darivatelja i primatelja (7). Shematski su prikazani na Slici 1 (7). Vidi se da svaki korak u proizvodnji krvnih pripravaka, kao i biološke odlike darivatelja krvi i primatelja transfuzije, ima direktan utjecaj na razvoj imunizacije nakon transfuzije KE.



Slika 1. Shematski prikaz modela mogućih čimbenika koji potiču imunizaciju na eritrocitne antigene (prilagođeno prema shemi iz reference 7).

1.1. Eritrocitni antigeni

Do danas je otkriveno nekoliko stotina eritrocitnih antigena od koji je većina prema genetskoj povezanosti svrstana u sustave krvnih grupa (8). Raspored antigena po sustavima prikazan je u Tablici 1. Neki antigeni unutar istog sustava krvnih grupa razlikuju se samo u jednoj aminokiselini (npr. K i k), dok se drugi razlikuju u cijeloj molekuli (npr. RhD).

Jedan od čimbenika koji proučavanje mehanizma aloimunizacije na eritrocitne antigene čini vrlo složenim jest velik broj različitih antigena i njihova strukturna raznolikost. Prema biokemijskoj građi, neki su antigeni ugljikohidrati dok su drugi proteini. Protutijela na ugljikohidratne antigene su prirodna, IgM razreda, aktiviraju sustav komplementa i reagiraju na nižim temperaturama. Iznimku čine protutijela ABO sustava koja imaju širok temperaturni raspon pa reagiraju i na tjelesnoj temperaturi i zato su klinički jako opasna. Protutijela na

proteinske antigene su imuna, IgG razreda, uglavnom slabo aktiviraju sustav komplemanta i reagiraju na tjelesnoj temperaturi. Neki antigeni su izraženi samo na eritrocitima dok su drugi široko rasprostranjeni na tkivima čovjeka pa čak i drugim životinjskim i biljnim vrstama, virusima i bakterijama. Neke mutacije gena koje ih kodiraju mogu modificirati njihov izražaj ili se mogu pojaviti na tkivima na kojima inače nisu izraženi. To ih čini važnima ne samo u transfuzijskoj već i u transplantacijskoj medicini.

Gustoća antigena je isto značajan čimbenik za razvoj antieritrocitnih protutijela. Genetski je određena i ovisi o specifičnosti antigena i zigotnosti osobe. U homozigota broj antigena je veći. Općenito, što je veća količina antigena, rizik aloimunizacije je veći. Ako je na membrani malo antigena, rizik imunizacije je obično vrlo nizak.

Eritrocitni antigeni se razlikuju u imunogeničnosti. Imunogeničnost je vjerojatnost razvoja imunizacije u antigen negativne osobe nakon izlaganja antigenu. U transfuzijskom smislu to je postotak primatelja transfuzije koji razviju antieritrocitno protutijelo na antigen koji ne posjeduju. Imunogeničnost eritrocitnih antigena je procijenjena prema broju osoba u populaciji koji imaju određeno aloprotutijelo i vjerojatnosti izlaganja tom antigenu koja se temelji na učestalosti antigena u populaciji darivatelja. Istraživanja pokazuju različitu imunogeničnost pojedinih eritrocitnih antigena, ali se općenito može reći da je D antigen najjači imunogen, zatim slijede K, E i c, dok je imunogeničnost Jk^a i S slaba.

Još uvijek se za određivanje eritrocitnog fenotipa najčešće koristite serološke metode. Razvoj molekularnih metoda omogućio je uvođenje metoda DNA genotipizacije u veći broj laboratorija što je omogućilo predviđanje eritrocitnog fenotipa u darivatelja krvi i bolesnika za znatno veći broj antigena, otkrivanje antigenih varijanti te primjenu imunološki najpodudaranijih eritrocitnih pripravaka. Takva praksa naziva se profilaktična antigena podudarnost (PAM - engl. prophilactic antigen match), a u primatelja transfuzije smanjuje rizik imunizacije.

Tablica 1. Sustavi krvnih grupa (prilagođeno prema tablici iz reference 8)

Broj	Naziv sustava	Simbol sustava	Ime gena*	Kromosom i lokacija	CD broj	Broj antigena u sustavu
001	ABO	ABO	*ABO*	9q34.2		4
002	MNS	MNS	*GYPA, GYPB, (GYPE)*	4q31.21	CD235a CD235b	46
003	P1PK	P1PK	A4GALT	22q13.2	CD77	3
004	Rh	RH	*RHD, RHCE*	1p36.11	CD240	54
005	Lutheran	LU	*LU*	19q13.32	CD239	20
006	Kell	KEL	*KEL*	7q34	CD238	35
007	Lewis	LE	*FUT3*	19p13.3		6
008	Duffy	FY	*DARC*	1q23.2	CD234	5
009	Kidd	JK	*SLC14A1*	18q12.3		3
010	Diego	DI	*SLC4A1*	17q21.31	CD233	22
011	Yt	YT	*ACHE*	7q22.1		2
012	Xg	XG	*XG, MIC2*	Xp22.33	CD99†	2
013	Scianna	SC	*ERMAP*	1p34.2		7
014	Dombrock	DO	*ART4*	12p12.3	CD297	8
015	Colton	CO	*AQP1*	7p14.3		4
016	Landsteiner-Wiener	LW	*ICAM4*	19p13.2	CD242	3
017	Chido/Rodgers	CH/RG	*C4A, C4B*	6p21.3		9
018	H	H	*FUT1*	19q13.33	CD173	1
019	Kx	XK	*XK*	Xp21.1		1
020	Gerbich	GE	*GYPC*	2q14.3	CD236	11
021	Cromer	CROM	*CD55*	1q32.2	CD55	18
022	Knops	KN	*CR1*	1q32.2	CD35	19
023	Indian	IN	*CD44*	11p13	CD44	4
024	Ok	OK	*BSG*	19p13.3	CD147	3
025	Raph	RAPH	*CD151*	11p15.5	CD151	1
026	John Milton Hagen	JMH	*SEMA7A*	15q24.1	CD108	6
027	I	I	*GCNT2*	6p24.2		1
028	Globoside	GLOB	*B3GALT3*	3q26.1		1
029	Gill	GIL	*AQP3*	9p13.3		1
030	Rh-associated glycoprotein	RHAG	*RHAG*	6p21-qter	CD241	4
031	FORS	FORS	*GBGT1*	9q34.13		1
032	JR	JR	*ABCG2*	4q22	CD338	1
033	LAN	LAN	*ABCB6*	2q36		1
034	VEL	VEL	*SMIM1*	1p36.32		1
035	CD59	CD59	CD59	11p13	CD59	1
036	Augustine	AUG	SLC29A1	6p21.1		4
037	KANNO	KANNO	PRNP	20p13	CD230	1
038	Sid	SID	B4GALNT2	17q21.32		1

1.2. Čimbenici eritrocitnog pripravka

Veliki je broj čimbenika koji utječu, iako za to postoje ograničeni dokazi, na imunogeničnost eritrocitnih pripravka. To su način uzimanja krvi, metode prerade i dodatne modifikacije i skladištenje. Za proizvodnju KE najčešće se uzima puna krv, ali u nekim zemaljama se veliki broj doza KE prikuplja i aferezom. Razlika u količini i broju stanica i plazme mogla bi imati utjecaj na promjene tijekom čuvanja KE koje bi mogle modificirati imunosni odgovor primatelja.

U vrećici za uzimanje krvi nalazi se antikoagulantna otopina, a nakon obrade se dodaju hranjive otopine za očuvanje funkcije eritrocita. Te otopine su različitog kemijskog sastava, a njihov utjecaj na imunosni sustav primatelja nije istražen. Eritrociti se najčešće izdvajaju diferencijalnim centrifugiranjem iz pune krvi. Metode izdvajanja mogu biti različite (ručna vs automatska; BC vs PRP metoda). Ovisno o metodi proizvodnje, u KE nalazit će se određena količina plazme, trombocita i leukocita. Filtracijom se uklanja većina leukocita koji su odgovorni za febrilne nehemolitičke transfuzijske reakcije, za imunizaciju na HLA antigene i prijenos nekih zaraznih bolesti. Istraživanja su pokazala da uklanjanje leukocita iz eritrocitnih pripravaka smanjuje i imunološki odgovor primatelja na podražaj eritrocitnim antigenima (9). Ipak, filtrirani pripravci, osim dostatne količine leukocita i trombocita, sadrže i raspadne tvari iz stanica, dijelove njihove membrane, protuupalne citokine i mikročestice, ali postoji i mogućnost oštećenja membrane eritrocita tijekom prolaska kroz filter. Sve to može modificirati imunosni odgovor primatelja na transfundirane eritrocitne antigene. Nadalje, vrsta filtera i vrijeme filtracije utječe na broj leukocita, količinu citokina i mikrovezikula u eritrocitnom pripravku. Istraživanja su pokazala da doze koje su obrađene s odgodom od jednog dana imaju veće onečišćenje ovim tvarima (10, 11).

Već se duže vrijeme nastoji razjasniti utječe li dužina čuvanja eritrocitnih pripravka na ishod liječenja. Ta istraživanja su uglavnom usmjerena na utjecaj starosti doza na smrtnost i duži boravak u jedinicama intenzivnog liječenja ili bolnici. Nekoliko istraživanja promatralo je utjecaj starosti pripravaka na razvoj imunizacija na eritrocitne antigene (12, 13). Samo je jedna studija našla povezanost veće učestalosti aloimunizacija u slučaju primjene starijih doza eritrocita.

1.3. Čimbenici darivatelja

Jedan od čimbenika za razvoj aloimunizacije je različitost u etničkim skupinama darivatelja i primatelja. Poznato je da je zastupljenost nekih antigena veća u pojedinim etničkim skupinama pa je razumljivo da je rizik nepodudarnosti darivatelja i primatelja veća što povećava mogućnost za razvoj protutijela.

U postupku pregleda darivatelja važno je prepoznati znakove upale i u slučajevima kada ona ne uzrokuje ozbiljne kliničke simptome. Ti darivatelji mogu imati povišenu razinu protuupalnih citokina koji nakon transfuzije mogu potaknuti imunološki odgovor primatelja, a što može pogodovati razvoju imunizacije (7).

1.4. Čimbenici primatelja

Sam kontakt s eritrocitnim antigenima koje osoba ne posjeduje nije dovoljan za razvoj aloimunizacije. Na temelju malog broja istraživanja pretpostavlja se da je većina klinički značajnih antigena ovisna o T stanicama. Antigene velike raznolikosti i smještaja na velikim molekulama, kao što je RhD antigen, teorijski, HLA sustav, svakog RhD negativnog primatelja transfuzije može prezentirati na antigen prezentirajućim stanicama, dok manji antigeni kao što su K i Fy^a imaju manju priliku biti prezentirani pa je učestalost imunizacije na te antigene manja. Danas se također zna da neki HLA antigeni, kao što je HLA-DRB1*15, predodređuju razvoj većeg broja protutijela u primatelja. Osim razlika u HLA sustavu, razlike postoje i u primateljevim regulacijskim genima. Polimorfizam TRIM 21 (Ro52) i CD81 gena usmjerava imunološki odgovor. Iako je provedeno nekoliko istraživanja, do danas nije utvrđeno u čemu je razlika između osoba koje su razvile protutijela i onih koje nisu.

Iako su za razvoj imunizacije genetski određene mogućnosti važne, istraživanja su pokazala da značajan utjecaj ima i signal opasnosti (prema engl. *danger signal*). Signale opasnosti mogu u organizam unijeti agonisti TLR koji u osobe koja ne odgovara na podražaj eritrocitnim antigenima dovode do razvoja protutijela ili pojačavaju odgovor na antigeni podražaj. Poznato je da se u prisutnosti signala opasnosti u formi agonista TLR povećava aktivnost dendritičkih stanica primatelja te se pojačavaju kostimulirajući signali na antigen prezentirajućim stanicama (13).

Istraživanja pokazuju da bolesnici koji boluju od bolesti srpastih stanica, ako su transfundirani u akutnoj fazi bolesti, češće razviju protutijela u odnosu na bolesnike koji su transfundirani u vrijeme stabilne faze (14). Da akutni upalni procesi u vrijeme transfuzije potiču razvoj

protutijela potvrdila su i istraživanja u bolesnika s upalnim bolestima crijeva, sepsi i kroničnim autoimunim bolestima (15). Bolesnici koji primaju imunosupresivne lijekove rjeđe razvijaju protutijela.

Najveću učestalost imunizacija imaju bolesnici koji boluju od bolesti srpastih stanica i talasemije (15, 16, 17). U ovih bolesnika najvažniji čimbenik za razvoj imunizacije je antigena nepodudarnost između darivatelja i primatelja, ali značajnu ulogu imaju i vaskularne nepravilnosti, upala i poremećena imunost. Ovi bolesnici mogu razviti anti-HLA protutijela iako su liječeni filtriranim pripravcima.

Jedna doza koncentrata eritrocita može sadržavati mnogo stranih antigena za primatelja transfuzije, zato je najbolji pristup za sprječavanje imunizacije primjena doza eritrocita koje su identične u što većem broju antigena koji potiču stvaranje klinički značajnih protutijela. U oko 30 % bolesnika količina protutijela već godinu dana nakon imunizacije padne ispod praga osjetljivosti danas poznatih metoda testiranja. U slučaju ponovnog izlaganja tom antigenu, uslijediti će brz imunosni anamnestički odgovor i hemolitička reakcija ili, znatno rjeđe, imunotolerancija.

Iako nisu dokazana protutijela u serološkim ispitivanjima, poznato je da neke bakterije (npr. *Haemophilus influenza* s KEL, *Yesinia pestis* s Fy) koje dijele epitope s eritrocitnim antigenima potiču specifičnu aktivnost T stanica.

1.5. Aloimunizacija u hematoloških bolesnika

Bolesnici s hematološkim bolestima često trebaju transfuzijsko liječenje. Oni su najčešće transfundirana skupina bolesnika pa ne čudi da su istraživanja pokazala da su i najčešće imunizirani na eritrocitne antigene. Učestalost imunizacija prema skupinama bolesnika prikazana je u Tablici 2 (18).

Prije transfuzije radi se prijetransfuzijsko ispitivanje koje uključuje i testove otkrivanja antieritrocitnih protutijela. U slučaju pozitivnog rezultata radi se njihova identifikacija. Postupci identifikacije protutijela mogu biti složeni, što može odgoditi transfuzijsko liječenje na nekoliko dana do završetka testiranja i pronalaženja doza KE koje ne nose određeni antigen.

Mijelodisplastični sindrom, akutna mijeloična leukemija i aplastična anemija

Istraživanja pokazuju da je stopa imunizacije bolesnika s mijelodisplatičnim sindromom (MDS) i/ili mijelodisplastičnim/mijeloproliferativnim neoplazmama 15-59 %. Stopa imunizacije bolesnika s akutnom mijeloičnom leukemijom (AML) je 3-16 % dok je onih s aplastičnom

anemijom (AA) 11-14 %. U ovih bolesnika aloimunizacija na eritrocitne antigene može kompliciratiliječenje transplantacijom krvotvornih matičnih stanica. Stoga je u nekim centrima u transfuzijskom liječenju bolesnika s mijeloidnim bolestima i AA uveden PAM program koji osigurava primjenu doze krvi identičnih ne samo u ABO i RhD antigenima nego i u antigenima koji najčešće potiču stvaranje klinički značajnih protutijela, a to su antigeni tzv. Rh fenotipa (C, c, E, e) i K antigena iz Kell sustava krvnih grupa. Takav pristup pokazao se učinkovit u bolesnika s MDS-om (19, 20, 21, 22, 23).

Tablica 2. Učestalost aloimunizacija prema skupinama bolesnika (prilagođeno prema tablici iz reference 18)

Skupina bolesnika	**Učestalost aloimunizacija (%)**
Opća bolnička populacija (odrasli)	
Retrospektivna analiza	1 - 3
Prospektivna analiza	8 - 10
Hemoglobinopatije	
Bolest srpastih stanica	19 - 43
Talasemija major	5 - 45
Upalne bolesti	
Autoimune bolesti, općenito	16
Autoimune bolesti crijeva	8 - 9
Bolesti limfoidne loze	
Akutna limhatička leukemija	< 1
Hodgkinov limfom	< 1
Ne-Hodgkinov limfom	2 - 3
Bolesti mijeloidne loze	
Akutna mijeloidna leukemija	3 - 16
Mijelodisplastični sindrom (uključujući mijelodisplastične/mijeloproliferativne bolesti)	15 - 59
Solidni tumori (nehematološki)	1 - 10
Transplantacija	
Krvotvorne matične stanice	1 - 4
Transplantacija jetre	4 - 23
Ostale transplantacije	1 - 10

Akutna limfatička leukemija, Hodgkinov limfom i ne-Hodginov limfom

Istraživanja su pokazala da je učestalost aloimunizacija u bolesnika sa zrelim i nezrelim limfoidnim neoplazijama niska. Kreće se u rasponu od 0 % u bolesnika s akutnim limfatičnim leukemijama i Hodgkinovim limfomom do 2 – 3 % u bolesnika s ne-Hodgkinovim limfomom i bolestima plazma stanica. Pretpostavlja se da je uzrok niske stope aloimunizacija u ovoj skupini bolesnika posljedica specifičnih kemoterapijskih protokola i/ili oštećenja imunosnog sustava povezano s osnovnom bolesti (24).

Transplantacija matičnih stanica

Stopa novo razvijenih protutijela nakon transplantacije matičnih stanica je niska, iako su bolesnici u peritransplantacijskom razdoblju ovisni o transfuzijskom liječenju. Jedna studija je pokazala nešto veću učestalost aloimunizacija u bolesnika liječenih ABO nepodudarnim matičnim stanicama (25).

Solidni tumori i opća bolnička populacija

Iako su bolesnici sa solidnim tumorima često transfundirani, malo je podataka o učestalosti aloimunizacija u toj skupini bolesnika. U dva velika istraživanja dobiveni su oprečni rezultati, < 1 % vs 8 – 10 %. Povezanost s uzrocima koji bi mogli biti značajni u razvoju imunizacije u ovoj skupini bolesnika nisu nađeni. Međutim, jedna studija je identificirala prethodno liječenje solidnih tumora kao rizičan čimbenik za razvoj imunizacije (7).

Hemoglobinopatije

Transfuzijsko liječenje bolesnika s bolešću srpastih stanica (SCD prema engl. sicle cell disease) je nezaobilazno. Jedan od značajnih rizika transfuzijskog liječenja ovih bolesnika je razvoj aloimunizacije koja se javlja u 19 – 43 % bolesnika. Novija istraživanja pokazuju da je stopa imunizacije manja u bolesnika koji se liječe izmjenom eritrocita u odnosu na one koji primaju eritrocitne pripravke samo u svrhu liječenja anemije. Najčešće dokazana protutijela su Rh, K i Jk^b specifičnosti. Aloimunizirani SCD bolesnici često imaju i autoprotutijela.

Antieritrocitna protutijela u SCD bolesnika povezana su s dodatnim komplikacijama: akutne (AHTR) i odgođene hemolitičke reakcije (DHTR), *bystander* hemolize, a u žena i HBFN. Simptomi DHTR i *bystander* hemolize javljaju se 5 do 14 dana nakon transfuzije. Razgradnja transfundiranih eritrocita i bolesnikovih eritrocita uzrokuju tešku anemiju, a opisani su i smrtni

ishodi. Istraživanja pokazuju da se čak 48 % ovih komplikacija ne prepoznaje. Reakcije hiperhemolize javljaju se češće u aloimuniziranih bolesnika, iako se u jednom broju bolesnika ne mogu dokazati antieritrocitna protutijela. Kad god je moguće, u akutnoj fazi hemolize, transfuziju eritrocita treba izbjeći. Preporuča se primjena kortikosteroida i/ili intravenskih gamaglobulina. Rituximab je koristan u profilaksi ponovnog javljanja *bystander* hemolize.
I bolesnici s teškim oblikom talasemije su kronično ovisni o transfuzijama. Transfuzijsko liječenje započinje rano u djetinjstvu, tako da bolesnici imaju rizik razvoja hemokromatoze, poslijetransfuzijskih infekcija i aloimunizacija. Učestalost aloimunizacija kreće se od 5-45%. Ona ovisi o genetskim razlikama između darivatelja i primatelja, metodama proizvodnje krvnih pripravaka te opsegu prijetransfuzijskog ispitivanja i intenzitetu transfuzijskog liječenja bolesnika (16, 17, 18).

1.6. Mijelodisplastični sindrom

Mijelodisplastični sindrom heterogena je grupa klonskih bolesti matične hematopoetske stanice karakteriziranih neučinkovitom hematopoezom koja se morfološki očituje displazijom, citopenijom u perifernoj krvi te povećanim rizikom od transformacije bolesti u AML (26). Najčešće je uzrok nastanka MDS-a nepoznat, a u oko 10 % bolesnika može se povezati s ranijom izloženosti citostatskom liječenju, radioterapiji ili transplantaciji hematopoetskih matičnih stanica i solidnih organa (27). Sindrom se najčešće pojavljuje nakon 50-e godine života uz porast incidencije u sljedećim desetljećima života. U mlađih osoba poremećaj se opaža nakon zračenja, primjene citostatika (alkilirajućih tvari), izlaganja benzenu, ali i bez poznatih uzroka. Pretpostavlja se da RNA virusi mogu biti uzročnici MDS-a (27).

Prema podjeli Svjetske zdravstvene organizacije (SZO), najmanje 10 % stanica barem jedne mijeloidne loze mora pokazivati znakove displazije. Ako nisu zadovoljeni morfološki dijagnostički kriteriji, dijagnoza se može postaviti u slučaju postojanja specifičnih klonalnih kromosomskih promjena i tada se govori o privremenoj dijagnozi. Razlog je u tome što neke od kromosomskih promjena nisu samo specifičnost MDS-a, a neke se pojavljuju tijekom fiziološkog procesa starenja (npr. gubitak Y-kromosoma). U MDS-u postoje i promjene imunofenotipa (aberantni imunofenotip). Ako se utvrde tri ili više takvih promjena na jednoj ili više mijeloidnih loza, nalaz upućuje na MDS. Za bolesnike koji nemaju kriterije dijagnoze

predlaže se naziv neodređena idiopatska citopenija. Ti se bolesnici moraju redovito i striktno pratiti zbog mogućeg razvoja MDS-a (26).

Klasifikacija MDS-a SZO-a u obzir uzima kliničke, citomorfološke, citogenetske, imunofenotipske i biološke kriterije, odnosno MDS se kategorizira prema postotku blasta u koštanoj srži i perifernoj krvi, broju displastičnih krvnih loza te postojanju prstenastih sideroblasta.
Klasifikacija MDS-a prema SZO prikazana je u Tablici 3.

Zbog izuzetno heterogenoga prirodnog tijeka bolesti, odluka o načinu liječenja, kao i o vremenu njegova početka često je izazov. Određeni broj bolesnika s MDS-om može se godinama samo klinički pratiti, uz očekivano preživljenje koje se neće bitno razlikovati od preživljenja opće populacije iste dobi. S druge strane, dio bolesnika treba što raniji početak aktivnog i agresivnog liječenja, uključujući i transplantaciju alogeničnih matičnih stanica (27).

Simptomi bolesti su slabost, umor, sklonost krvarenjima i infekcijama, pokazatelji karakteristični za pancitopeniju. Klinička slika ovisi o tipu bolesti. Refraktorna citopenija s displazijom jedne loze i refraktorna anemija s prstenastim sideroblastima (RARS) ne pokazuju ozbiljnije kliničke promjene. Ostali tipovi anemija, uz početne znakove slabosti funkcije hematopoeze i potrebe potpornog liječenja, pokazuju progresiju u akutnu leukemiju, sa simptomima i znakovima koji se opisuju pri akutnim leukemijama (26).

Dijagnostički postupak treba započeti neinvazivnim procedurama radi isključivanja drugih uzroka citopenije, u prvom redu detaljnom anamnezom s kliničkim pregledom te krvnom slikom, osnovnim biokemijskim pretragama i citološkom analizom perifernoga krvnog razmaza. Kod sumnje na MDS anamneza mora biti detaljna s posebnim osvrtom na prijašnje bolesti i liječenje, kao i podatke o izloženosti toksičnim tvarima i ionizirajućem zračenju. Klinički pregled također mora biti detaljan i treba obuhvatiti sve organske sustave, uz dodatne testove ovisno o dobi i komorbiditetu (27).
Dijagnoza MDS-a se temelji na citomorfološkoj analizi stanica periferne krvi i koštane srži te citogenetskoj analizi stanica koštane srži.

Tablica 3. SZO klasifikacija mijelodisplastičnih sindroma iz 2008. (prilagođeno prema tablici iz reference 27)

Podtip MDS-a	Karakteristike periferne krvi	Karakteristike koštane srži
Refraktorna citopenija s unilinijskom displazijom (RCUD)	• Unicitopenija ili bicitopenija • < 1 % blasta	• Unilinijska displazija: ≥ 10 % stanica u jednoj mijeloidnoj lozi • < 5 % blasta • < 15 % prstenastih sideroblasta
Refraktorna anemija s prstenastim sideroblastima (RARS)	• Anemija	• ≥ 15 % prstenastih sideroblasta Samo eritroidna displazija • < 5 % blasta
Refraktorna citopenija s multilinijskom displazijom (RCMD)	• Citopenija/je • < 1 % blasta • Bez Auerovih štapića • < 1 x 10^9 /L monocita	• Displazija na ≥ 10 % stanica u ≥ dvije mijeloidne loze • < 5 % blasta • Bez Auerovih štapića • ± 15 % prstenastih sideroblasta
Refraktorna anemija (RAEB-1)	• Citopenija/je • < 5 % blasta • Bez Auerovih štapića • < 1 x 10^9/L monocita	• Unilinijska ili multilinijska displazija • 5 – 9 % blasta • Bez Auerovih štapića
Refraktorna anemija s viškom blasta (RAEB-2)	• Citopenija/je • 5 – 19 % blasta • Auerovi štapići ± • < 1 x 10^9 /L monocita	• Unilinijska ili multilinijska displazija • 10 – 19 % blasta • Auerovi štapići ±
MDS s izoliranom del(5q) (MDS-del(5q))	• Anemija • Normalan ili povećan broj trombocita • < 1 % blasta	• Normalan do povećan broj megakariocita s hipolobuliranim jezgrama • < 5 % blasta • Izolirana del(5q) • Bez Auerovih štapića
Neklasificirani mijelodisplastični sindrom (MDS-U)	• Citopenija/je • ≤ 1 % blasta	• Displazija na < 10 % stanica u jednoj ili više mijeloidnih loza uz prisutnost citogenetskih abnormalnosti koje se povezuju s MDS-om • < 5 % blasta
Refraktorna citopenija dječje dobi (RCC)	• < 2 % blasta	• U 75 % slučajeva izražena hipocelularnost koštane srži • Prisutnost displastičnih promjena • < 5 % blasta

Pri određivanju podtipa MDS-a nužno je odrediti koje su stanične linije zahvaćene displazijom. Klinički citolog mora dati detaljan i sveobuhvatan morfološki nalaz uključujući tip i stupanj displazije hematopoetskih loza (eritropoeze, granulopoeze, trombopoeze), postotak nezrelih stanica u perifernoj krvi i aspiratu koštane srži te postotak patoloških, prstenastih (engl. *ring*) sideroblasta prema kriterijima SZO (27).

Kod svih bolesnika s MDS-om potrebno je napraviti citogenetsku analizu koštane srži (27). Najčešće kromosomske abnormalnosti MDS-a jesu delecija 5q, monosomija ili delecija 7q, trisomija +8, delecija 20q i gubitak Y-kromosoma (27).
Kromosomske promjene nalazimo u 40 – 70 % bolesnika s mijelodisplazijom. Neke od njih upućuju na MDS i u slučajevima kada nema tipičnih morfoloških znakova za displaziju (26).

S obzirom na velike razlike u prirodnom tijeku, odnosno u riziku od progresije u AML i u očekivanom preživljenju, preporuke o načinu liječenja MDS-a temelje se na njegovoj podjeli prema stupnju rizika, uz uzimanje u obzir dobi i komorbiditeta bolesnika (27).
Radna skupina za mijelodisplastični sindrom Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti (KROHEM), Referalni centar Ministarstva zdravlja Republike Hrvatske za dijagnostiku i liječenje mijelodisplastičnog sindroma te Hrvatsko hematološko društvo Hrvatskoga liječničkog zbora izradili su hrvatske smjernice za dijagnozu i liječenje MDS-a (27).
Svrha liječenja jest kontrola simptoma citopenije, poboljšanje kvalitete života i preživljenja te sprečavanje progresije bolesti u akutnu mijeloičnu leukemiju. Planiranje i izbor terapije ovisi o trima uvjetima: dobi bolesnika, psihofizičkom statusu i prognostičko bodovnom sustavu za mijelodisplazije (R-IPSS-engl. Revised International Prognosis Scoring System) koji određuje kategorije rizika (26).

Terapija MDS-a uvelike ovisi o prognozi i temelji se na R-IPSS bodovnom zbroju (26), a sastoji se od tri pristupa: potporne terapije koja uključuje liječenje transfuzijama eritrocita i trombocita, primjena imunosupresivne terapije i agresivna terapija (kemoterapija) s alogenom transplantacijom (26).

Tablica 4. Revidirani internacionalni prognostički sustav bodovanja - IPSS (prilagođeno prema tablici iz reference 26)

Parametar	**Bodovi**						
	0	**0,5**	**1,0**	**1,5**	**2,0**	**3,0**	**4,0**
Blasti u koštanoj srži (%)	≤ 2		> 2 do < 5		5 - 10	> 10	
Kariotip	Vrlo dobar		Dobar		Srednji	Loš	Vrlo loš
Hemoglobing/L	≥ 100		80 - 100	< 80			
Trombociti x 10^9/L	≥ 100	50 - 100	< 50				
Apsolutni broj granulocitax 10^9/L	≥ 0.8	< 0.8					

Definicija kariotipa:
Vrlo dobar:Y, delecija (11q)
Dobar: Normalan, delecija (5q), delecija (12p), delecija (20q), delecija (5q)
Srednji: delecija (7q), +8, +19, i(17q), bilo koji pojedinačni ili dvostruki nezavisni klon
Loš: –7, inv(3)/t(3q)/del(3q), doubleincluding –7/del(7q), kompleksne promjene do 3
Vrlo loš: kompleksne promjene (> 3 promjene)

Rizik	IPSS bodovni zbroj*	Preživljenje (godine)
Vrlo mali	≤ 1.5	~ 9
Mali	1.5 – 3.0	~ 5
Srednji	3.0 – 4.5	~ 3
Veliki	4.5 – 6.0	~ 1.6
Vrlo veliki	> 6.0	~ 0.8

**Bodovanje od 0 do 4 određuje se za svaki od pet navedenih parametara u gornjem dijelu tablice. Dobivene se vrijednosti zbroje, što onda označuje IPSS bodovni zbroj koji određuje rizičnu skupinu.*

1.7. Transfuzijsko liječenje anemije bolesnika s mijelodisplastičnim sindromom

U 87 % slučajeva MDS-a bolesnici imaju izraženu anemiju već kod dijagnoze. Anemija pogoršava simptome drugih bolesti koje su česte u MDS bolesnika s obzirom na to da se radi o bolesnicima starije životne dobi (> 65 godina). U 63 % slučajeva razina hemoglobina je < 100 g/l, 29 % ih je ovisno o transfuzijama već kod dijagnoze, a tijekom bolesti njih 70 % postane ovisno o transfuzijama (28). Prosječno trogodišnje preživljenje bolesnika s MDS-om nakon postavljanja dijagnoze je 35 %. Bolesnici s MDS-om niskog rizika mogu preživjeti godinama nakon postavljanja dijagnoze.

Uvođenjem novih, učinkovitijih terapija očekuje se i duže preživljenje pa će liječenje anemije postati još važnije. Istraživanja su pokazala da kronična anemija liječena transfuzijama

eritrocita povećava pobol ovih bolesnika povezan s emocionalnim stresom, povećava rizik infekcije, aloimunizacija, preopterećenja željezom, ima negativan učinak na raniju pojavu AML-a i ukupno preživljenje. Zbog toga bi prvi izbor liječenja anemije trebali biti eritropoetin i lijekovi koji modificiraju tijek bolesti kao što su lenalidomid, azacytidin ili antitimocitni globulin.

Ovisnost o transfuzijama ne samo da utječe na ishod bolesti već negativno utječe na život bolesnika i njegove obitelji (narušena psiho-fizička stabilnost, česti odlasci u bolnicu, gubitak vremena na putovanja, novčani izdatci povezani s dugotrajnim liječenjem) (29, 30). Dva su glavna izazova u transfuzijskom liječenju bolesnika s MDS-om:

- održavanje zadovoljavajuće razine hemoglobina u odnosu na kvalitetu života,
- sprječavanje komplikacija transfuzijskog liječenja.

Doza koncentrata eritrocita unosi 250 mg željeza u organizam koje nije moguće izlučiti fiziološkim mehanizmima. Rizik preopterećenja željezom javlja se već nakon 10-e transfuzije (20 doza koncentrata eritrocita). Simptomi ne moraju biti odmah izraženi. Nakon nekog vremena javit će se trajno oštećenje srca, jetre, štitnjače i spolnih žlijezda. Danas je poznato da preopterećenje željezom u bolesnika s MDS-om ima negativan učinak na preživljenje i ishod transplantacije matičnih stanica. Preporuča se liječenje kelatorom željeza nakon transfuzije 25 doza koncentrata eritrocita i vrijednosti feritina iznad 1.000 μg/l ili ranije ako se planira liječenje transplantacijom matičnih stanica (31, 32).

Općenito, bolesnici s MDS-om, bez obzira na druge vidove liječenja, su intermitentno ili trajno ovisni o transfuzijskom liječenju. S obzirom na negativne učinke transfuzija na ishod liječenja ovih bolesnika, jedan od važnih zadataka u razvoju metoda liječenja MDS-a je pronalaženje mogućnosti liječenja anemije bez primjene krvnih pripravaka.

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Ciljevi ovog istraživanja su:

- ispitati učestalost antieritrocitnih protutijela u transfundiranoj skupini bolesnika s MDS-om,
- istražiti specifičnost antieritrocitnih protutijela i njihov udio u imuniziranoj skupini bolesnika,
- ispitati postoje li razlike u intenzitetu transfunzijskog liječenja u bolesnika koji su razvili protutijela u odnosu na one koji nisu imunizirani,
- ispitati javljaju li se autoprotutijela češće u skupini aloimuniziranih bolesnika u odnosu na skupinu koja nije razvila aloprotutijela.

3. ISPITANICI I METODE

3.1. Ustroj studije i ispitanici

Ovo je presječna studija s povijesnim podatcima. Ispitanici su bolesnici s MDS-om liječeni u Kliničkom bolničkom centru Zagreb (KBC Zagreb) u razdoblju od 2010. do 2019. godine. Dijagnoza MDS-a postavljena je prema klasifikaciji SZO-a (26). Uključeni su odrasli bolesnici s MDS-om koji su tijekom promatranog razdoblja primili barem jednu transfuziju KE. Pretraživanjem informatičke baze podataka transfuzijske službe identificirano je 112 takvih bolesnika.

Klinički podatci prikupljeni su iz bolničkog informacijskog sustava. Bolesnici su praćeni do zadnjeg dostupnog nalaza testova pretraživanja antieritrocitnih protutijela. Ako su bolesnici liječeni transplantacijom matičnih stanica u promatranom razdoblju, iz praćenja su bili isključeni s datumom hospitalizacije u kojoj je planirana transplantacija. Drugih kriterija za isključenje nema. Od 112 bolesnika 9 je imalo antieritrocitno aloprotutijelo kod uključivanja u istraživanje.

Za transfudirane bolesnike s MDS-om prikupljeni su sljedeći podatci: dob, spol, prethodna liječenja važna za razvoj MDS-a, vrsta MDS-a, vrsta liječenja MDS-a, ishod liječenja, datum i broj testova pretraživanja na antieritrocitna protutijela, datum i broj određivanja direktnog antiglobulinskog testa (DAT) i rezultate ispitivanja u slučajevima kada je bio pozitivan, datum pojave antieritrocitnog protutijela, broj i specifičnost protutijela, broj transfundiranih doza i učestalost transfuzijskog liječenja.

3.2. Imunohematološko ispitivanje

Testovi otkrivanja antieritrocitnih protutijela rađeni su s dvostaničnim test panelom u indirektnom antiglobulinskom testu metodom u mikrokarticama. U promatranom razdoblju korištene su mikrokartice dva proizvođača (Ortho Clinical Diagnostics i DiaMed-BioRad Laboratories). Testovi otkrivanja antieritocitnih protutijela rađeni su kod određivanja krvne grupe, a kod prijetransfuzijskog ispitivanja ponavljani su svaka 72 sata. Ako je test otkrivanja antieritrocitnih protutijela bio pozitivan, napravljena je identifikacija protutijela (Resolve Panel A+B, Ortho-Clinical Diagnostics; ID-DiaPanel + DiaPanel-P, DiaMed-BioRad Laboratories; Identisera Diana, Grifols).

Direktni antiglobulinski test rađen je na zahtjev liječnika koji skrbi za bolesnika i u sklopu ispitivanja antieritrocitnih protutijela. Ako je bio pozitivan, određena je vrsta globulina vezana na eritrocite (DC-Screening II, DiaMed-BioRad Laboratories). Ako su dokazani imunoglobulini, napravljena je elucija i identifikacija protutijela u eluatu.
Neimunizirani bolesnici bili su liječeni KE podudarnim u ABO i RhD antigenima. Ako je bolesnik razvio antieritrocitna protutijela, od dana identifikacije antieritrocitnog protutijela, odnosno obrade pozitivnog DAT-a, uključen je u PAM program koji standardno uključuje antigene Rh fenotipa i K antigen.

3.3. Transfuzijsko liječenje

Transfuzijsko liječenje propisao je liječnik koji skrbi za bolesnika na temelju kliničke procjene bolesnika i vrijednosti hemoglobina.
Krv iz koje su proizvedeni koncentrati eritrocita bila je uzeta u CPD antikoagulantnu otopinu. Primijenjeni koncentrati eritrocita bili su konzervirani u hranjivoj otopini (SAGM), a leukociti su bili uklonjeni filtracijom. Proizvođač koncentrata eritrocita bio je Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu. U KBC-u Zagreb koncentrati eritrocita ozračeni su dozom od 25 Gy neposredno prije primjene.
Za analizu povezanosti transfuzije KE i imunizacije bolesnici su podijeljeni u četiri skupine:
1. neimunizirani; 2. bolesnici s aloprotutijelima; 3 bolesnici s autoprotutijelima; 4. bolesnici s alo i auto protutijelima.

3.4. Statističke metode

Rezultati analize prikupljenih podataka prezentirani su u tablicama i grafikonima. Svi prikupljeni numerički podatci su prikazani medijanom i interkvartilnim rasponom, dok su kategorijski podatci prikazani apsolutnim i relativnim frekvencijama.
Za analizu numeričkih podataka, nakon ispitivanja normalnosti Shapiro-Wilk testom, korišteni su neparametrijski Mann-Whitney U test za dvije skupine te Kruskal-Wallis test za više skupina bolesnika, dok su za usporedbu kategorijskih podataka korišteni Hi-Kvadrat test te Fisherov egzaktni test.
Statistička analiza učinjena je programskim sustavom MedCalc (inačica 19.4.1, MedCalc Software Ltd), uz odabranu razinu značajnosti od $\alpha = 0,05$. Sve P vrijednosti su dvostrane.

4. REZULTATI

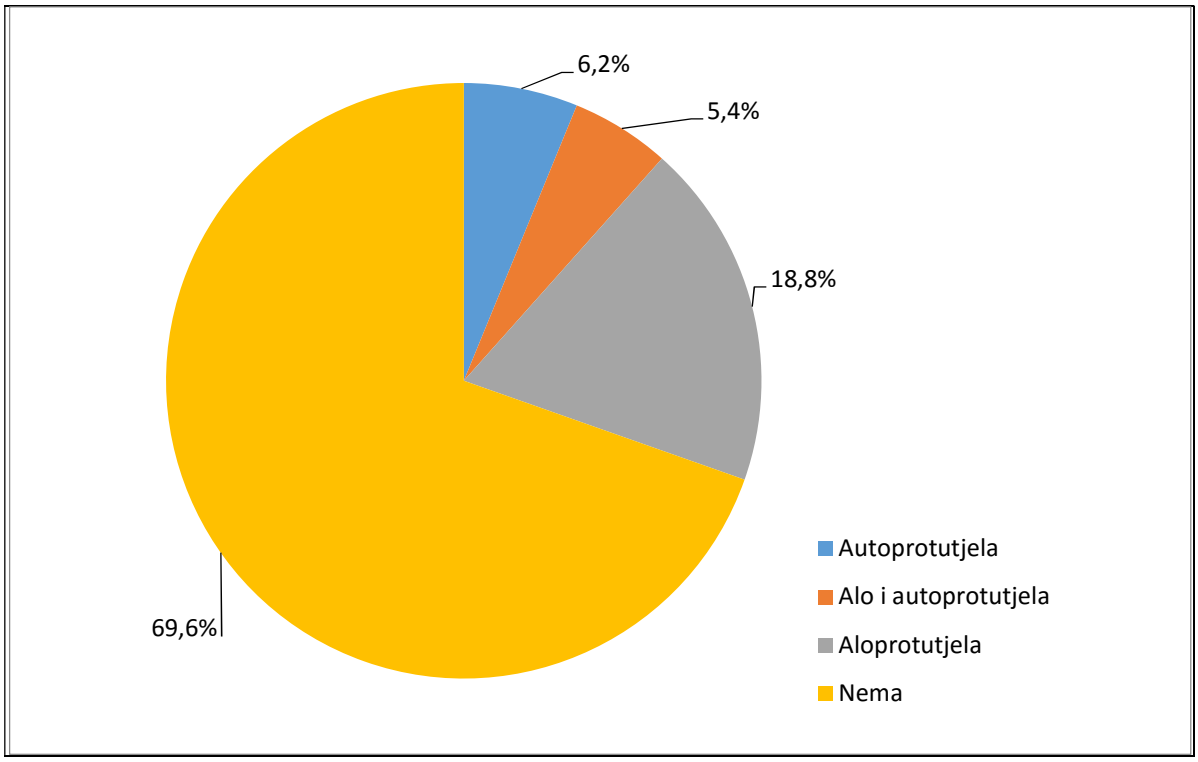
U istraživanju je sudjelovalo ukupno 112 hematoloških bolesnika. Obilježja bolesnika prikazana su u Tablici 5. Značajno više je bilo bolesnika muškog spola, njih 78 (69,6 %) u odnosu na 34 (30,4 %) bolesnika ženskog spola (Hi-Kvadrat test, P = ***0,003***).

Tablica 5. Obilježja transfundiranih bolesnika s mijelodisplastičnim sindromom (N112)

Dob, medijan (raspon)	68 (21-93)	
Spol, muškarci/žene	78 / 34	
Vrsta MDS-a prema WHO	**N**	**%**
RA	9	8
RARS	12	11
RCDM	0	0
RAEB	40	36
Izolirana delecija 5q	4	4
Neklasificirani	47	42
Vrijeme praćenja bolesnika od postavljanja dijagnoze		
< 6 mjeseci	38	34
6 do 12 mjeseci	20	18
12 - 24 mjeseca	16	14
24 - 48 mjeseci	16	14
48 - 60 mjeseci	7	6
> 60 mjeseci	15	13
Krvne grupe		
0	41	37
A	44	39
B	22	20
AB	5	4
RhD negativni	22	20
Transfundirane doze koncentrata eritrocita		
Ukupni broj doza	6296	
Medijan (raspon)	33 (2 - 456)	
Prosječno doza/bolesnik	56	
Razdoblje između transfuzija		
do 7 dana	20	18
Svakih 7 - 14 dana	21	19
Svakih 14 - 30 dana	32	29
Svakih 30 - 60 dana	23	21
Više od 60 dana	16	14

Medijan broja transfundiranih doza KE kod bolesnika iznosi 33,0 uz interkvartilni raspon od 11,5 do 69,0 te ukupni raspon od minimalne 2 doze KE do maksimalnih 456 doza KE po bolesniku.

Značajno najveći postotak bolesnika, njih 69,6% nije razvio protutijela (Hi-Kvadrat test, ***P<0,001***) (Slika 2).



Slika 2. Distribucija bolesnika s obzirom na razvoj protutijela

Ukupno je 34 (30%) bolesnika razvilo antieritrocitna protutijela od kojih je 6 (5%) imalo i auto i alo antieritrocitno protutijelo.

Četrdesetpet antieritrocitna aloprotutijela razvilo je 27 (24 %) bolesnika. Jedno aloprotutijelo razvilo je 52 %, dva aloprotutijela 19 %, a tri aloprotutijela 30 % bolesnika. Specifičnosti su prikazane u Tablici 6, a broj dana imunohematološkog praćenja bolesnika u odnosu na pojavu antieritrocitnog aloprotutijela i broj transfundiranih KE u Tablici 7.

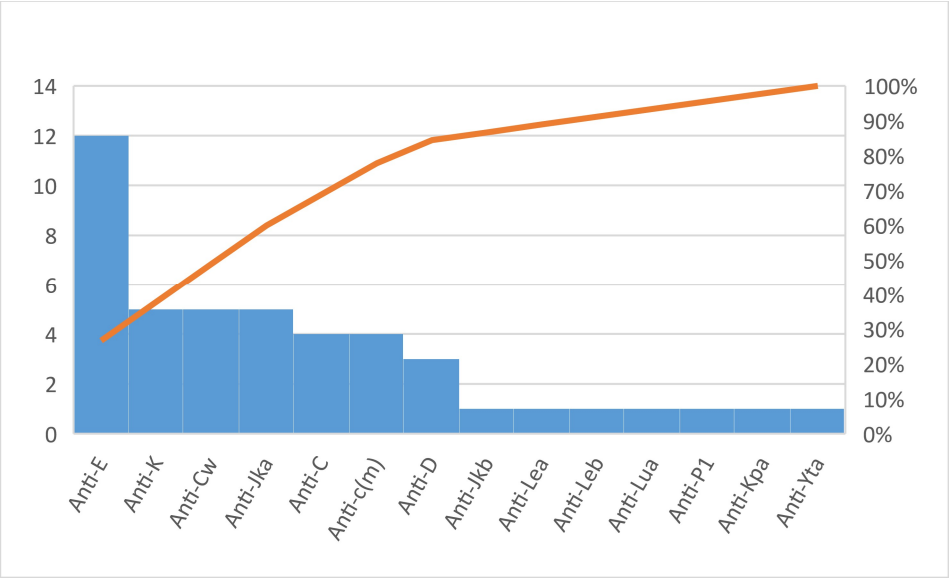
Tablica 6. Specifičnost antieritocitnih aloantitijela u odnosu na broj protutijela u krvi bolesnika

Specifičnost aloprotutijela	**N bolesnika**	**%**
Jedno protutijelo	**14**	**52**
D	1	
C	1	
E	5	
Cw	1	
K	2	
Lea	1	
Lua	1	
Kpa	1	
P1	1	
Tri protutijela	**8**	**30**
E, Jka,Cw	1	
C, D, E	1	
D, C, K	1	
E, Cw, Jka	1	
E, Cw, Yta	1	
Jka, Leb, c(m)	1	
E, c(m), Jka	1	
Jkb, c(m), K	1	

Tablica 7. Vrijeme imunohematološkog praćenja i broj transfundiranih koncentrata eritrocita u skupini bolesnika s antieritrocitnim aloprotutijelima

Razvoj	**Broj dana praćenja od prvog IAT-a**	**Broj transfundiranih doza**
prvog protutijela	304 (1 - 3780)	10 (2 - 60)
drugog protutijela	440 (7 - 945)	6 (2 - 111)
trećeg protutijela	327 (10 - 1069)	62 (4 - 72)

Specifičnosti aloprotutijela prikazana su na Slici 3. Njih 62% bila su iz Rh sustava, 13 % iz Kell sustava, 13 % iz Kidd sustava, 4 % iz Lewis sustava, a po 2 % iz Lutheran i Yt sustava.



Slika 3. Kumulativna incidencija antieritrocitnih aloprotutijela prema specifičnosti (N 45)

Kod jednog bolesnika javila se umjerena DHTR, a kod jednog DSTR (2/112; 1,8 %). Specifičnost protutijela bila je anti-K.

Pozitivan DAT imala su 24 bolesnika od kojih je antieritrocitno autoprotutijelo dokazano u 13 (12 %) bolesnika. Na eritrocitima su bila vezana autoprotutijela IgG razreda bez eritrocitne specifičnosti. U eluatu su dokazana polispecifična autoprotutijela u tri slučaja, a u dva slučaja autoprotutijela su imala anti-e specifičnost.

U PAM program su bili uključeni svi bolesnici s eritrocitnim aloprotutijelima. Osam bolesnika (8/27;30 %) razvilo je novih 11 antieritocitnih protutijela: 3 anti-Cw, 2 anti-Jka, i po 1 anti-E, anti-C, anti-c, anti-K, anti-Kpa i Yta.

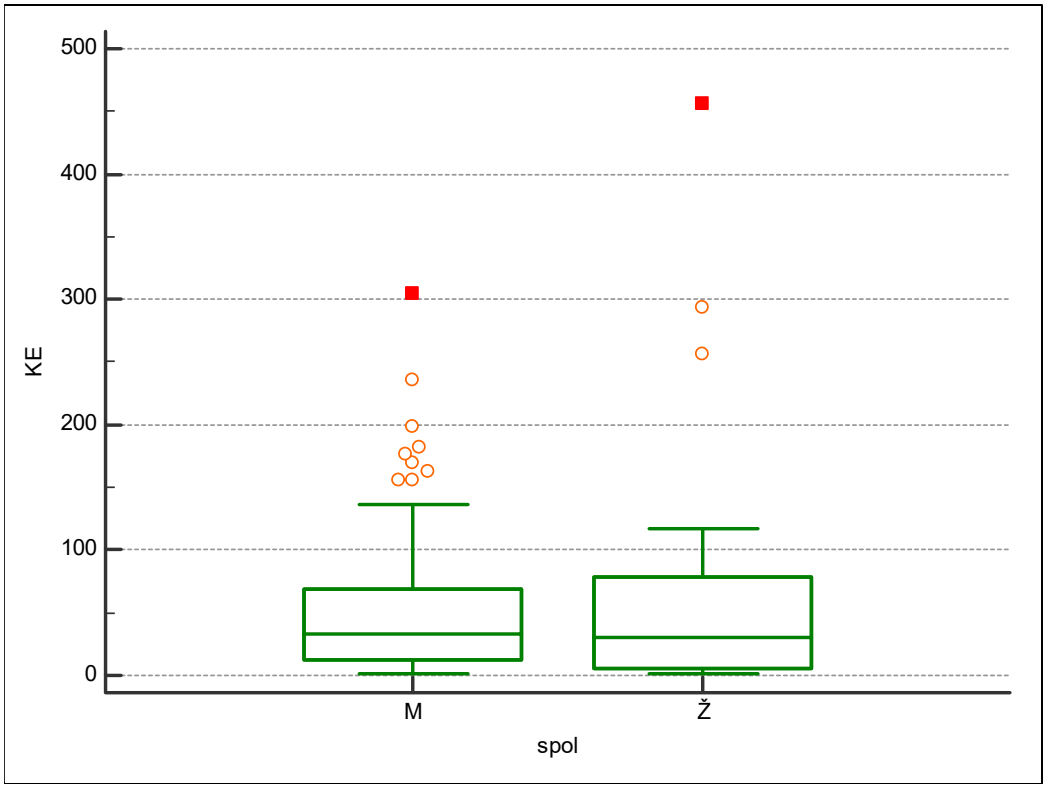
Usporedba bolesnika s obzirom na razvoj protutijela prema spolu pokazala je kako su žene značajno češće razvile aloprotutijelo, dok muškarci u značajno većem postotku nisu razvili protutijela (Fisherov egzaktni test, P = ***0,02***), dok su podjednako oba spola razvila autoprotutijela te kombinaciju alo i autoprotutijela (Tablica 8).

Tablica 8. Usporedba bolesnika s obzirom na razvoj protutijela prema spolu

	Broj (%) bolesnika		P*
	Muškarci	Žene	
Prisustvo auto i alo protutijela			
Autoprotutijelo	5 (6,4)	2 (5,9)	
Aloprotutijelo	9 (11,5)	12 (35,3)	***0,02***
Alo i autoprotutijela	4 (5,1)	2 (5,9)	
Nisu razvili protutijela	60 (76,9)	18 (52,9)	
Ukupno	78 (100,0)	34 (100,0)	

*Fisherov egzaktni test

Analizom prikupljenih podataka o broju transfundiranih doza KE kod bolesnika nije nađena značajna razlika s obzirom na spol (Mann-Whitney U test, P = 0,78) iako je nešto veća kod muških bolesnika (Me = 33, IQR = (12 - 69)) u usporedbi sa ženskim bolesnicima (Me = 30, IQR = (6 - 78)) (Slika 4.).



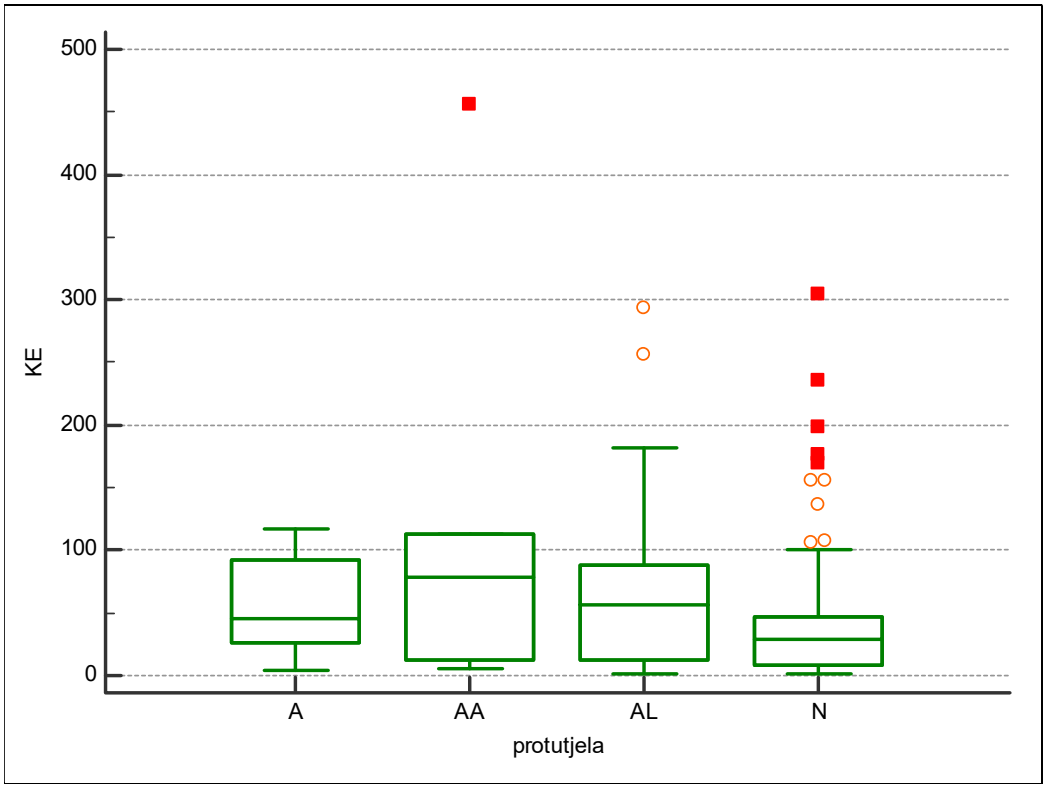
Slika 4. Distribucija transfuzija KE s obzirom na spol bolesnika

Svi bolesnici ukupno su primili 6296 doze KE; medijan 33 (raspon 2 - 456). Potrošnja KE po skupinama bolesnika u odnosu na razvoj antieritrocitnih protutijela prikazana je u Tablici 9.

Tablica 9. Potrošnja koncentrata eritrocita u odnosu na razvoj antieritrocitnih protutijela

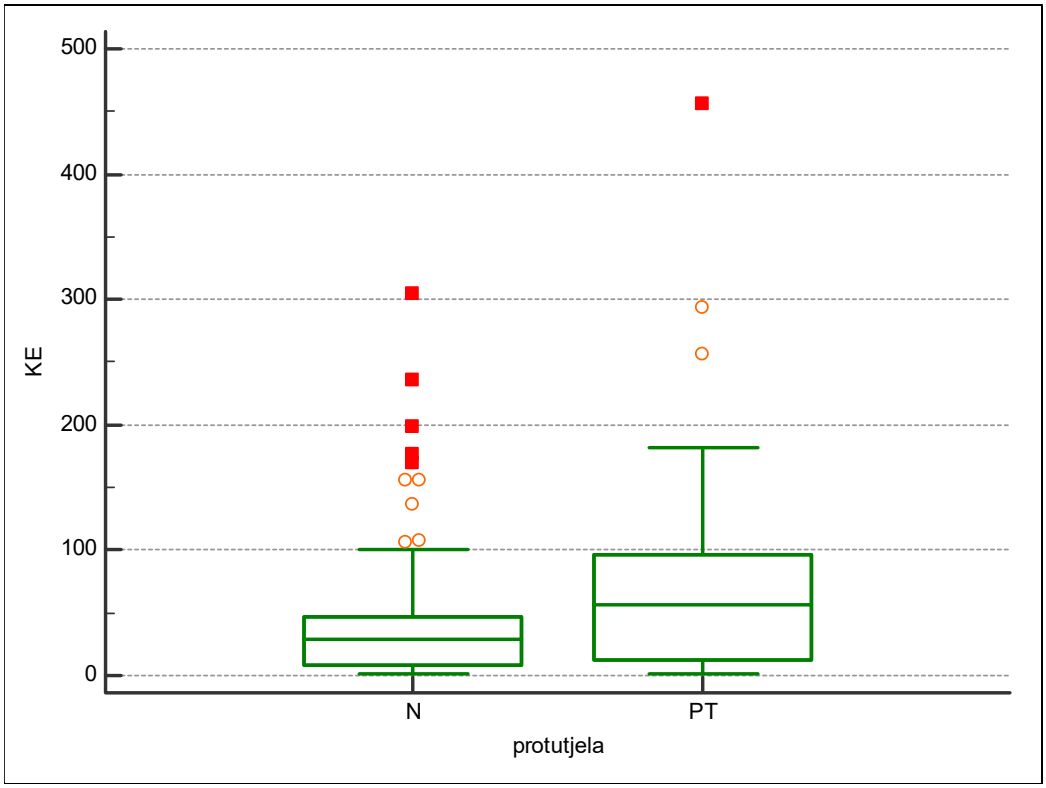
Transfuzije	**Neimunizirani bolesnici (N 78)**	**Auto i alo (N 34)**	**Alo (N 27)**	**Auto (N 13)**
Ukupni broj doza	3575	2721	2333	1131
Medijan (raspon)	30 (2 - 304)	57 (2 - 456)	63 (2 - 456)	58
Doza /bolesniku	46	80	86	87

Analizom podataka o broju transfundiranih doza KE kod bolesnika s obzirom na razvoj protutijela nije nađena značajna razlika između skupina bolesnika (Kruskal-Wallis test, P=0,16) iako je najveća skupina bolesnika koji su razvili i auto i alo protutijela (Me = 78,5, IQR = (12 - 113)), a najniža kod bolesnika koji nisu razvili protutijela (Me = 29,5, IQR = (8 - 47)) (Slika 5.).



Slika 5. Distribucija transfuzija KE s obzirom na razvoj protutijela

No, ako se usporede transfundirane doze KE kod bolesnika koji su razvili protutijela naspram onih koji nisu razvili protutijela, dobije se statistički značajna razlika u frekvencijama (Mann-Whitney U test, P = ***0,03***), gdje je frekvencija značajno veća kod bolesnika koji su razvili protutijela (Me = 57, IQR = (12 - 97)) nego kod onih koji nisu (Me = 29,5 IQR = (8 - 47)) (Slika 6).



Slika 6. Distribucija transfuzija KE s obzirom na razvoj protutijela

Analizom podataka o frekvenciji transfuzije KE kod bolesnika s obzirom na razvoj protutijela nađena je statistički značajna razlika između bolesnika koji su razvili auto i aloprotutijela (Mann-Whitney U test, P = ***0,04***) te bolesnika koji nisu razvili protutijela, no za ostale kombinacije grupiranja nije nađena statistički značajna razlika (Tablica 10).

Tablica 10. Usporedba frekvencije transfuzija KE među različitim skupinama bolesnika

Grupiranje u različite skupine /medijan (interkvartilni raspon)		P*
AL+AA /63,0 (12,0 do 94,8)	N /29,5 (8,0 do 47,0)	***0,04***
A+AA /58,0 (18,8 do 105,5)	N /29,5 (8,0 do 47,0)	0,07
A+AA /58,0 (18,8 do 105,5)	AL /56,0 (11,8 do 88,8)	0,71
AA /78,5 (12,0 do 113,0)	AL /56,0 (11,8 do 88,8)	0,47
AA /78,5 (12,0 do 113,0)	A /45,0 (25,8 do 91,8)	0,57
AL+AA /63,0 (12,0 do 94,8)	A /45,0 (25,8 do 91,8)	0,80
AA /78,5 (12,0 do 113,0)	N /29,5 (8,0 do 47,0)	0,17

*Mann-Whitney U test

5. RASPRAVA

Ovaj je rad bio usmjeren na istraživanje imunohematoloških posljedica transfuzijskog liječenja kod bolesnika s MDS-om. Antieritrocitna aloprotutijela nađena su u 24 % bolesnika što odgovara nekim objavljenim istraživanjima u kojima je učestalost aloimunizacija bila 20 % odnosno 30 % (20, 21). Jedan dio istraživanja ima znatno nižu učestalost, 12 % i 15 %, a drugi čak 59 % (19, 33, 34). Ovi oprečni rezultati jednim dijelom su posljedica neujednačenog ustroja istraživanja: različiti kriteriji uključivanja bolesnika u istraživanje, različiti protokoli liječenja i dužine praćenja nakon prve transfuzije. Razlike u učestalosti aloimunizacija ovise i o veličini ispitivane skupine. Istraživanja s malim brojem bolesnika imaju veću učestalost aloimunizacija, dok istraživanja koja uključuju više od sto bolesnika imaju nižu učestalost aloprotutijela. U ovo istraživanje uključeno je 112 bolesnika, što je relativno velik broj bolesnika, ali iz istraživanja nisu isključeni prethodno imunizirani bolesnici. Da je ustroj ove studije isključio takve bolesnike, učestalost aloimunizacija bila bi 16% kao u objavljenom istraživanju (33).

Specifičnost protutijela otkrivena u ovom istraživanju odgovara rezultatima prijašnjih istraživanja (22, 23, 30). Najveći udio, 77 %, čine protutijela iz Rh i Kell sustava. U do sada najvećem istraživanju aloimunizacija u bolesnika s MDS-om, udio Rh i Kell protutijela je 76 % (33). Više od jednog protutijela nađeno je u 49 % bolesnika, što je niže od drugih istraživanja u kojima više protutijela ima 83 % (11).

U ovom istraživanju bolesnice ženskog spola bile su značajno imuniziranije u odnosu na muške bolesnike. Još nema čvrstih znanstvenih dokaza koji potvrđuju da je ženski spol rizični čimbenik za razvoj antieritrocitnih protutijela (35). Neka istraživanja su ipak pokazala da žene značajno češće razvijaju protutijela (36, 37).

Ako se vodi računa o što većoj antigenoj podudarnosti darivatelja i primatelja kod izbora KE za transfuzijsko liječenje, očekuje se smanjenje broja imuniziranih bolesnika i potrebe za opsežnim serološkim laboratorijskim ispitivanjima (38).

U bolesnika s hemoglobinopatijama PAM program je smanjio učestalost imunizacije. Temeljem tog iskustva PAM se preporuča i u transfuzijskom liječenju bolesnika s MDS-om. U ovom istraživanju PAM se koristio tek kada je bolesnik razvio prvo protutijelo. Usprkos PAM-u 4 bolesnika su razvila nova protutijela (C, c, E, K) koja su bila usmjerena na antigene za koje se PAM provodio. Način imunizacije za ova četiri bolesnika nismo mogli utvrditi. Moguće je da su imunizirani putem trombocitnih transfuzija (38, 39, 40).

U ovom istraživanju autoprotutijela su dokazana u 13 % bolesnika od kojih je 46 % imalo i aloprotutijelo. I u drugim istraživanjima visok je udio bolesnika s auto i aloprotutijelima.

Young i sur. pokazali su da 34 % bolesnika s autoprotutijelima ima i aloprotutijela što je potvrđeno u istraživanjima aloimunizacija u bolesnika s hemoglobinopatijama koji uz aloprotutijela imaju i autoprotutijelo u 8 - 25% slučaja (33, 34). Slučajevi u kojima je prisutno alo i auto protutijelo obično zahtijevaju puno laboratorijskog rada kako bi se osiguralo sigurno transfuzijsko liječenje.

Više istraživanja je dokazalo povezanost broja transfuzija s razvojem antieritrocitnih aloprotutijela (22, 23, 33). U ovoj studiji medijan razvoja prvog protutijela bio je 304 dana od transfuzije prve doze KE. Medijan transfundiranih KE prije razvoja prvog protutijela bio je 10 doza, što je slično rezultatima drugih istraživača.

Imunizirani bolesnici trebaju više i češće transfuzijsko liječenje uglavnom zbog razvoja dodatnog protutijela i/ili autoprotutijela koja uzrokuju subkliničku serološku transfuzijsku reakciju koja ipak skraćuje život transfundiranih eritrocita. U našem istraživanju postoji značajna razlika između broja transfundiranih doza u bolesnika s eritrocitnim protutijelima u odnosu na neimuniziranu skupinu.

U bolesnika s MDS-om je istraživanje hemolize eritrocita otežano jer je često laktat dehidrogenaza povišena, a retikuocitoza izostaje zbog deregulacije eritropoeze. U slučajevima kada je haptoglobin snižen, a bilirubin povišen, treba isključiti imunološku hemolizu eritrocita imunohematološkom obradom.

Aloimunizacije na eritrocitne antigene ne kompliciraju samo pronalaženje podudarnih doza KE već imaju i kliničke posljedice. U ovom istraživanju zabilježili smo jedan (3,5 %) slučaj DHTR s umjerenim kliničkim simptomima i jedan (3,5 %) slučaj DSTR-a. U istraživanju Singhali i sur. čak 22 % bolesnika ima serološku reakciju od koji dva (2 %) DHTR (33, 41).

Istraživanja su pokazala da vrsta liječenja utječe na razvoj aloimunizacije. Učestalost je značajno niža u bolesnika koji su liječeni intenzivnom kemoterapijom i/ili transplantacijom matičnih stanica u odnosu na bolesnike liječene azacitidinom ili lenalidomidom, vjerojatno zbog veće imunosupresije u prvoj skupini bolesnika (42).

Učestalost aloimunizacije veća je u skupinama bolesnika koji su ovisni o transfuzijama, dok nema razlike u učestalosti imunizacije u bolesnika koji nisu ovisi o transfuzijama, bez obzira kojoj skupini pripadaju.

Učestalost imunizacija je manja u skupinama bolesnika vrlo visokog i visokog rizika prema IPSS stupnjevanju u odnosu na bolesnike vrlo niskog, niskog i srednjeg rizika, vjerojatno radi kraćeg preživljenja bolesnika, metodama liječenja kojim se modificira bolest i većeg stupnja imunosupresije. Poznato je da je broj regulatornih T stanica koje su potrebne za razvoj

aloimunizacije značajno manji u bolesnika s niskim rizikom prema IPSS stupnjevanju u odnosu na one s visokim rizikom pa i to može biti razlog za nižu stopu aloimunizacije (42).

6. ZAKLJUČAK

Iz rezultata istraživanja o učestalosti antieritrocitnih protutijela u transfundiranih bolesnika s mijelodisplastičnim sindromom možemo zaključiti sljedeće:

- Utvrđena je visoka učestalost aloimunizacija na eritrocitne antigene u transfundiranoj skupini bolesnika s MDS-om.
- Antieritrocitna aloprotutijela razvilo je 27 (24 %) bolesnika iz ispitivane skupine, odnosno 62 % protutijela bila su iz Rh sustava, 13 % iz Kell sustava, 13 % iz Kidd sustava, 4 % iz Lewis sustava, a po 2 % iz Lutheran i Yt sustava.
- Analizom podataka o intenzitetu transfuzijskog liječenja nađena je statistički značajna razlika između bolesnika koji su razvili auto i aloprotutijela u odnosu na bolesnike koji nisu imunizirani.
- Nije utvrđena češća učestalost autoprotutijela u skupini bolesnika koji su razvili aloprotutijela u odnosu na skupinu koja nije razvila aloprotutijela.

7. SAŽETAK

Cilj istraživanja: Ciljevi ovog istraživanja su ispitati učestalost antieritrocitnih protutijela u transfundiranoj skupini bolesnika s mijelodisplatičnim sindromom (MDS), istražiti specifičnost antieritrocitnih protutijela i njihov udio u imuniziranoj skupini bolesnika, ispitati postoje li razlike u intenzitetu transfuzijskog liječenja u bolesnika koji su razvili protutijela u odnosu na one koji nisu imunizirani i ispitati javljaju li se autoprotijela češće u skupini aloimuniziranih bolesnika u odnosu na skupinu koja nije razvila aloprotutijela.

Ustroj studije: Ovo je presječna studija s povijesnim podatcima.

Ispitanici i metode: Za potrebe istraživanja pretražene su informatičke baze podataka KBC-a Zagreb i prikupljeni demografski podatci o bolesnicima, imunohematološkom ispitivanju i transfuzijskom liječenju.

Rezultati: U istraživanju je sudjelovalo 112 transfundiranih bolesnika s MDS-om. Značajno više (70%) bolesnika nije razvio antieritrocitna protutijela. Tridestčetiri (30%) bolesnika je razvilo antieritrocitna protutijela: 27 (24%) alo, 13 (12%) auto od kojih je 6 razvilo i auto i alo protutijelo. Jedno aloprotutijelo razvilo je 52%, dva 19%, a tri 30% bolesnika. Od otkrivenih protutijela 62% su bila iz Rh sustava, 13% iz Kell sustava, 13% iz Kidd sustava, 4% iz Lewis sustava, a po 2% iz Lutheran i Yt sustava. Broj transfundiranih doza koncentrata eritrocita značajno je veći kod bolesnika koji su razvili protutijela naspram onih koji nisu.

Zaključak: Veliki broj bolesnika tijekom liječenja MDS-a razvije antieritrocitna protutijela. Bolesnici s razvijenim auto i aloprotutijelima češće se liječe transfuzijama koncentrata eritrocita nego neimunizirani bolesnici.

Ključne riječi: mijelodisplastični sindrom, antieritrocitna aloprotutijela, antieritrocitna autoprotutijela, transfuzijsko liječenje

8. SUMMARY

Red cell antibodies in transfused patients with myelodysplastic syndrome

Aim: The aim of this studyis to test the frequency of RBC antibodies in a group of transfused patients with myelodysplastic syndrome (MDS), analyze the specificity of RBC antibodies and proportion of immunized patients they affect, find differences in the intensity of transfusion therapy in patients who developed antibodies as opposed to non-immunized patients, and investigate whether autoantibodies were more frequent in the alloimmunized or non-alloimmunized group of patients.

Study design: This is a cross-sectional study with historical data.

Patients and methods: Computer databases of University Hospital Center Zagreb were searched and demographic data on patients, results of immunohematology testing and details of transfusion therapy were collected.

Results: The study included 112 transfused patients with MDS. More patients (70%)did not develop antibodies. A total of 34 (30%) patients developed RBC antibodies: 27 (24%) allo-, 13 (12%) auto-, 6of which had both auto-andallo-antibodies. Concerning antibodies, 52% patients developed one, 19% developed two and 30% developed three. Rh (62%) system antibodies were the most frequent, followed by Kell (13%), Kidd (13%), Lewis (4%) , Lutheran (2%) and Yt (2%) systems. Number of RBC transfusion was much higher in patients who developed antibodies.

Conclusion: Many patients with MDS develop RBC antibodies that complicate treatment. Patients with developed auto- and alloantibodies receive RBC concentrate transfusions more frequently than non-immunized patients.

Key words: myelodysplastic syndrome, RBC alloantibodies, RBC autoantibodies, transfusion therapy

9. LITERATURA

1. Transfuziološki vijesnik. HZTM. 2020:63. Dostupno na adresi: http://www.hztm.hr/glasilo/63/rezultati-rada-transfuzijske-sluzbe-2019.html. Datum pristupa 08.09.2020.
2. Global Status Report on Blood Safety and Availability2016. WHO 2017. Dostupno na adresi: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254987/9789241565431-eng.pdf;jsessionid=0D9313B2A0BD8363BE9A3903106FCB7B?sequence=1. Datum pristupa 08.09.2020.
3. Carson JL, Stanworth SJ, Roubinian N. Transfusion thresholds and other strategies for guiding allogeneic red blood cell transfusion. Cochrane Database of Systematic Reviews 2016, Issue 10. Art. No.: CD002042. DOI: 10.1002/14651858.CD002042.pub4.
4. Tormey CA, HendricksonJ A.Transfusion-related red blood cell alloantibodies: induction and consequences. Blood.2019;133: 1821–1830.
5. Fatalities Reported to FDA Following Blood Collection and Transfusion: Annual Summary for Fiscal Year 2018. Dostupno na adresi: https://www.fda.gov/media/136907/download. Datum pristupa 08.09.2020.
6. 2019 Annual SHOT Report. Dostupno na adresi: https://www.shotuk.org/shot-reports/report-summary-and-supplement-2019/. Datum pristupa 08.09.2020.
7. Hendrickson JE, Tormey CA. Understending red bloodcellalloimmunizationtrigger. Blood (Hematology). 2016;446-451.
8. Blood Anigens data base. Dostupno na adresi: https://bloodantigens.com/cgi-bin/a/a.fpl Datum pristupa 08.09.2020.
9. Singer ST, Wu V, Mignacca R, Kuypers FA, Morel P, Vichinsky EP. Alloimmunization and erythrocyte autoimmunization in transfusion dependent thalassemia patients of predominantly Asian descent Blood. 2000;96:3369-3373.
10. Radwanski K, Garraud O, Cognasse F, Hamzeh-Cognasse H, Payrat JM,Min K. The effects of red blood cell preparation method on in vitro markers of red blood cell aging and inflammatory response. Transfusion.2013;53:3128-3138.
11. Thibault L, Beaus´ejour A, de Grandmont MJ, Lemieux R, Leblanc JF. Characterization of blood components prepared from whole-blood donations after a 24-hour hold with the platelet-rich plasma method. Transfusion. 2006;46(8):1292-1299.
12. Zalpuri S, Schonewille H, Middelburg R, et al. Effect of storage of red blood cells on alloimmunization. Transfusion. 2013;53:2795-2800.

13. Desai PC, Deal AM, Pfaff ER, et al. Alloimmunization is associated with older age of transfused red blood cells in sickle cell disease. Am J Hematol. 2015;90:691-695.
14. Hudson, Krystalyn E.[a]; Fasano, Ross M, et all. Mechanisms of alloimmunization in sickle cell disease, Current Opinion in Hematology: November 2019 - Volume 26 - Issue 6 - p 434-441.
15. Evers D, van der Bom J G, Tijmensen J et all. Red cell alloimunisation in patients with different types of infections. Br J Haematol. 2016;175:956-966.
16. Chou ST, Jackson T, Vege S, et al. High prevalence of red blood cell alloimmunization in sickle cell disease despite transfusion from Rh-matched minority donors. Blood 2013;122:1062–71.
17. Thompson AA, Cunningham MJ, Singer ST, et al. Red cell alloimmunization in a diverse population of transfused patients with thalassaemia. Br J Haematol 2011;153:121–8.
18. Hendrickson JE, Tormey CA. Red Blood Cell Antibodies in Hematology/Oncology Patients. Hematol Oncol Clin N Am. 2016;30:635–651.
19. Stiegler G, Sperr W, Lorber C, Fabrizii V, Hocker P, Panzer S. Red cell antibodies in frequently transfused patients with myelodysplastic syndrome. *Ann Hematol* 2001; 80: 330-3.
20. Fluit CR, Kunst VA, Drenthe-Schonk AM. Incidence of red cell antibodies after multiple blood transfusion. *Transfusion* 1990; 30: 532-5.
21. Novaretti MC, Sopelete CR, Velloso ER, Rosa MF, Dorlhiac-Llacer PE, Chamone DA. Immunohematological findings in myelodysplastic syndrome. *Acta Haematol* 2001; 105: 1-6. 5.
22. Sanz C, Nomdedeu M, Belkaid M, Martinez I, Nomdedeu B, Pereira A. Red blood cell alloimmunization in transfused patients with myelodysplastic syndrome or chronic myelomonocytic leukemia. *Transfusion* 2012; 53:710-15.
23. Rozovski U, Ben-Tal O, Kirgner I at all. Increased Incidence of Red Blood Cell Alloantibodies in Myelodysplastic Syndrome. Isr Med Assoc J. 2015; 17: 624–627.
24. Bauer MP, Wiersum-Osselton J, Schipperus M, et al. Clinical predictors of alloimmunization after red blood cell transfusion. Transfusion 2007;47:2066–71.
25. de la Rubia J, Arriaga F, Andreu R, et al. Development of non-ABO RBC alloantibodies in patients undergoing allogeneic HPC transplantation. Is ABO incompatibility a predisposing factor? Transfusion 2001;41:106–10.
26. Rončević P, Ries S, Labar B. Mijelodisplastični sindrom u Labar B i sur. Hematologija 3rd ed. Školska knjiga, 2017:251-256.

27. Gredelj Šimec Nj. Kaić G, Škrtarić A etal. Smjernice za dijagnozu i liječenje bolesnika s mijelodisplastičnim sindromom. Liječ Vjesn 2017;139:1–11.
28. Koutsavlis I. Transfusion Thresholds, Quality of Life, and Current Approaches in Myelodysplastic Syndromes. *Anemia*. 2016;2016:8494738.
29. Germing U, Oliva EN, Hiwase D, Almeida A. Treatment of Anemia in Transfusion-Dependent and Non-Transfusion-Dependent Lower-Risk MDS: Current and Emerging Strategies. *Hemasphere*. 2019;3:e314.
30. Stanworth SJ, Killick S, McQuilten ZK et all. Red cell transfusion in outpatients with myelodysplastic syndromes: a feasibility and exploratory randomised trial. *Br J Haematol*. 2020;189:279-290.
31. Mitchell M, Gore SD, Zeidan AM. Iron chelation therapy in myelodysplastic syndromes: where do we stand?. *Expert Rev Hematol*. 2013;6:397-410.
32. Zeidan AM, Griffiths EA. To chelate or not to chelate in MDS: That is the question!. *Blood Rev*. 2018;32:368-377.
33. Singhal D, Kutyna MM, Chhetri R, et al. Red cell alloimmunizationis associated with development of autoantibodies and increased red cell transfusion requirements in myelodysplastics yndrome. Haematologica 2017; 102:2021–2029.
34. Chhetri R, Li Yan A. Wee, Sinha R at al. Red cell autoimmunization and alloimmunization in myelodysplasticsyndromes: prevalence, characteristic and significance. Haematologica 2019; 104:451-454.
35. Gehrie E, Tormey CA. The influence of clinical and biological factors on transfusion-associated non-ABO antigen alloimmunization: responders, hyper-responders, and nonresponders.Transfus Med Hemother 2014; **41**: 420-9.
36. Bauer MP, Wiersum-Osselton J, Schipperus M, et al. Clinical predictors of alloimmunization after red blood cell transfusion.Transfusion 2007; **47**: 2066-71.
37. Verduin EP, Brand A, Middelburg RA, Schonewille H. Female sex of older patients is an independent risk factor for red blood cell alloimmunization after transfusion. Transfusion 2015; **55**: 1478-85.
38. Gueslin AS, Rodriguez C, Visentainer JEL, etal. Molecularmatching for Rh and K reduces red blood cell alloimmunisation in patients with myelodysplastics yndrome. BloodTransfus 2015; 13:53–58.
39. Baia F, Correia F, Alves B, etal. Phenotyping Rh/Kell andrisk of alloimmunization in haematologicalpatients. Transfus Med 2016; 26:34–38.

40. Lin Y, Saskin A, Wells RA, etal. Prophylactic RhCEand Kell antigen matching: impact on alloimmunization in transfusion-dependent patients with myelodysplasticsyndromes. VoxSang 2017; 112:79–86.
41. Moncharmont P, Quittanc E, Barday G, Benamara A. Adverse transfusion reactions in patients with aplastic anaemia o rmyelodysplastic syndromes. VoxSanguinis 2019; 114: 349–354.
42. Ortiz S, Orero MT, Javier K, et al. Impact of azacitidine on red blood cell alloimmunisation in myelodysplastic syndrome. Blood Transfus. 2017;15:472-477.

10. ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODATCI

Ime i prezime: Ivana Leskovar

Datum i mjesto rođenja: 18. lipnja 1974., Šibenik

OBRAZOVANJE

2018. do 2020. Medicinski fakultet Osijek, Diplomski studij medicinsko laboratorijska dijagnostika

2001. Zdravstveno veleučilište Zagreb, Razlikovni modul – Prvostupnik medicinsko laboratorijske dijagnostike

2000. Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu Zagreb, Osposobljavanje za rad u djelatnosti transfuzijske medicine

1992. - 1995. Viša medicinska škola Medicinskog fakulteta Zagreb, Inženjer medicinsko laboratorijske dijagnostike

1988.-1992. Medicinska škola Šibenik, Zdravstveno laboratorijski tehničar

1980.-1988. Osnovna škola u Šibeniku

ZAPOSLENJE

1995.- Klinički bolnički centar Zagreb, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

2001.- Zdravstveno veleučilište Zagreb, vanjski suradnik – voditelj vježbi iz predmeta Transfuzijska medicina