

# Strategie doboru krwinek czerwonych dla biorców w różnych sytuacjach klinicznych

## Strategies for the red blood cells selection for the recipients in various clinical situations

**Article history:**

Received: 23.03.2019

Accepted: 30.07.2019

Jadwiga Fabijańska-Mitek\*

Zakład Immunohematologii, Centrum Medyczne  
Kształcenia Podyplomowego, Warszawa, Polska**Streszczenie**

Przed transfuzją krwinek czerwonych wykonuje się rutynowe testy immunohematologiczne, dzięki którym przetacza się biorcom serologicznie zgodną krew dawców. Wyzwaniem dla serologów jest dobór koncentratu krwinek czerwonych (KKCz), gdy uodpornieni biorcy mają alloprzeciwciała z powodu wcześniejszych transfuzji lub ciąży albo wytworzą autoprzeciwciała w niedokrwistościach autoimmunohemolitycznych (NAIH). Wyzwaniem dla klinicystów jest pilna, ratująca życie transfuzja bez próby zgodności. Są to przetoczenia nagłe (krwawienie) oraz sytuacje, gdy brak jest krwi o wyjątkowych fenotypach. Ważne jest tworzenie narodowych rejestrów rzadkich dawców krwinek czerwonych i uczestnictwo w rejestrze międzynarodowym oraz przekazywanie informacji o skutkach niezgodnego przetoczenia i leczeniu ograniczającym hemolizę. Inne problemy dotyczą szczególnych grup biorców krwi, czyli: płodów, noworodków, niemowląt i pozostałych dzieci. Różnią się one cechami hematologicznymi i immunologicznymi, więc testy zgodności muszą się też różnić. Skomplikowane są transfuzje po transplantacjach komórek krwiotwórczych i narządów, gdy z powodu immunologicznego chimerizmu dochodzi do hemolizy. Ścisła współpraca między klinicystami i immunohematologami jest konieczna, by zapewnić bezpieczeństwo transfuzji w wymienionych sytuacjach klinicznych opisanych w prezentowanej publikacji.

**Abstract**

Before the transfusion of red blood cells (RBCs), routine immunohaematological tests are carried out, and recipients receive serologically compatible blood from donors. The challenge for serologists is the selection of RBCs when immunized recipients have alloantibodies because of recent transfusions or pregnancies and autoantibodies in autoimmunohaemolytic anaemias (AIHAs). The challenge for clinicians is life-saving transfusion without compatibility testing. This are transfusions in an emergency (bleeding) and in situations when there is no blood with unique phenotype. It is important to create national register of rare blood donors and participate in International Rare Donor Panel, as well as to send information about outcome of incompatible transfusion with therapy limiting haemolysis. Other problems concern specific groups of blood recipients, i.e. fetuses, newborns, infants and other children. Their haematological and immunological features are different, and compatibility tests must be also different. Transfusions after transplantation of haematopoietic stem cells or organs are complicated when the recipient develops immunological haemolysis because of immunological chimerism. Close cooperation between clinicians and immunohaematologists is necessary to ensure transfusion safety in clinical situations discussed in the presented publication.

© 2019 Polish Society of Hematology and Transfusion Medicine, Insitute of Hematology and Transfusion Medicine. Published by Sciendo. All rights reserved.

**Słowa kluczowe:**

niezgodna krew, panel rzadkich dawców, transfuzja wewnątrzmaciczna, transfuzje w neonatologii i pediatrii, krwinki czerwone dla biorców przeszczepów

**Keywords:**

incompatible blood, Rare Donor Panel, intrauterine transfusion, transfusions in neonatology and pediatrics, RBCs for transplant recipients

## Wstęp

Zakres badań serologicznych poprzedzających przetoczenie krwinek czerwonych jest ściśle określony w przepisach obowiązujących jednostki organizacyjne publicznej służby krwi oraz podmioty lecznicze [1]. Podobne ogólne zasady obowiązują we wszystkich krajach i są opisane w wiodących światowych podręcznikach [2-4] oraz w różnych przepisach [5, 6]. Transfuzję poprzedza oznaczenie grupy krwi w układzie ABO i antygeny RhD oraz próba zgodności serologicznej,

podczas której grupa krwi zostaje zweryfikowana, a w osoczu/surowicy biorcy poszukuje się potencjalnych, nieregularnych przeciwciał (wszystkie poza anty-A i anty-B) skierowanych do krwinek wzorcowych (od wyselekcjonowanych dawców, tzw. badanie przeglądowe) oraz do konkretnych jednostek koncentratu krwinek czerwonych (KKCz), które mają być przetoczone (próba krzyżowa). Jeżeli grupa krwi zostanie potwierdzona, a wynik badania przeglądowego i próby krzyżowej jest ujemny, to jednostkę KKCz można przetoczyć [7, 8]. W niektórych krajach, po spełnieniu wysokich standardów

\* Corresponding author: Jadwiga Fabijańska-Mitek, Zakład Immunohematologii CMKP, ul. Marymoncka 99/103, 01-813 Warszawa, tel.: 22 5693820, e-mail: jagodafrm@poczta.onet.pl

laboratoryjnych (automatyzacja) i informatycznych, nie wykonuje się próby krzyżowej. Pozostają pierwsze 2 punkty próby zgodności, którą nazywa się wówczas *Type and Screen*, czyli oznaczenie grupy i przegląd przeciwciał. Warto dążyć do tego modelu, który jest tańszy i efektywniejszy (bez strat jednostek KKCz przewożonych do skrzyżowania).

Ze względu na małe różnice przeciwstawnych alleli i antygenów w obrębie układów grupowych (np. K i k z układu Kell, Jk<sup>a</sup> i Jk<sup>b</sup> z układu Kidd, Fy<sup>a</sup> i Fy<sup>b</sup> z układu Duffy itd.), zazwyczaj dotyczących pojedynczych aminokwasów w łańcuchu białkowym, tylko 2-3% wielokrotnych biorców krwi ulega uodpornieniu. Zdarzają się jednak sytuacje odmienne, np. gdy biorcą jest tzw. *responder* (odpowiadacz), który ma zwiększone predyspozycje do uodpornienia. Mogą to być cechy wrodzone, zależne od cech układu HLA lub związane z chorobami, m.in. z przewlekłym stanem zapalnym lub innymi przyczynami aktywacji układu odpornościowego czy zaburzeń jego równowagi [9, 10]. Na przykład chorzy na NAIH bez odpowiedniej profilaktyki dziesięciokrotnie częściej od innych biorców (w ok. 30% przypadków) wytwarzają alloprzeciwciała skierowane przeciwko krwinkom czerwonym [8].

## Obecność alloprzeciwciał

Jeżeli podczas wykonywania badania przeglądowego w próbie zgodności serologicznej wystąpi aglutynacja krwinek wzorcowych, wykonuje się autokontrolę (reakcja autologicznej surowicy i krwinek biorcy). Jeżeli wynik autokontroli jest ujemny, podejrzewa się obecność nieregularnych przeciwciał, identyfikuje się ich swoistość i ocenia znaczenie kliniczne. Jeżeli są to istotne, odpowiedzialne za hemolizę alloprzeciwciała odpornościowe, to do bieżącego przetoczenia oraz zawsze w przyszłości, nawet gdyby przeciwciała przestały być wykrywalne, dobiera się KKCz bez odpowiadającego im antygeny. Pacjent powinien być dokładnie poinformowany o znaczeniu tego zalecenia i musi być ono bezwzględnie przestrzegane. Dodatkowo, biorąc pod uwagę prawdopodobieństwo predyspozycji pacjenta do wytwarzania alloprzeciwciał o kolejnych swoistościach, zaleca się profilaktycznie dobierać KKCz zgodny w zakresie najbardziej immunogennych antygenów: C, c, E, e z układu Rh i antygeny K z układu Kell. Warunek ten nie powinien być traktowany bezwzględnie i nie może powodować zaniechania lub opóźnienia koniecznej transfuzji [7, 8].

## Obecność autoprzeciwciał

Jeżeli podczas wykonywania próby zgodności serologicznej wystąpi aglutynacja krwinek wzorcowych z surowicą/osoczem biorcy i dodatkowo autokontrola oraz bezpośredni test antyglobulinowy (BTA) są dodatnie, to podejrzewa się obecność autoprzeciwciał na krwinkach i/lub składników C3 dopełniacza. Mogą to być autoprzeciwciała typu ciepłego klasy IgG, zimne aglutyniny, zimne dwufazowe hemolizyny lub autoprzeciwciała mieszane. Ciepłe autoprzeciwciała klasy IgG najsilniej wiążą się z antygenami krwinek czerwonych w 37°C i powodują hemolizę pozanaczyniową z udziałem makrofagów śledziony oraz wątroby. Zimne autoprzeciwciała klasy IgM bezpośrednio aglutynują krwinki czerwone, a zimne IgG są

hemolizynami i oba rodzaje najsilniej reagują w laboratorium w temperaturze od 0°C do 4°C. Zimne autoprzeciwciała są patogenne, gdy mają poszerzoną amplitudę cieplną reakcji co najmniej do 26-28°C, najczęściej > 30°C. Prowadzą do hemolizy wewnątrznaczyniowej z udziałem układu dopełniacza. U pacjentów z NAIH typu ciepłego i zimnymi aglutyninami w pobranej próbce krwi wykonuje się adsorpcję autoprzeciwciał z osocza, gdyż maskują one obecność ewentualnych alloprzeciwciał [7, 8]. Badanie to poprzedza próbę zgodności serologicznej. Wykonuje się je zazwyczaj w pracowni konsultacyjnej Regionalnego Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa (RCKiK) lub Instytutu Hematologii i Transfuzjologii (IHIT). Jest ono skomplikowane oraz czasochłonne. Jeśli wykryje się i zidentyfikuje alloprzeciwciała, to bezwzględnie dobiera się KKCz bez odpowiedniego antygeny. Dodatkowo w NAIH dobiera się jednostki KKCz zgodne fenotypowo w układzie Rh i antygenie K z układu Kell. Wynik powinien zawierać informację, że krew jest serologicznie niezgodna ze względu na obecność autoprzeciwciał, że wykryto alloprzeciwciała, lub że ich nie wykryto, oraz że krwinki są odpowiednio dobrane i fenotypowo zgodne, a także, że krew można przetoczyć.

## Pilne przetoczenia KKCz bez próby zgodności serologicznej i serologicznie niezgodnych

Inna nietypowa sytuacja to brak czasu na wykonanie próby zgodności i konieczność pilnego przetoczenia krwi. W przypadku zagrożenia życia transfuzja KKCz może być konieczna przed skompletowaniem wymaganych badań serologicznych [5, 11]. W takich sytuacjach klinicyści bierze pełną odpowiedzialność za decyzję o transfuzji, która niesie ryzyko hemolitycznej reakcji poprzetoczeniowej. Telefonuje do banku krwi z prośbą o odpowiednią jednostkę KKCz i jednocześnie wysyła pisemne zapotrzebowanie oraz próbki krwi do badań [1, 7]. Ryzyko jest większe w przypadku kobiet, które w przeszłości były w ciąży oraz wielokrotnych biorców krwi.

Podstawą do przetoczenia krwinek czerwonych bez próby zgodności lub serologicznie niezgodnych są następujące przesłanki: 1) transfuzja ratująca życie musi się odbyć w czasie krótszym niż 30 minut, a wykonanie próby zgodności zajmuje 30-60 minut; 2) identyfikacja przeciwciał zajmuje kilka godzin, a czasem próbki muszą być wysłane do referencyjnego laboratorium; 3) zidentyfikowane przeciwciała mogą mieć 2 lub więcej swoistości lub mogą być skierowane do antygeny powszechnego, a w związku z tym poszukiwanie zgodnego fenotypowo dawcy wymaga dużo czasu. Dodatkową przesłanką do wykonania koniecznego przetoczenia jednostki KKCz niezgodnej serologicznie jest fakt, że przeciwciała uznawane za klinicznie istotne mogą czasem nie dawać objawów niszczenia krwinek czerwonych, a dodatkowo objawy te można zmniejszyć poprzez przewidywanie ryzyka i odpowiednie postępowanie kliniczne [6].

Stosuje się następujące zasady postępowania w sytuacjach nagłych i przy doborze serologicznie niezgodnych krwinek czerwonych:

1. Przetacza się krew zgodną w ABO lub O, gdy grupa krwi jest nieznaną. Zgodność krwinek czerwonych w ABO i RhD nie może wynikać z dawnej dokumentacji, ale musi być potwierdzona oznaczeniem w bieżącej próbce krwi, co zajmuje ok. 10 minut. W czasie rozpoczęcia transfuzji wykonuje się próbę zgodności serologicznej.

2. Przetacza się krew zgodną w RhD lub RhD ujemną, szczególnie kobietom do 50. roku życia, gdy antygen D jest nieznany. Krew O RhD ujemną przetacza się, gdy próbka krwi pacjenta nie może być natychmiast dostarczona. Bank krwi jest zawiadomiony telefonicznie, jednostka KKCz zostaje wydana na podstawie pisemnego zwołania, a próbka krwi zostaje pobrana przed przetoczeniem i natychmiast wysłana do pracowni serologicznej w celu wykonania oznaczenia grupy krwi i wykonania próby zgodności.
3. Unika się jednostek KKCz z antygenami reagującymi z przeciwciałami biorcy w PTA w 37°C lub wybiera się krwinki dawcy najslabiej reagujące, gdyż jest większe prawdopodobieństwo, że silna reakcja *in vitro* spowoduje silną reakcję *in vivo*. Ponieważ jest mało informacji o klinicznym znaczeniu przeciwciał niektórych swoistości, dlatego wybór najmniej niezgodnych (najslabiej reagujących) krwinek jest odpowiedni.
4. Gdy alloprzeciwciała odpornościowe są zidentyfikowane i nie można dobrać krwi antygenowo ujemnej w stosunku do ich swoistości, to wybiera się krew heterozygotyczną w zakresie antygeny.
5. Jeżeli jest czas, a zgodna krew jest niedostępna, można wykonać test erytrofagocytozy. Izoluje się monocyty (komórki mononuklearne) z próbki krwi biorcy, opłuszcza się jego przeciwciałami krwinki czerwone kilku dawców i ocenia ich fagocytozę przez monocyty w teście mikroskopowym (*monocyte monoleyer assay* – MMA) lub za pomocą cytometru przepływowego. Wybiera się do transfuzji krwinki najslabiej fagocytowane przez mononukleary biorcy, uznając, że tak samo słaba będzie reakcja makrofagów śledziony i hemoliza pozanaczyniowa po przetoczeniu krwinek czerwonych wytypowanego dawcy.

Decyzje o przetoczeniu KKCz pacjentom, dla których nie można szybko lub w ogóle dobrać zgodnej krwi są bardzo trudne. Zawsze są indywidualne i nie da się napisać szczegółowej procedury ogólnego postępowania. Należy wnikliwie rozważyć korzyści wynikające z niezgodnego przetoczenia w stosunku do ryzyka możliwych powikłań. Ważne są informacje na temat potencjalnych reakcji przeciwciał o danej swoistości, jednak w przypadku przeciwciał skierowanych przeciwko powszechnemu antygenowi, znanych jako mało aktywne, czasem trudno wykluczyć inne ich zachowanie lub jednoczesną, maskowaną obecność dodatkowych przeciwciał wywołujących nasiloną hemolizę. Pomocne są dostępne informacje o ocenie ryzyka reakcji przeciwciał poszczególnych swoistości, które można znaleźć w odpowiedniej literaturze immunohematologicznej i w przepisach [7, 11, 12].

Informacje o skutkach niezgodnych przetoczeń powinny być ściśle rejestrowane w kraju i w postaci rocznego podsumowania przekazywane do ISBT. Chodzi o to, by zbierać doświadczenia na temat skutków transfuzji niezgodnej krwi i warunków, w jakich została przeprowadzona. Pacjenta należy obserwować podczas przetoczenia oraz przez kolejne godziny i dni po transfuzji, by zarejestrować ewentualną wczesną lub opóźnioną reakcję hemolityczną. Na stronie internetowej ISBT ([www.isbtweb.org](http://www.isbtweb.org)) w zakładce *Rare Donors (Documents)* jest gotowy formularz, który trzeba wypełnić [*Outcome of Incompatible Transfusion: Case*

*Study Report (Rare blood not available)*]. Jego poszczególne rubryki wskazują, jakie badania laboratoryjne należy wykonywać i jakie dane kliniczne brać pod uwagę. Mogą być one pomocne dla wszystkich transfuzjologów i innych lekarzy, gdy znajdą się w sytuacji koniecznego przetoczenia niezgodnej jednostki KKCz. W przypadku podania krwinek czerwonych niezgodnych, po wybraniu najslabiej reagujących i heterozygotycznych, dla zmniejszenia hemolizy podaje się kortykosteroidy i dożylnie immunoglobuliny (IVIG) blokujące wytwarzanie przeciwciał [13]. Zaleca się też podanie leku ekulizumab, szczególnie po przetoczeniu krwi niezgodnej w ABO lub gdy wystąpi hemoliza wewnątrznaczyniowa [14]. Jest to przeciwciało monoklonalne, które wiąże się ze składnikiem C5 dopełniacza i uniemożliwia jego rozkład na C5a i C5b. Wiadomo, że hemoliza wewnątrznaczyniowa zależy od tworzenia się na krwinkach tzw. kompleksu ataku na błonę C5b-C9 (*Membrane Attack Complex* – MAC), „dziurawienia” jej i uwalniania hemoglobiny. Jednocześnie powstający składnik C5a powoduje uwalnianie cytokin z monocytów oraz zmiany oksydacyjne w monocytach i neutrofilach, prowadzące do wyrzutu histaminy i reakcji anafilaktycznej. Ekulizumab blokuje takie dramatyczne skutki przetoczenia niezgodnej krwi, ale powinien być podany najszybciej, jak to jest możliwe. Jego działanie może być przedłużane przez kilka tygodni, podczas których krwinki pozostają w krążeniu i pełnią swoje funkcje. Trzeba brać pod uwagę możliwe niepożądane skutki powyższych działań leczniczych. W przypadku IVIG wyjątkowo może zdarzyć się dodatkowa reakcja hemolityczna, bowiem immunoglobuliny są produkowane z pulowanego osocza i zawierają alloprzeciwciała z układu ABO, a nawet przeciwciała odpornościowe. Ekulizumab, zmniejszając działanie układu dopełniacza, może zwiększać ryzyko zakażeń, w tym *Neisseria meningitidis*, i dlatego czasem rozważa się profilaktyczną antybiotykoterapię. W ok. 20 krajach z 3 kontynentów, w których prowadzi się ewidencję niezgodnych transfuzji w ciągu 3 lat odnotowano od 1 do 9 przypadków planowanych przetoczeń niezgodnych KKCz. W większości z tych krajów takich transfuzji było 0 lub 1.

## Rejestry rzadkich dawców krwinek czerwonych

Aby móc dobrać krwinki czerwone o wyjątkowych fenotypach, konieczne jest tworzenie rejestrów rzadkich dawców w poszczególnych krajach oraz uczestniczenie w rejestrze międzynarodowym [15-17]. Idea stworzenia rejestru powstała w Zjednoczonym Królestwie w latach 60. W 1968 r. pierwszy raz rozesłano Międzynarodowy Panel Rzadkich Dawców (*International Rare Donor Panel* – IRDP) do uczestników programu tworzenia panelu. Składał się on z 300 dawców pochodzących z 10 krajów. Obecnie obejmuje ponad 8000 dawców z 27 krajów. Współpraca międzynarodowa jest konieczna, ponieważ niektóre antygeny występują z różną częstością w poszczególnych krajach oraz regionach świata. Na przykład fenotyp Vel- występuje częściej w Szwecji (1/1700 dawców) niż w innych krajach (1/4000 dawców). U Finów, podobnie jak u Polinezyjczyków oraz Japończyków, występuje fenotyp Jk(a-b-), w Afryce są osoby U- i Js(b-), Fy(a-b-), a w Azji oraz Ameryce Południowej Di(b-) itd. Bardzo częsty w rasie kaukaskiej fenotyp RhD ujemny (15-18%), w Azji Wschodniej jest bardzo rzadki

(1%). Są też fenotypy jednakowo rzadkie we wszystkich krajach, np.  $Rh_{null}$  i  $K_o$ .

Nie ma ściśle określonych reguł tworzenia rejestrów narodowych. Ważne, by przede wszystkim zaspokajały potrzeby danego kraju. W jednych rejestrach częstość występowania określonego fenotypu 1/100 jest uznawana za rzadką, w innych jest to 1/5000. Niektórzy uwzględniają wyłącznie dawców bez antygeny powszechnego, inni także dawców bez jednocześnie nieobecnych kilku dosyć częstych antygenów. W danym kraju może być zorganizowane jedno narodowe referencyjne laboratorium do typowania rzadkich dawców lub kilka takich laboratoriów. Prowadzi się w nich badania fenotypowe, genotypowe i rodzinne. Możliwość wykonywania testów genetycznych jest bezwzględnie konieczna. Dodatkowo genotypowaniem można objąć duże grupy dawców i znaleźć rzadkie fenotypy wśród osób, które nie wytworzyły alloprzeciwciał i nie wiedzą, że są dawcami wyjątkowymi i poszukiwanymi. Niestety, badania genetyczne też mają ograniczenia i czasem są niejednoznaczne, gdyż za ten sam fenotyp, w różnych częściach świata, mogą odpowiadać różne polimorfizmy nukleotydów. Ważny jest fakt, że badania na poziomie DNA są z roku na rok coraz tańsze i powinny być upowszechnione. W każdym przypadku wykrycia rzadkiego dawcy krwi przeprowadza się szerokie badania rodzinne, gdyż krewni zazwyczaj powiększają listę rejestru.

Zarejestrowani dawcy oddają jednostki KKCz do zamrożenia oraz deklarują gotowość do oddania krwi na wezwanie. Świeża jednostka KKCz jest gotowa do przetoczenia zazwyczaj po 1-2 dobach, gdy zostaną wykonane wszystkie wymagane badania. Zamrożona krew jest też dostępna, jednak w zależności od miejsca pobytu biorcy jej dostarczenie może być trudnym przedsięwzięciem logistycznym. W zależności od procedur rozmrażania przetoczenie musi odbyć się w ciągu 24 godzin lub do 7 dni. Krwinki pozostają zamrożone przez 10 lat lub dłużej. W różnych krajach są różne regulacje dotyczące ich przechowywania. Na przykład Narodowy Instytut Przetaczania Krwi we Francji przedstawił własne ważne w tym względzie doświadczenia, które prowadził od 1980 r. do 2009 r. [16]. W tym kraju za rzadki uznaje się fenotyp występujący u mniej niż 4 osób na 1000 (mniej niż 1 na 250). Krwinki były mrożone metodą Cohna z użyciem glicerolu i przechowywane w temperaturze od  $-65^{\circ}\text{C}$  do  $-90^{\circ}\text{C}$ . Bank przechowywał ponad 5500 jednostek KKCz od ponad 1600 dawców i wydawał do przetoczenia rocznie ok. 140-160 jednostek. Zgodnie z zaleceniami Technical Manual AABB, obowiązującymi w Ameryce Północnej, również we Francji uznawano za odpowiedni 10-letni okres przydatności mrożonych krwinek, mimo że nie było europejskich rekomendacji dotyczących tego okresu. W latach 1994-2007 przetoczono 118 (6%) jednostek przechowywanych dłużej niż 10 lat, w tym 8 (0,4%) przechowywanych od 20 do 24 lat. Wszystkie transfuzje były bardzo uważnie monitorowane. Przyniosły oczekiwane korzyści pacjentom i nie stwierdzono negatywnych konsekwencji. Te informacje warto byłoby brać pod uwagę, tworząc bank rzadkich krwinek w Polsce, pamiętając o metodach mrożenia i rozmrażania jednostek KKCz oraz wykonywania odpowiednich badań krwi u pacjentów. Ustalenie ostatecznego terminu przydatności pozostaje sprawą otwartą, gdyż chodzi zarówno o jakość krwinek, jak i o zmieniające się wymagania dotyczące czynników zakaźnych przenoszonych przez krew.

Problemy rzadkich dawców krwi omawia się na roboczych spotkaniach ISBT, którym patronuje Światowa Organizacja Zdrowia – WHO. Przedstawiciele krajów uczestniczących prezentują swoje możliwości oraz potrzeby w zakresie rejestru rzadkich dawców. Wypełniają odpowiednie formularze, w których informują o definicji rzadkiego dawcy w swoim kraju (częstość występowania: 1/100, 1/250, 1/1000 itp.), o bieżącej liczbie aktywnych rzadkich dawców, o nowych dawcach w ostatnich np. 3 latach, o liczbie zamrożonych jednostek KKCz, liczbie wydanych jednostek w danych latach, ale także o liczbie transfuzji niezgodnego KKCz. Podają fenotypy, które w danym kraju najtrudniej uzyskać. Przykład IRDP w postaci tabeli opublikowano np. w *Vox Sanguinis* oraz zacytowano w polskiej publikacji [8, 15].

## Przetaczanie krwinek czerwonych płodom, noworodkom i pozostałym dzieciom

Szczególnym wyzwaniem są transfuzje stosowane w perinatologii, neonatologii i pediatrii [18]. Przetaczanie krwi pacjentom, którzy nie są osobami dorosłymi jest zależne nie tylko od stanu klinicznego, ale jest bardzo zróżnicowane ze względu na odmienne parametry hematologiczne, biochemiczne i immunologiczne w poszczególnych okresach rozwojowych człowieka. W związku z tym konieczne jest inne podejście do przetaczania krwi płodom, noworodkom, niemowlętom, młodszym i starszym dzieciom. W latach 2009-2015 przeprowadzono badania obejmujące przetaczanie KKCz, KKP i osocza w 7 specjalizacjach medycznych, aby opracować optymalne strategie postępowania dla perinatologii, neonatologii i pediatrii. W przypadku przetaczania krwinek czerwonych oceniano efekty liberalnego (stężenie Hb  $< 10$  g/dl) vs konserwatywnego (stężenie Hb  $< 7$  g/dl) przetaczania KKCz wcześniakom, noworodkom urodzonym w terminie oraz dzieciom o krytycznie niskiej wadze urodzeniowej. Brano też pod uwagę skutki przetaczania świeżych i przechowywanych jednostek KKCz. Badania były randomizowane, wieloośrodkowe, a prowadzono je w USA, Kanadzie i Europie [19, 20].

## Transfuzje dopłodowe

Transfuzja dopłodowa jest procedurą inwazyjną obciążoną ryzykiem śmierci w 1-3% zabiegów i może dotyczyć nawet 20% w przypadku płodów z obrzękiem. Przetoczenia przeprowadza się w wysoko specjalistycznych ośrodkach. Są różnice między specjalistami wskazującymi hematokryt (Ht), przy którym powinno się wykonać transfuzję dopłodową. Może to być Ht  $< 0,25$  między 18. a 26. tygodniem ciąży i  $< 0,3$  po 26. tygodniu. Planowany docelowy Ht to 0,45. Procedura powinna być wprowadzona najpóźniej jak to jest możliwe, a liczba przetoczeń powinna być maksymalnie ograniczona [21, 22].

Zazwyczaj przyczyną koniecznych transfuzji jest choroba hemolityczna płodu i noworodka (ChHPN), ale też niedokrwistość innego pochodzenia jak zakażenie parwowirusem B19, wrodzona niedokrwistość hemolityczna, skrwawienie płodu. W ChHPN procedurę powtarza się zazwyczaj co 2-3 tygodnie, kontrolując parametry morfologiczne za pomocą ultrasonograficznej oceny

przepływu krwi w tętnicy środkowej mózgu metodą Dopplera. Przeważnie transfuzje stosuje się do 36. tygodnia i rozwiązuje się ciążę między 37. a 38. tygodniem, przygotowując odpowiednią krew do transfuzji po porodzie. Płodowi najlepiej przetaczać krew pobraną na CPD (istnieje teoretyczne ryzyko toksyczności płynów wzbogacających), o Ht 75-85%, przebadaną na obecność wirusów przenoszonych przez krew, pozbawioną leukocytów, czyli poddaną filtracji, CMV ujemną, przechowywaną najdłużej do 5 dni od pobrania (w celu unikania hiperkaliemii, zagrażającej życiu płodu), napromieniowaną (w celu profilaktyki potransfuzyjnej śmiertelnej choroby przeszczep przeciw gospodarzowi (*Transfusion Associated Graft versus Host Disease* – TAGvHD)). Pod względem serologicznym zazwyczaj przygotowuje się krwinki czerwone grupy O RhD ujemne i K ujemne oraz ujemne w stosunku do przeciwciał, które wytworzyła matka. Dobiera się też krwinki czerwone fenotypowo zgodne z matką w innych układach grupowych, by chronić ją przed wytworzeniem przeciwciał o dodatkowych swoistościach w zakresie klinicznie istotnych antygenów. Próba zgodności jest wykonywana z użyciem surowicy/osocza matki jako biorcy. Matka może też być dawczynią krwinek czerwonych, szczególnie w sytuacji, gdy dobór zgodnego dawcy jest bardzo trudny lub niemożliwy, np. gdy wytworzyła alloprzeciwciała przeciwko antygenowi powszechnemu lub przeciwciała o kilku swoistościach. Takie krwinki muszą być całkowicie pozbawione osocza, czyli przeciwciał matki, które są przyczyną ChHPN. Przemycza się je i zawiesza w osoczu obojętnym (grupy AB) lub w roztworze albuminy. Po rozwiązaniu ciąży kontynuuje się transfuzję zgodnie z doborem prowadzonym w ciąży [18, 22-24].

### Przetaczanie krwinek czerwonych noworodkom i niemowlętom do 4. miesiąca życia

Dzieci do 4. miesiąca życia mają bardzo małą objętość krwi, dlatego ocena niedokrwistości i decyzje o transfuzji wymagają specjalnej uwagi. Dotyczy to szczególnie dzieci o niskiej (< 1500 g) i ekstremalnie niskiej (< 1000 g) urodzeniowej masie ciała. Średnie stężenie Hb u zdrowych noworodków wynosi  $16,9 \pm 1,6$  g/dl, a u wcześniaków  $15,9 \pm 2,4$  g/dl. Podczas pierwszych tygodni życia stężenie obniża się i jest to niedokrwistość fizjologiczna, która jest dobrze tolerowana przez donoszone noworodki o prawidłowej masie ciała, ale może być patologiczna, zagrażająca życiu dla wcześniaków. Między 4. a 8. tygodniem stężenie Hb może wynosić 8,0 g/dl przy wadze 1000-1500 g/dl i nawet 7,0 g/dl poniżej 1000 g w chwili urodzenia. Niska masa urodzeniowa, przebywanie w oddziałach intensywnej opieki i częste pobieranie krwi do badań diagnostycznych są przyczynami koniecznych transfuzji. Nadal istnieją kontrowersje dotyczące liberalnej vs restrykcyjnej polityki przetaczania krwi. W latach 2008-2017 w kilku ośrodkach neonatologicznych w Holandii przeprowadzono badania, w których oceniono liczbę przetoczeń przypadających na noworodka oraz chorobowość i śmiertelność podczas pobytu na oddziale. Stwierdzono, że przy restrykcyjnym podejściu liczba transfuzji na noworodka spadła z 2,53 do 2,20 i jednocześnie nie odnotowano wpływu na chorobowość i śmiertelność na oddziale [19]. Nie wiadomo, czy takie podejście może mieć wpływ na odległe skutki, np. neurologiczne.

Coraz rzadziej przeprowadza się noworodkom transfuzje wymienne, ponieważ stosuje się immunoprofilaktykę ChHPN w zakresie RhD (podawanie IgG anti-RhD) nie tylko po porodzie, ale i w ciąży, bardziej efektywnie niż dawniej monitoruje się ciążę i w razie potrzeby przetacza krew płodowi. U noworodków ściśle kontroluje się stężenie bilirubiny i Hb. Poziom bilirubiny odpowiedzialny za *kernicterus* (uszkodzenie mózgu przez wolną bilirubinę) jest kluczowy w podjęciu decyzji o transfuzji wymiennej. Podwójna transfuzja wymienna (160-200 ml/kg) usuwa 70-90% krwinek oraz 50% bilirubiny. Krew dobiera się podobnie jak do transfuzji dopłodowej (poza profilaktyką dla matki). Przetacza się świeże krwinki czerwone (do 5 dni), filtrowane, CMV ujemne, napromieniowane i ogrzane do 37°C, zazwyczaj grupy O, z niskim mianem przeciwciał, RhD ujemne lub RhD identyczne z noworodkiem i Kell ujemne oraz ujemne pod względem antygeny, do którego matka wytworzyła alloprzeciwciała, zgodne z jej osoczem w próbie zgodności.

Dużą objętość krwinek czerwonych (ok. 80 ml/kg, ekwiwalent jednej objętości krążącej) przetacza się podczas kardiologicznych operacji noworodków. Zasady są podobne jak poprzednio, przede wszystkim krwinki muszą być świeże (do 5 dni przechowywania) ze względu na niebezpieczeństwo podwyższonego stężenia potasu na pracę serca. Noworodki, które były leczone krwią w życiu płodowym zazwyczaj otrzymują transfuzję uzupełniającą. W leczeniu noworodków i niemowląt istotne jest stosowanie krwinek tego samego dawcy. Pobraną jednostkę dzieli się na małe jednostki pediatryczne o Ht 0,5-0,7. Stwierdzono, że dopuszczalny jest okres ich przechowywania do 35 dni. Zazwyczaj grupa krwi jest O lub zgodna z matką i dzieckiem, w praktyce często RhD ujemna. Zazwyczaj przetacza się 10-20 ml/kg w tempie 5 ml/kg/godz. Nie zaleca się większej objętości ze względu na niebezpieczeństwo przeładowania krążenia [20, 22-24].

Płodowi, noworodkom i niemowlętom do 4. miesiąca życia wykonuje się próbę serologiczną krwinek dawcy z surowicą/osoczem matki, ponieważ u dziecka mogą być wyłącznie jej przeciwciała. Jeżeli przetoczenia są konieczne z innych powodów niż ChHPN i w badaniu po urodzeniu BTA dziecka był ujemny, a u matki nie wykryto alloprzeciwciał odpornościowych, to po pierwszym badaniu serologicznym kolejne nie są potrzebne. Przetacza się krew zazwyczaj grupy O, gdyż w krążeniu dziecka mogą być przeciwciała klasy IgG anti-A lub anti-B matki. Może być też użyta krew dawcy o grupie zgodnej z matką i dzieckiem, gdy u obojga jest ona taka sama.

### Przetaczanie krwinek czerwonych niemowlętom powyżej 4. miesiąca życia i pozostałym dzieciom

Dzieci różnią się od dorosłych ogólną objętością krwi oraz mniejszą możliwością kompensowania jej utraty, stężeniem Hb i wartością Ht. Spadek masy krwinek czerwonych i zagrożenie niedotlenieniem tkanek wiąże się w tej grupie pacjentów z zabiegami chirurgicznymi, niedokrwistością w przebiegu przewlekłych chorób zapalnych oraz rozrostowych chorób hematologicznych. U wszystkich przeprowadza się próbę zgodności serologicznej zgodnie z przyjętymi zasadami dla osób dorosłych. U dzieci z NAIH, częściej niż u osób dorosłych, hemoliza krwinek czerwonych może mieć gwałtowny przebieg i konieczne jest wówczas przetoczenie KKCz. Stosuje się badania serologiczne opisane wcześniej dla dorosłych chorych na NAIH.

Ogólnie w praktyce transfuzjologicznej unika się przemywania KKCz, bowiem procedura pogarsza ich kondycję. Jednak u dzieci bardzo rzadko, ale częściej niż u osób dorosłych, należy ją zastosować. W ten sposób można zmniejszyć ryzyko poważnej reakcji alergicznej na białka osocza, usunąć antykoagulanty zawarte w płynie konserwującym, usunąć potas pochodzący z krwinek czerwonych, a przede wszystkim matczyne przeciwciała, jeśli nikt oprócz matki nie może być dawcą krwi dla danego dziecka [18, 23, 24].

## **Przetaczanie krwinek czerwonych po transplantacjach komórek krwiotwórczych i narządów**

Po doborze dawcy i biorcy macierzystych komórek krwiotwórczych w układzie HLA, nie ogranicza się transplantacji ze względu na niezgodność w antygenach i przeciwciałach krwinek czerwonych, nawet jeśli mogą stać się przyczyną powikłania hemolitycznego. Mogą je spowodować naturalne regularne alloprzeciwciała anti-A i anti-B lub alloprzeciwciała odpornościowe. O niezgodności dużej mówi się wówczas, gdy przeciwciała biorcy są skierowane przeciwko antygenom dawcy, o niezgodności małej, gdy przeciwciała dawcy są skierowane przeciwko antygenom biorcy. W okresie potransplantacyjnym skutki małej niezgodności występują znacznie wcześniej niż dużej. Jeżeli tzw. „pasażerskie limfocyty”, czyli limfocyty dawcy zdolne do wytwarzania określonych alloprzeciwciał, zostaną przeniesione z przeszczepem do organizmu biorcy, to rozpoznając obce antygeny będą się one namnażać, przekształcać w plazmocyty i uwalniać alloprzeciwciała. Hemoliza ujawnia się wówczas między 5. a 20. dniem po przeszczepieniu. Kończy się wtedy, gdy wszystkie krwinki czerwone pochodzą z przeszczepionych komórek krwiotwórczych i nie posiadają antygeny obecnego wcześniej u biorcy. W dużej niezgodności przeciwciała biorcy reagują z krwinkami czerwonymi wytwarzanymi przez nowy szpik pochodzący od dawcy. Objawy hemolizy uwidaczniają się po 1-3 miesiącach od transplantacji i kończą wtedy, gdy przeciwciała biorcy zanikną w związku z czasem ich połowicznego rozpadu oraz nie będzie mieszanego chimeryzmu w układzie krwiotwórczym.

Przetaczanie składników krwi w obu niezgodnościach zależy od okresu po transplantacji i od wyników badań serologicznych. Ogólnie, zawsze należy stosować taki dobór KKCz i osocza, aby unikać reakcji antygen-przeciwciała. W małej niezgodności przetacza się krwinki o grupie krwi dawcy zawieszono w osoczu obojętnym, czyli grupy AB albo w roztworze albuminy lub w płynie konserwującym dla krwinek czerwonych. W dużej niezgodności krwinki czerwone muszą mieć grupę krwi biorcy, a w środowisku nie może być przeciwciał. Dokładne postępowanie jest opisane w bieżących polskich przepisach i publikacjach [1, 7, 8, 25].

Zasady obowiązujące podczas doboru do transplantacji narządów w zakresie układów grupowych są inne niż w przypadku komórek krwiotwórczych. Ze względu na obecność w tkankach antygenów A i B nie przeszczepia się narządu, z którym mogą zareagować przeciwciała biorcy, który mogą uszkodzić i odrzucić. Biorcy z grupą O, czyli z przeciwciałami anti-A i anti-B nie przeszczepia się narządu innego niż od dawcy O. W przypadku pacjentów z grupami A, B i AB najlepiej przeszczepiać narząd z identyczną grupą, ale za

zgodny uważa się też narząd od dawcy z grupą O, a w przypadku biorcy AB również z grupą A lub B. Narząd zgodny, ale nie identyczny otrzymuje ponad połowa biorców. W takich przypadkach może dojść do powikłania hemolitycznego odpowiadającego opisanej wcześniej małej niezgodności.

Jeżeli z narządem zostaną przeniesione „pasażerskie limfocyty” „zaprogramowane” na wytwarzanie określonych przeciwciał w zakresie ABO lub innych swoistości, to zareagują one z antygenami na krwinkach czerwonych biorcy i skutkiem może być hemoliza. Im więcej jest w narządzie tkanki limfoidalnej, tym większe ryzyko przeniesienia limfocytów (płuco > wątroba > nerka). W odróżnieniu od transplantacji komórek krwiotwórczych, w przypadku przeszczepienia narządu krwinki czerwone biorcy nie zmieniają się na inne i ciągle będą miały odpowiedni antygen, więc powikłanie zakończy się wtedy, gdy limfocyty przestaną proliferować i wytwarzać przeciwciała, co jest trudne do przewidzenia. Bardzo ważne jest szybkie różnicowanie przyczyny niedokrwistości, gdyż może być ona związana z krwawieniem pooperacyjnym. Badania laboratoryjne dadzą odpowiedź, czy jest to niedokrwistość immunohemolityczna. Jeśli tak, to należy odpowiednio dobrać krew do przetoczenia, by KKCz nie posiadał swoistych dla przeciwciał antygenów. W przypadku pary: biorca A – dawca O przetacza się krwinki O maksymalnie pozbawione osocza i zawieszono w osoczu AB, w roztworze albuminy lub płynie konserwującym. W przypadku pary biorca RhD dodatni – dawca RhD ujemny z przeciwciałami anti-D przetacza się KKCz RhD ujemną. Przykłady takiej hemolizy po transplantacji wątroby i nerek opisano u polskich pacjentów w 2016 r. [26].

## **Podsumowanie**

Ze względu na różnorodność sytuacji klinicznych, bezpieczny dobór krwinek czerwonych do przetoczenia, oprócz ścisłego stosowania procedur, wymaga też indywidualnego traktowania poszczególnych biorców krwi i bardzo ścisłej współpracy lekarzy z diagnostami laboratoryjnymi – serologami.

## ***Wkład autorów/ Authors' contributions***

JF-M – całość pracy.

## ***Konflikt interesu/ Conflict of interest***

Nie występuje.

## ***Finansowanie/ Financial support***

Nie występuje.

## ***Etyka/ Ethics***

Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

## Piśmiennictwo References

- [1] Wymagania dobrej praktyki pobierania krwi i jej składników, badania, preparatyki, przechowywania, wydawania i transportu dla jednostek organizacyjnych publicznej służby krwi. In: Obwieszczenie Ministra Zdrowia z dnia 9 czerwca 2017 r. Dziennik Urzędowy Ministra Zdrowia z 2017 r., poz. 63.
- [2] Fung MK, Eder AF, Spitalnik SL, Westhoff CM (ed.). Technical Manual. 19-th ed. Bethesda: AABB Press; 2017.
- [3] Klein HG, Anstee DJ. Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine, 12-th ed. Wiley Blackwell; 2014.
- [4] Mintz PD (ed.). Transfusion therapy. Clinical Principles and Practice. 3-rd ed. Bethesda: AABB Press; 2011.
- [5] Milkins C, Berryman J, Cantwell C, et al. Guidelines for pre-transfusion compatibility procedures in blood transfusion laboratories. *Transfus Med* 2013;23(1):3–35.
- [6] Win N.: Guidelines for the management of urgent red cell transfusion and situations when serological compatibility cannot be assured. INFORMATION INF437/1.3. <https://nhsbtdbe.blob.core.windows.net/umbraco-assets-corp/14861/inf4373-guidelines-for-the-management-of-urgent-red-cell-transfusion-and-situations-when-serological-compatibility-cannot-be-assured.pdf> [2015].
- [7] Fabijańska-Mitek J, Bochenek-Jantczak D, Grajewska A, Wieczorek K. Badania immunohematologiczne i organizacja krwiolecznictwa – kompendium. Fundacja Pro Pharmacia Futura, Warszawa 2017.
- [8] Fabijańska-Mitek J.: Immunohematologia. Grupy krwi i niedokrwistości. Warszawa: Fundacja Pro Pharmacia Futura; 2018.
- [9] Zimring JC, Stowell SR, Johnsen JM, Hendrickson JE. Effects of genetic, epigenetic and environmental factors on alloimmunization to transfused antigens: Current paradigms and future considerations. *Transfus Clin Biol* 2012;19(3):125–31.
- [10] Zimring JC, Welniak L, Semple JW, Ness PM, Slichter SJ, Spitalnik SL. Current problems and future directions of transfusion-induced alloimmunization: summary of an NHLBI working group. *Transfusion* 2011;51(2):435–41.
- [11] Trudeau J. Massive Hemorrhage and Emergency Transfusion. In: Clarke G, Chargé S (ed.). *Clinical Guide to Transfusion*. Canadian Blood Services; 2017.
- [12] Thornton N. The Clinical Significance of Blood Group Alloantibodies and the Supply of Blood for Transfusion. SPECIFICATION SPN214/4. <https://nhsbtdbe.blob.core.windows.net/umbraco-assets-corp/14863/spn2144-the-clinical-significance-of-blood-group-alloantibodies-and-the-supply-of-blood-for-transfusion.pdf> [2013].
- [13] Win N, Sinha S, Lee E, Mills W. Treatment with intravenous immunoglobulin and steroids may correct severe anemia in hyperhemolytic transfusion reactions: case report and literature review. *Transfus Med Rev* 2010;24(1):64–7.
- [14] Weinstock C, Möhle R, Dorn C, et al. Successful use of eculizumab for treatment of an acute hemolytic reaction after ABO-incompatible red blood cell transfusion. *Transfusion* 2015;55(3):605–10.
- [15] Nance S, Scharberg EA, Thornton N, et al. International rare donor panels: a review. *Vox Sang* 2016;110(3):209–218.
- [16] Peyrard T, Pham BN, Le Pennec PY, Rouger P. Transfusion of rare cryopreserved red blood cell units stored at -80° degrees C: the French experience. *Immunohematology* 2009;25(1):13–7.
- [17] Rare Blood Groups. *Transfusion Today* 2016; 106: 4 – 9.
- [18] New HV, Berryman J, Bolton-Maggs PH, et al. Guidelines on transfusion for fetuses, neonates and older children. *Brit J Haematol* 2016;175(5):784–828.
- [19] Heeger LE, Counsilman CE, Bekker V, et al. Restrictive guideline for red blood cell transfusions in preterm neonates: effect of a protocol change. *Vox Sang* 2019;114(1):57–62.
- [20] Whyte RK, Jefferies AL. Red blood cell transfusion in newborn infants. *Paediatr Child Health* 2014;19(4):213–17.
- [21] Adama van Scheltema PN, Oepkes D. Intrauterine blood transfusion. *ISBT Science Series* 2010;5(1):1–6.
- [22] Delaney M. Haemolytic disease of the fetus and newborn: advancements in precision and prevention. *ISBT Science Series* 2019;14:32–6.
- [23] Neonatal and Paediatric Transfusion. *Transfusion Today* 2017;110:3–13.
- [24] Norfolk D (ed.). *Handbook of Transfusion Medicine*. 5-th edition. Sheffield: TSO; 2013:1–16.
- [25] Nowak J, Fabijańska-Mitek J (ed.). *Podstawy immunogenetyki transplantacyjnej*. Warszawa: Fundacja Pro Pharmacia Futura; 2012.
- [26] Lipińska A, Walaszczyk A, Gmerek K, Fabijańska-Mitek J. The presence of anti-D antibodies after kidney and liver transplantation in cases of ABO identical donor-recipient pairs. *Post N Med* 2016;29(2):100–2.