

HLA antigény I. triedy a erytrocyty

Marta Kučeráková¹, Lucia Okonová¹, Mária Laurincová², Anna Macháčová³

1HTO FNŠP Žilina, 2NTS SR pracovisko Žilina, KKH Freiberg

Úvod: Hoci zrelé erytrocyty nepatria medzi jadrové bunky, aj na nich sú dokázateľné niektoré HLA antigény I. triedy, nazývané tiež Bg (podľa Bennetta a Goodspeeda). Bg^a koreluje s HLA-B7, Bg^b s HLA-B17(B57, B58) a Bg^c s HLA-A28(A68, A69). Anti-HLA protilátky vznikajúce imunizáciou počas gravidity, v súvislosti s transfúznou a transplantáčnou liečbou môžu spôsobiť problémy pri predtransfúznom vyšetrení a spôsobiť v niektorých prípadoch hemolytickú potransfúznú reakciu.

Klasické HLA antigény I. triedy sú kódované génmi hlavného histokompatibilného komplexu (MHC) *HLA-A*, *-B* a *-C*, ktoré sú lokalizované na chromozóme 6p21. Nachádzajú sa v ľudskom organizme na všetkých jadrových bunkách a slúžia na prezentáciu cudzích antigénov cytotoxickým T-lymfocytom.

HLA (human leukocyte antigen) antigény I. triedy sa skladajú z transmembránového reťazca α (molekulová hmotnosť 45 kDa) a s ním nekovalentne asociovaného β_2 -mikroglobulínu (molekulová hmotnosť 12 kDa). V α reťazci rozlišujeme 3 domény. 2 N-terminálne, α_1 , α_2 , vytvárajú väzbové miesto pre peptidy. Tretia doména (α_3) a β_2m sú štruktúrne podobné imunoglobulínovým doménam. Väzbové miesto MHC gp I pre peptidy predstavuje štruktúrne ryhu na povrchu proteínu, ktorá je na oboch koncoch uzavretá, a preto sa na ňu viažu výhradne peptidy o dĺžke 8-10 aminokyselín (4).

Hoci zrelé erytrocyty nepatria medzi jadrové bunky, aj na nich sú dokázateľné niektoré HLA antigény I. triedy, nazývané tiež Bg (podľa Bennetta a Goodspeeda). Bg^a koreluje s HLA-B7, Bg^b s HLA-B17(B57, B58) a Bg^c s HLA-A28(A68, A69) (1). Erytrocyty s fenotypom Bg^c reagujú tiež s anti-HLA-A2, ktorá napríklad skrížene reaguje aj s HLA-A28. Existuje veľké množstvo skrížených reakcií.

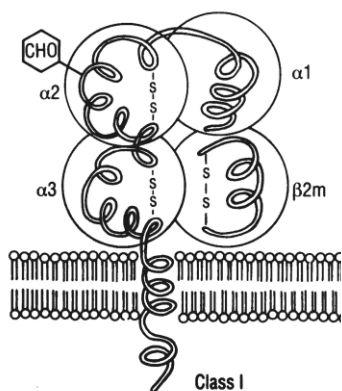
Podobne sa aj iné HLA antigény I. triedy dajú potvrdiť na povrchu erytrocytov: HLA-A10 a -B8(sú často silne exprimované), ďalej HLA-A9, -B12 a -B15 (3).

Niektorí jedinci nemajú spomínané HLA antigény na svojich erytrocytoch, aj keď sú dokázateľné na ich vlastných lymfocytoch. Expresia sa líši od človeka k človeku a tiež v závislosti od obdobia života. V určitom čase môžeme mať niektorý zo spomínaných HLA antigénov na červených krvinkách silne vyjadrený, o niekoľko mesiacov alebo rokov však môže byť HLA fenotyp erytrocytov negatívny.

Počet HLA antigénov na 1 erythrocyte je 40-550, pre porovnanie na T-lymfocyte je ich 100 000 (7). Podobne na trombocytoch sa dokázal väčší počet HLA antigénov v porovnaní s

červenými krvinkami (18). Pri niektorých ochoreniach (napr. SLE alebo infekčnej mononukleóze) a konkrétnom HLA fenotype (napr. HLA-B7) je počet HLA antigénov na erythrocytoch vyšší (8). Bg antigény sú „reaktívnejšie“ u pacientov s akútnou leukémiou, lymfómom, polycytemiou, megaloblastovou a hemolytickou anémiou.

Villartay a kol. s použitím prietokovej cytometrie dokázali HLA antigény I. triedy u 17 % vyšetrovaných osôb (15).



Obr.1. HLA antigén I. triedy

Laboratórna charakteristika HLA antigénov na erythrocytoch

Erythrocytové HLA antigény I. triedy sú rezistentné na ošetrovanie papáinom, ficínom, pronázou, trypsínom, chymotrypsínom, 2-aminoetylisotiuronium bromidu (2-AET), dithiotreitolom (DTT). Dajú sa opracovať účinkom difosfátu chlorochinu (Gamma-Quin) a kyslým roztokom EDTA/glycínu (Gamma EGATM kit). V prípade nejasnej reaktivity séra pri testovaní v NAT (nepriamom antiglobulínovom teste), ktorá nezodpovedá špecificite korešpondujúcej k žiadnemu antigénu diagnostických erythrocytov, mali by sme uvažovať aj o anti-HLA protilátkach. Ak máme erythrocyty reagujúce so sérom pacienta a predpokladáme anti-HLA špecificitu antierythrocytovej protilátky, erythrocyty sa pokúsime opracovať spomínanými reagensiami. Po ich opracovaní by mala reaktivita pri opakovanom testovaní vymiznúť. Pri použití Gamma EGATM kitu treba zohľadňovať fakt, že deštruuje aj iné antigény (napr. Kell, Er^a). Súčasne doplníme vyšetrenie anti-HLA protilátok napr. lymfocytotoxickým testom, prietokovou cytometriou atď. (5).

Anti-HLA protilátky

Anti-HLA protilátky vznikajú v dôsledku imunizácie počas gravidity, po transfúznej liečbe a transplantácii.

Pri použití citlivej Luminexovej metódy detekcie boli anti-HLA protilátky dokázané u 54,4 % žien. Frekvencia imunizácie sa zvyšuje s počtom gravidít, a dosahuje 74 % u žien po viac ako 2 pôrodoch (9).

Opakovaná transfúzna liečba zapríčiňuje tvorbu anti-HLA protilátok u viac ako 60 % pacientov. Faktory, ktoré vplyvajú na imunizáciu sú: „dávka“ leukocytov v TU, predchádzajúce gravidity u žien, momentálny stav imunitného systému recipienta, miera zhody v MHC medzi donorom a recipientom (12).

V súvislosti s transplantáciou solídnych orgánov sa potvrdil nález donor-špecifických anti-HLA protilátok po transplantácii obličiek u 20-30 % recipientov, srdca 15-40 %, pľúc 11-50 %, pečene 21 %, rohovky 12-45 % (10).

Anti-Bg^a protilátky sa dajú detegovať, ak použijeme diagnostické erytrocyty so silnou expresiou Bg^a antigénu. Nachádzajú sa v sére cca 1,5 % darcov krvi a pacientov (6).

Klinicky význam anti-HLA protilátok namierených proti HLA antigénom erytrocytov

Anti-HLA a hemolytická potransfúzna reakcia: v literatúre sú uvedené prípady hemolytickej potransfúznej reakcie spôsobenej anti-HLA protilátkami- napr. anti-HLA-A2, -A28, -B7, -B7 cross-reactive group (CREG) (2, 11, 14).

Panzer a kol. v prospektívnej štúdii sledovali, či je HLA senzibilizácia spojená so zvýšenou deštrukciou erytrocytov po podaní HLA-inkompatibilnej erytrocytovej transfúzie. Vybrané erytrocytové TU boli kompatibilné v erytrocytových skupinových systémoch pacientov, ale inkompatibilné v HLA antigénoch. Hemolytická potransfúzna reakcia bola zaznamenaná u 4 pacientov po podaní HLA-B7 inkompatibilnej krvi. Vyšetrenie s Cr51 značenými erytrocytami potvrdilo ich skrátené prežívanie (22,3; 36,9; 41,4 a 44 dní) a sekvestráciu v slezine. Súčasne sa zistila zvýšená hladina laktátdehydrogenázy a znížená hladina haptoglobínu. V eluáte z erytrocytov pacienta sa potvrdili anti-HLA-B7 protilátky. Podobný nález sa dokumentoval ešte u jedného pacienta pri HLA-A2 inkompatibilite (13).

Benson napr. opisuje prípad 39-ročnej pacientky prijatej pre anemický syndróm s nutnosťou transfúznej liečby. Skrining protilátok bol negatívny. Dostala 2 erytrocytové TU, po ktorých

sa u pacientky prehlbila anémia s klinickými a laboratórnymi známkami hemolýzy. Pacientke sa pripravili ďalšie 2 kompatibilné erytrocytové TU. Počas hemoterapie sa rozvinul klinický obraz potransfúznej reakcie s laboratórnym dôkazom intravaskulárnej hemolýzy. Následne sa teda vybrali HLA kompatibilné TU, ktoré boli podané bez reakcie (2).

Podobne Takeuchi dokumentuje kazuistiku 77-ročnej pacientky prijatej pre perforovaný gastrický ulcus. Predtransfúzny skrining protilátok bol negatívny. Na 12.deň po podaní 2 erytrocytových TU sa rozvinul obraz oneskorenej hemolytickej potransfúznej reakcie. V sére pacientky sa potvrdila kombinácia antierytrocytových protilátok anti-E + anti-c + anti-Jk^a a protilátka, ktorú sa nepodarilo identifikovať. Na 19. a 22. deň od 1. transfúzie mala podané cez deleukotizačný filter 2 erytrocytové TU. 4 hod po ich podaní bol u pacientky zaznamenaná zvýšená telesná teplota a klinický a laboratórny obraz hemolýzy. V sére pacientky sa potvrdila silná protilátka anti-HLA-A2 a anti-HLA-B7 korešpondujúca k antigénom Bg^c a Bg^a (14).

Anti-HLA a hemolytická choroba plodu/novorodenca (HCHPN)- anti-HLA protilátky nespôsobujú HChP/N.

Záver

Anti-HLA protilátky namierené proti HLA antigénom I. triedy môžu byť príčinou komplikácii pri vyšetrení testu kompatibility a špecifikácii antierytrocytových protilátok. Na anti-HLA treba myslieť v súvislosti s hemolytickou potransfúznou reakciou, pri ktorej sme nedokázali bežným testovaním s panelom diagnostických erytrocytov antierytrocytovú protilátku napriek pozitívite priameho antiglobulínového testu.

Použitá literatúra:

1. American Association of Blood Banks (AABB); 17th edition 201
2. Benson K, Agosti SJ, Latoni-Benedetti GE, Leparac GF. Acute and delayed hemolytic transfusion reactions secondary to HLA alloimmunization. *Transfusion* 2003;43(6):753-7.
3. Daniels G. Human blood groups. 3rd ed. Oxford: Blackwell Science Ltd 2013.
4. Hořejší V, Bartunková J. Základy imunologie. Triton 2002.
5. Champagne K, Spruell P, Chen J, Voll L, Schlanser G. EDTA/glycine-acid versus chloroquine diphosphate treatment for stripping Bg antigens from red blood cells. *Immunohematology* 1999;15:66–68.
6. Eska PL, Grindon AJ. The High Frequency of Anti-Bg^a. *British Journal of Haematology* 1974;27:613–616.

7. Everett ET, Kao KJ, Scornik JC. Class I HLA molecules on human erythrocytes. Quantitation and transfusion effects. *Transplantation* 1987;44:123-9.
8. Giles CM, Darke C, Rowe GP, Botto M. HLA class I (Bg) antigens on red cells of SLE patients: a serological study with polyclonal and monoclonal antibodies. *Vox Sang.* 1989;56:254-61.
9. Masson E, Vidal C, Deschamps M, Bongain S, Thevenin C, Dupont I, Rietmulher D, Pouthier F, Mongaillard G, Chabod J, Ferrand C, Tiberghien P, Rebibou JM. Incidence and risk factors of anti-HLA immunization after pregnancy. *Hum Immunol.* 2013;74:946-51.
10. McKenna MR, Tekemoto SK, Terasaki PI. Anti-HLA antibodies afret solid organ transpantation. *Transplantation* 2000;69:319-326.
11. Nance ST. Do HLA antibodies cause hemolytic transfusion reactions or decreased RBC survival? *Transfusion* 2003;43: 687–690.
12. Pamphilon DH. Modern Transfusion Medicine. CRS Press 1995.
13. Panzer S, Mayr W, Graninger W, Püchler K, Höcker P, Lechner K. Lancet Hemolytic transfusion reaction due to HLA antibodies: A Prospective Study Combining Red-cell Serology with Investigations of Chromium 51-labelled Red-cell Kinetics. *Lancet* 1987; 329:474-478.
14. Takeuchi C, Ohto H, Miura S, Yasuda H, Ono S, Ogata T. Delayed and acute hemolytic transfusion reactions resulting from red cell antibodies and red cell-reactive HLA antibodies. *Transfusion* 2005;45:1925-9.
15. Villartay JP, Rouger P, Muller JY, Salmon C. HLA antigens on peripheral red blood cells: analysis by flow cytofluorometry using monoclonal antibodies. *Tissue Antigens* 1985;26:12-9.