

WHEN THE AVAILABLE BLOOD SUPPLY MISMATCHES THE NEEDS OF THE PATIENT

MEVCUT KAN ARZI HASTANIN İHTİYAÇLARIYLA UYUŞMADIĞINDA

ALINTI: <https://doi.org/10.2450/2022.0166-22>

YAZARLAR: Lisa Weidner, Wolfgang Allhoff, Charlotte Pistorius, Volker Witt, Eva Rohde, Elisabeth Schistal, Christof Jungbauer

ÖZETLEYEN: Dr. Belkıs KOÇTEKİN

GİRİŞ

İnsan kan grubu sistemleri, dünya genelinde farklı popülasyonlar ve etnik gruplar arasında değişen fenotipler gösterir. Bazı fenotipler, özellikle malarya gibi bulaşıcı hastalıklara karşı koruyucu etkileri olan belirli eritrosit membran özelliklerinden kaynaklanmış olabilir. Afrika nüfusunun %18,2'sinde HbS, HbC, HbE, HbD, β talasemi veya α^0 talasemi gibi önemli bir hemoglobin gen varyantı varlığı nedeniyle, donör kanına olan ihtiyaç daha yüksektir. Ayrıca, transfüzyon sonrası alloantikor oluşumu da, diğer hasta gruplarına kıyasla, hemoglobinopati hastalarında daha yüksektir.

Özellikle kronik transfüzyona bağımlı hastalar için alloimmünizasyonu önlemek amacıyla yapılan profilaktik antijen eşleme ve uygulamalarının kapsamı, kurumlar ve ülkeler arasında farklılık göstermektedir. İngiltere, ABD ve Kuveyt' teki çalışmalarda, sadece ABO ve RhD eşleme yapıldığında hemoglobinopati hastalarında alloantikor gelişen hastaların sıklığı % 18-76 arasında değişmektedir. Ek olarak sınırlı fenotip eşleme (C, E ve K antijenleri için) yapıldığında, alloantikor oluşma sıklığı % 5-11' e düşmektedir. Bu, genişletilmiş minör eritrosit antijen eşleme yapıldığında daha da düşerek % 0-7' ye kadar inmektedir.

Alloimmünizasyonun çeşitli nedenleri ortaya konmuştur. Alıcı ve donör popülasyonunun homojenliği alloimmünizasyonu azaltırken, transfüzyon sırasında alıcının akut bir tanısının olması, enflamasyon veya viral enfeksiyon varlığı alloantikor oluşumunun artmasına neden olur. Son veriler ayrıca, tek ünite eritrosit süspansiyonunun alloimmünizasyon oranlarını, 10 ünite eritrosit süspansiyonu ile yapılan transfüzyonlara göre daha yüksek olduğunu göstermektedir.

Bu çalışma, göç geçmişine sahip bireyleri 69 kan grubu polimorfizmi açısından genetik olarak tiplemeyi amaçlamıştır. Bu amaç, kan arzını optimize etmek ve bu hastalarda yapılan

multiple transfüzyonlardan sonra alloantikör oluşumunu önlemektir. Afrikalı hastalar (Grup A) ile donör popülasyonu (neredeyse tamamı Kafkas; Grup B) arasındaki kan grupları antijen sıklıklarındaki farklar ve ortaya çıkan zorluklar da araştırılmıştır. Bu genetik antijen profillerinin sonuçları, hastaların etnik kökenleriyle ilgili olarak eritrosit antijen sıklıklarındaki farkların daha kapsamlı anlaşılmasını ve rutin antikör taramasına ek bilgi sağlayabilir.

MATERYAL VE METOD

Avusturya Kızılhaç Etik Komitesinin onayladığı (20210823_07) bu çalışmada hastaların rutin genotiplemesine ait veriler retrospektif olarak analiz edilmiştir.

DNA, üreticilerin talimatlarına göre Maxwell 16 cihazı ve Maxwell 16 Kan DNA kiti (Promega, Fitchburg, ABD) kullanılarak EDTA antikoagülanlı tam kan örneklerinden saflaştırılmıştır.

Genotipleme: Veri seti "MX3"ün 63 polimorfizminden 59'u bu analize dahil edilmiştir. D eksonları ve d-hybridbox, detaylı tiplendirmeye nedeniyle dahil edilmemiştir. RHD - pseudogen (D-psi) dahil edilmiştir. 63 kan grubu polimorfizminin ("MX3") genotiplemesi, daha önce tarif edildiği gibi güncellenmiş bir multiplex sekans özgül primer-PCR (SSP-PCR) versiyonuyla yapılmıştır. Antijen Aua (LU18), Aub (LU19), KCAM (KN9), KDAS (KN10) ve Yka (KN5) antijenleri için, "AKY" (6 polimorfizm) olarak adlandırılan ek tarama yapılmıştır. SSP-PCR'lar, tanımlanmış koşullar altında 16 µL reaksiyonlarda gerçekleştirilmiştir. Her iki reaksiyondan elde edilen PCR ürünleri, 1.5% agaroz jel içinde TBE kullanılarak elektroforez ile ayrılmış, SYBR-Safe DNA Jel Boyası (Invitrogen, Waltham, MA, ABD) ile boyanmıştır.

İstatistiksel analiz, "N-1" χ^2 testi ile gerçekleştirilmiştir.

SONUÇLAR

Toplamda, Afrika (Grup A= 290) ve Kafkasya (Grup B= 1.017) kökenli 1.307 hasta, 63 farklı primer çifti ile ekspresyon paternleri için genotipleştirilmiştir. Bunların içinden, Grup A'dan 224'ü ve Grup B'den 272'si, 5 ek antijen için "AKY" primer seti ile tiplendirilmiştir (Tablo I ve Tablo II). LU1, LU2, LU8 ve LU14, K11 ve K17, DI1, DI2, DI3 ve DI4, YT1 ve YT2, SC1 ve SC2, CO1 ve CO2, LW5 ve LW7, CH/RG, IN1 ve IN2, JR1 ve VEL1 için anlamlı farklar gözlenmemiştir.



Rh kan grubu sistemi: RHD-pseudojen (D-psi) Grup A örneklerinde, %5,52 ve Kafkas donör örneklerinde (Grup B) %0,093'ünde (1.017'nin 1'inden biri) saptanmıştır.

İki etnik grup arasında C, c, E ve CW antijenleri açısından belirgin farklılıklar gözlenmiştir. A grubunda C (RH2) için %17,93 pozitiflik oranı ve B grubunda %67,42 pozitiflik oranı; c (RH4) için ise A grubunda %96,21 ve B grubunda %80,04 pozitiflik oranları bulunmuştur. E (RH3) antijeni için tek nükleotid polimorfizmi (SNP), Grup A örneklerinin %9,66'sında ve Grup B'nin %23,40'ında tespit edilmiş, benzer oranlar ise e (RH5) antijeni için her iki grupta elde edilmiştir. CW(RH8) antijeni için SNP, Grup A'da bulunmamış; ancak, Grup B örneklerinin %3,74'ünde tespit edilmiştir.

Duffy: Grup B için Duffy alellerinin frekansları FY1 ve FY2 için sırasıyla %65,88 ve %78,56'dir, bu da tahmini fenotip frekanslarını şu şekilde ortaya koymaktadır: %0,20 Fy(a-b-), %44,64 Fy(a+b+), %33,92 Fy(a-b+), ve %21,24 Fy(a+b-). Bunun karşısında, grup A örneklerinde FYES aleli %89,66'ya kadar yüksek bir frekansta bulunmuş, FY1 için %9,66 ve FY2 için %15,86 oranları elde edilmiştir. Bu durum, tahmini fenotip frekanslarını %78,28 Fy(a-b-), %3,79 Fy(a+b+), %12,07 Fy(a-b+), ve %5,86 Fy(a+b-) olarak göstermektedir.

Knops ve yüksek frekanslı antijenler: Knops kan grubu sisteminde, KN4 (Sla) alelinin frekanslarında grup B için %99,90 ve grup A'da %67,24'lük pozitif oranlar gibi başka farklılıklar da gözlemlenmiştir. Ayrıca, KN3 (McCa) için SNP, Grup B örneklerinin %100'ünde tespit edilmiş ve Grup A'nın %3,10'unda bulunmamıştır. KN1 (Kna) için SNP, her iki grupta yüksek frekansta tespit edilmiştir.

Ayrıca, KCAM (41,52% grup A, 93,38% grup B) ve antitez antijen KDAS (86,61% grup A, 52,57% grup B) için farklı frekanslar gözlemlenmiştir. KN5 (Yka), gruplar arasında hafif farklar göstermiş ve Grup B'de daha az yaygın olmuştur (%93,75'e karşı %98,21). Kell sistemi içinde, KEL1 (K) aleli Grup B'de (%10,13) Grup A'dan (%1,72) daha yaygındır. KEL2 (k) negatif genotip Grup A'da tespit edilmemiş ancak Grup B bireylerinin %1,18'inde bulunmuştur. KEL6 (Jsa) Grup B'de neredeyse yokken (%0,20), Grup A örneklerinin %12,41'inde bulunmuştur. Antitez KEL7 (Jsb), her iki popülasyonda da yüksek frekanslı bir antijen olarak kabul edilir, Grup B'de %100 pozitif ve Grup A'da %99,31 pozitifdir.

MNSs: İki grup da MNS kan grubu sisteminin çoğu test edilen alellerinde benzer frekanslara sahiptir. M (MNS1) aleli Grup A'da %72,41 ve Grup B'de %77,97'de bulunmuştur. N

(MNS2) aleli benzer frekanslara sahiptir, Grup A'da %76,90 ve Grup B'de %71,29 örneklerinde bulunmuştur. s (MNS4) aleli Grup A'da %89,66, Grup B'de %88,99 bulunmuştur. S (MNS3) için Grup A'da %32,07 ve Grup B'de %49,16 olmak üzere alel frekansında biraz farklılık gözlemlenmiştir. Antijeni U'yu (MNS5) ifade eden alel, Grup B'deki bireylerin %100'ünde bulunmuş ancak Grup A örneklerinin %1,38'inde bulunmamış ve %1,03'ünde varyant olarak tespit edilmiştir.

Dombrock: Dombrock kan grubu sisteminde, her iki gruptaki örneklerde Dob (DO2) alelinin üstünlüğü gözlenmiştir (%90,00 grup A ve %84,76 grup B). Doa (DO1) aleli, grup A örneklerinin %42,07'sinde ve grup B örneklerinin %62,14'ünde tespit edilmiştir.

Kidd: İlginç bir şekilde, Kidd kan grubu sistemiyle ilgili olarak da farklılıklar belirlenmiştir. Jka (JK1), Grup A da %97,76 ve Grup B de %71,78 oranlarında pozitif saptanırken, Jkb (JK2) için ise Grup A da %50,00 ve Grup B de %74,14 oranında pozitiflik belirlenmiştir.

TARTIŞMA

Sonuçlarımız, özellikle MNS, Duffy, Knops ve Rh sistemleri açısından Afrika hastaları ile Avrupa'daki donör popülasyonu arasında belirgin farklılıklar olduğunu göstermektedir. Bazı nadir kan tipleri, özellikle Fynull, Jsb negatif ve U negatif gibi tipler, yalnızca Afrika hasta grubunda bulundu. Fya ve Fyb antijenleri özellikle önemlidir, çünkü bu antijenler çoğu etnik gruptaki bireylerde neredeyse her zaman ifade edilirken, Fynull fenotipi son derece nadirdir. Bu çalışmada tiplenecek Afrika hastalarının %78,28'inde Fynull fenotipi bulunmuş olup, bu durum potansiyel olarak anti-Fy3 oluşumuna neden olabilir. Donör ve hasta popülasyonları arasındaki uyumsuzluk nedeniyle, bazı kan merkezleri, Fynull hastalarının tercihen anti-Fy3 oluşumunu önlemek veya minimize etmek amacıyla Fya negatif kanla transfüze edilmesine yönelik kılavuzlar geliştirmiştir. Bu nedenle, geniş donör tiplenecek ve özellikle de grup B örneklerimizin Fya antijenini ifade ettiği (%65,88) göz önüne alındığında, koruyucu eşleştirmenin önemini altı çizilmektedir, Ancak çoğu transfüzyon servisi, anti-Fy3 veya diğer yüksek frekansta antijenlere karşı olan diğer antikor spesifiklikleri olan hastalara uygun eritrosit süspansiyonu sağlama konusunda büyük sorunlar yaşayacaktır, çünkü uyumlu kan sadece Afrika kökenli donörlerde bulunabilir.

Hasta ve potansiyel donörlerin genetik olarak geniş bir tiplere tabi tutulması, nadir kan tiplerini belirleme amacıyla, yüksek prevalanslı antijenleri içermelidir. İdeal olarak, bunun genetik olarak yapılması gerekmektedir, çünkü serolojik yöntemler, yüksek maliyet ve antisera sınırlı bulunabilirliği nedeniyle kısıtlıdır. Bu veriler aynı zamanda koruyucu antijen eşleştirmesi için kullanılabilir, alloantikörleri belirlemede yardımcı olabilir ve antikor taşıyıcıları için antijen-negatif kan arayışına yardımcı olabilir. Ancak, transfüzyon servislerinin, potansiyel Afrika kökenli donörleri donör popülasyonuna kabul etmeden önce birkaç zorluğu aşması gerekecektir. Bu, ulusal dışlama kriterleri veya sıtma ile ilgili politikaların belirlenmesini ve bu popülasyonların enfeksiyon hastalıklarının önemli ölçüde daha yüksek oranlara sahip olmalarından dolayı test algoritmalarının değiştirilmesini içerir. Berzuini ve ark. tarafından önerilen sıtma, Hepatit B çekirdek antikoru (Anti-HBc) ve bu donör grubundaki hemoglobinopatilerin dışlanması için kapsamlı testlerin uygun olacağını düşünüyoruz.

Sıtma testi, hala bir altın standart bulunmaması nedeniyle son derece zorlayıcı olabilir. İtalyan bir çalışmada, Afrika kökenli potansiyel donörlerin %72'si sıtma antikörleri için pozitif test edilmiştir. Asemptomatik, yarı bağımsız donörler, transfüzyonla bulaşan sıtmaya büyük bir risk oluştururlar; hatta Assenato ve ark. antikor taşıyıcılarının %3,6'sında plasmodial DNA tespit edebilmişlerdir. Bununla birlikte, risk altındaki popülasyonda özellikle P. ovale ve P. malariae ile kronik enfeksiyon, sıtma antikor testlerini kullanarak atlanabilir, çünkü bu testler P. falciparum ve P. vivax antijenlerini hedef olarak kullanır. Nadir kan bankalarının, nadir donörler ve ilgili nadir kan üniteleri ile ilgili olarak pozitif sıtma antikörleri veya izole anti-HBc pozitifliği olan durumları nasıl yönetecekleri konusunda protokol ve politikalar geliştirmeleri gerekmektedir.

Anti-HFA antikor taşıyıcıları için kan arzını optimize etmek için nadir kan ünitelerinin (kriyo) depolanması ve dağıtımı, ulusal ve uluslararası nadir kan bankaları aracılığıyla bir kez daha şiddetle önerilmektedir. Avrupa'da Afrika kökenli donör kanı genellikle nadir olduğundan, nadir donör veri bankalarının merkezleştirilmesi, kırmızı kan ünitelerinin depolanması ve belki de bu merkezlerde antikor tanımlama, özellikle kan ünitelerine acil ihtiyaç duyulduğunda ulusal ve uluslararası işbirliğine yardımcı olabilir.

Etnik gruplar arasındaki antijen değişkenliği, antikor tarama ve tanımlama konusunda zorluklara neden olabilir. Özellikle referans laboratuvarları için Afrika kökenli hastaların

eritrositlerinin geniş bir tiplmesi ve bunların antikor tanımlama için toplanması son derece önemlidir.

SONUÇLAR

Bu çalışmadan elde edilen veriler, hastalar ile arasında uygunluk sağlayan donörlere büyük bir ihtiyaç olduğunu bir kez daha kanıtlamaktadır. Küresel göç zorluklarıyla karşılaşan ülkelerde modern kan arzını sağlamak için ek önlemler alınmalı veya en azından ulusal veya uluslararası hizmetler ve destek sağlayabilecek referans laboratuvarları ile işbirlikleri kurulmalıdır.

Table II - Additionally typed antigens in Knops and Lutheran system

Antigens	Positive group A n=224	Positive group B n=272	% difference
KN			
KN5 (Yka)	98.21%	93.75%	4.46% (p=0.0142)
KN9 (KCAM)	41.52%	93.38%	51.86% (p<0.0001)
KN10 (KDAS)	86.61%	52.57%	34.04% (p<0.0001)
LU			
LU18 (Au^a)	80.80%	93.75%	12.95% (p<0.0001)
LU19 (Au^b)	65.63%	53.68%	11.95% (p=0.0071)

Table I - Allele frequencies of antigens with relevant differences between group A and group B

Antigens	Positive - group A N=290	Positive - group B N=1,017	% difference
RH			
D-psi	5.52%	0.10%	5.42% (p<0.0001)
C (RH2)	17.93%	67.42%	49.49% (p<0.0001)
c (RH4)	96.21%	80.04%	16.17% (p<0.0001)
E (RH3)	9.66%	23.40%	13.74% (p<0.0001)
e (RH5)	98.97%	97.25%	1.72% (p=0.0894)
C ^w (RH8)	0.00%	3.74%	3.74% (p=0.0008)
FY			
FY1 (Fy ^a)	9.66%	65.88%	56.22% (p<0.0001)
FY2 (Fy ^b)	15.86%	78.56%	62.70% (p<0.0001)
FY ^{ES}	89.66%	1.57%	88.09% (p<0.0001)
Predicted Fy phenotype frequencies			
Fya+b+	3.79%	44.64%	40.85% (p<0.0001)
Fya+b-	5.86%	21.24%	15.38% (p<0.0001)
Fya-b+	12.07%	33.92%	21.85% (p<0.0001)
Fynull	78.28%	0.20%	78.08% (p<0.0001)
KN			
KN1 (Kn ^a)	99.66%	99.31%	0.35% (p=0.5005)
KN3 (McC ^a)	96.90%	100.00%	3.10% (p<0.0001)
KN4 (Sl ^a)	67.24%	99.90%	32.66% (p<0.0001)
KEL			
KEL1 (K)	1.72%	10.13%	8.41% (p<0.0001)
KEL2 (k)	100.00%	98.82%	1.18% (p =0.0632)
KEL (Kp ^a)	0.34%	2.78%	2.44% (p=0.0133)
KEL (Kp ^b)	100.00%	99.89%	0.11% (p=0.5722)
KEL6 (Js ^a)	12.41%	0.20%	12.21% (p<0.0001)
KEL7 (Js ^b)	99.31	100.00%	0.69% (p=0.0080)
MNS - GYPA, GYPB			
MNS1 (M)	72.41%	77.97%	5.56% (p=0.0482)
MNS2 (N)	76.90%	71.29%	5.61% (p=0.0591)
MNS3 (S)	32.07%	49.16%	17.09% (p<0.0001)
MNS4 (s)	89.66%	88.99%	0.67% (p=0.7464)
MNS5 (U)	97.59%	100.00%	2.41% (p<0.0001)
U ⁺ w	1.03%	0.00%	1.03% (p=0.0012)
U negative	1.38%	0.00%	1.38%(p=0.0002)
DO			
DO1 (Doa)	42.07%	62.14%	20.07% (p< 0.0001)
DO2 (Dob)	90.00%	84.76%	5.24% (p=0.0237)
DO4 (Hy)	98.97%	100.00%	1.03% (p=0.0012)
DO5 (Joa)	100.00%	100.00%	
JK			
JK1(Jka)	97.76%	71.78%	25.98% (p<0.0001)
JK2 (Jkb)	50.00%	74.14%	24.14% (p<0.0001)