

Učestalost anti-Kell antieritocitnih protutijela na ishod trudnoće

Razmilović, Duje

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split / Sveučilište u Splitu**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:176:315193>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-05**



Sveučilišni odjel zdravstvenih studija
SVEUČILIŠTE U SPLITU

Repository / Repozitorij:

[Repository of the University Department for Health Studies, University of Split](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

SVEUČILIŠTE U SPLITU
Podružnica
SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
MEDICINSKO-LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Duje Razmilović

**UČESTALOST ANTI-KELL ANTIERITROCITNIH
PROTUTIJELA NA ISHOD TRUDNOĆE**

Završni rad

Split, 2019.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
Podružnica
SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
MEDICINSKO-LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Duje Razmilović

**UČESTALOST ANTI-KELL ANTIERITROCITNIH
PROTUTIJELA NA ISHOD TRUDNOĆE**

**FREQUENCY OF ANTI-KELL ANTERYTHROCYTE ON
PREGNANCY OUTCOME**

Završni rad / Bachelor's thesis

Mentor:

Mirela Zec, univ. mag. med, mag. med. lab. diag.

Split, 2019

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Povijest transfuzijske medicine	1
1.2. Eritrociti	2
1.3. Eritrocitna membrana	3
1.4. Eritrocitni antigeni	4
1.4.1. Kell antigeni.....	7
1.5. Antieritrocitna protutijela	9
1.5.1. Anti - Kell antieritrocitna protutijela	11
1.6. Transfuzijske reakcije uzrokovane anti-Kell protutijelima	12
1.7. Hemolitička bolest fetusa i novorođenčeta uzrokovana anti-Kell protutijelima	13
2. CILJ RADA.....	18
3. IZVORI PODATAKA I METODE.....	19
3.1. Imunohemato loško ispitivanje	19
3.2. Standardni postupci kod trudnica s klinički značajnim anti-Kell antieritrocitnim protutijelima otkrivenima na prvom testiranju u trudnoći.....	21
3.3. Standardni postupci kad su anti-Kell protutijela otkrivena prvi put na kontrolnom testiranju u trudnoći	22
3.4. Test pretraživanja antieritrocitnih protutijela	23
3.5. Titar antieritrocitnih protutijela ispitanika	25
4. REZULTATI.....	27
5. RASPRAVA	33
6. ZAKLJUČCI.....	34
7. LITERATURA	35
8. SAŽETAK.....	38

9.	SUMMARY	39
10.	ŽIVOTOPIS.....	41

1. UVOD

1.1. Povijest transfuzijske medicine

Transfuzijska medicina je klinička, laboratorijska i proizvodna disciplina. Bavi se osiguravanjem dostatnih zaliha krvnih pripravaka, sustavom kvalitete, transfuzijskom praksom, dijagnostikom krvlju prenosivih bolesti, HLA tipizacijom tkiva te transplantacijom krvotvornih matičnih stanica. (1)

Ideja transfuzije krvi u medicinske svrhe seže još iz vremena antike. U Ovidijevom djelu „Metamorfoze”, napisanom 430. godine pr. Kr. opisana je zamjena krvi u svrhu pomlađivanja. Drevni Egipćani smatrali su da kupka od krvi liječi i pomlađuje. Rimljani i Grci su pili krv, a Plinije Stariji u 1. stoljeću opisuje navalu gledatelja u arenu kako bi pili krv umirućih gladijatora. Čin pijenja krvi zabranio je Septimije Sever 193. godine. Svijest o opasnosti ingestije krvi javlja se u 13 stoljeću, a opisao ju je kroničar Petro de Abano. Pretpostavlja se da je među prvim pacijentima koji su bili podvrgnuti transfuzijskom liječenju bio papa Inocent VIII. Zbog bolesti od koje je patio, a sumnja se na kroničnu bubrežnu bolest, papa je primio krv trojice dječaka, no zbog neznanja o temeljnim zakonitostima transfuzije kao metode liječenja ovaj postupak bio je neuspješan. Do 17. stoljeća, svega nekoliko puta se spominje davanje krvi kao mogući način liječenja. Liječnik William Harvey 1613. godine formulirao je teoriju o cirkulaciji krvi i ulozio srca kao pumpe koja tjera krv kroz krvne žile te je iznio u djelu „De Motu Cordis” 1628. godine. Iste godine, profesor Giovanni Colle sa Sveučilišta u Padovi teoretizira o transfuzijskom postupku kao metodi produljenja života. 1667. godine, Denys izvodi heterologne transfuzije krvi. Prvu autolognu transfuziju krvi izvodi Blundell 1818. godine u liječenju postporođajnog krvarenja. Nepostojanje aseptičkih uvjeta, nepoznavanje krvnih grupa te zgrušavanje krvi bili su razlog rijetkih slučajeva transfuzijskih liječenja. Tek 1900. godine kada je Karl Landsteiner otkrio krvne grupe, započinje uzlet transfuzijske medicine. (2)

1.2. Eritrociti

Eritrociti ili crvene krvne stanice su jedna vrsta stanica koje čine krv. Bikonkavnog su oblika, bez jezgre, a njihov životni vijek je oko 120 dana. Mjesto stvaranja eritrocita se mijenja tijekom intrauterinog razvoja, od žumanjčane vreće u prvim tjednima trudnoće, zatim u jetri, slezeni i limfnim čvorovima, a nakon rođenja se proizvode u koštanoj srži. Nakon dvadesete godine života, eritrociti se proizvode isključivo u koštanoj srži kralježaka, zdjelice i prsne kosti. Fiziološki, broj eritrocita kod muškaraca je veći nego kod žena. Tijekom diferencijacije, eritrociti mijenjaju oblik, gube jezgru i mitohondrije što ih čini pokretljivijima i fleksibilnijima za prolaz kroz sitne kapilare. (3)

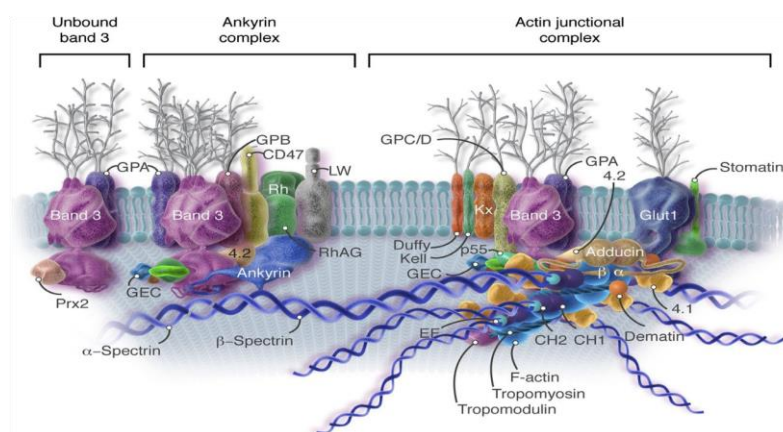
Uloga eritrocita je izmjena plinova, ugljičnog dioksida i kisika između pluća i tkiva. Prilikom udisaja, atmosferski zrak ulazi u dišni sustav gdje se vlaži. Vlaženjem se atmosferski zrak razrjeđuje, a posljedično se smanjuju parcijalni tlakovi plinova koji su u njemu zastupljeni. Parcijalni tlak kisika u alveolama je veći nego u kapilarama pa kisik difundira u krvotok kroz mrežu kapilara. U krvotoku se kisik u najvećoj mjeri, oko 98%, veže za hemoglobin, a samo mali udio, oko 2%, se otapa u krvi. Hemoglobin je proteinska molekula unutar eritrocita i važan je puferski sustav. Sastavljen je od globinskih lanaca te prostetičke skupine hem. Hem je porfirinska molekula koja se sastoji od četiri ciklički povezana pirolna prstena s atomom željeza u sredini molekule. Željezo u hemu nalazi se u električki nabijenom obliku, kao Fe^{2+} ion ili Fe^{3+} ion. Jedini koristan oblik koji je sposoban vezati kisik je Fe^{2+} jer reverzibilno veže kisik i omogućava njegov prijenos do tkiva. Jedna molekula hemoglobina sadrži četiri vezna mjesta za kisik. Vezivanjem prve molekule kisika dolazi do konformacijskih promjena u molekuli hemoglobina te se svaka iduća molekula kisika lakše veže. Kisik vezan za hemoglobin, odnosno oksihemoglobin, odlazi u tkiva. Povećana potrošnja kisika u tkivima smanjuje njegov parcijalni tlak u međustaničnoj tekućini. Malo smanjenje parcijalnog tlaka kisika uzrokuje znatno oslobađanje kisika iz hemoglobina. Neki od faktora koji utječu na oslobađanje kisika s hemoglobina su temperatura, hormoni, nusprodukt glikolize u eritrocitima, 2,3-bifosfoglicerat (BPG) te pH. (3)

Metaboličkom potrošnjom, kisik u tkivima prelazi u ugljični dioksid. Ugljični dioksid se transportira na više načina. Mali udio ugljičnog dioksida otapa se u plazmi te krvotokom odlazi do plućnih kapilara te difundira u alveole i biva izdahnut. Veliki udio, oko 70%, prenosi se kao bikarbonatni ion. Ugljični dioksid difundira u kapilare, a zatim u eritrocite. U eritrocitu enzim karbanhidraza katalizira nastajanje ugljične kiseline iz ugljičnog dioksida i vode koja potom disocira na vodikov ion i bikarbonatni ion. Vodikov ion se veže za hemoglobin što ukazuje na pufersko djelovanje hemoglobina. Koncentracija bikarbonatnih iona nakon disocijacije je veća u eritrocitu nego u plazmi te bikarbonatni ioni zbog koncentracijskog gradijenta prelaze u plazmu, a u eritrocite ulaze kloridni ioni. Taj fenomen poznat je kao pomak klorida. (3)

1.3. Eritrocitna membrana

Eritrocitna membrana je baš kao i sve stanične membrane sastavljena od lipida i proteina, a od ostalih membrana se razlikuje po različitom udjelu proteina i lipida. Unutrašnja i vanjska strana membrane su različitog sastava što je nužno za vektorske procese kao što je izmjena tvari. (4) Membranski lipidi čine prepreku između stanične i izvanstanične tekućine. Uloga lipidnog dvosloja je selektivna propusnost stanice. Najvećim dijelom, lipidi eritrocitne membrane su iz skupina fosfolipida i kolesterola. Najzastupljeniji fosfolipidi su fosfatidilkolin i sfingomijelin na vanjskoj strani membrane te fosfatidiletanolamin i fosfatidilserin na unutarnjoj strani membrane. (5) Što se tiče membranskih proteina, oni čine oko 50% eritrocitne membrane. Njihova glavna uloga je prijenos tvari. Razlikujemo integralne proteine koji se protežu kroz membranu te periferne proteine koji su slabo vezani uz lipide ili integralne proteine. (4) Najvažniji integralni proteini su proteini za izmjenu aniona (vrpca 3) te glikoforini. Proteini za izmjenu aniona su višeprolazni proteini i važni su u izmjeni tvari. Glikoforini A, B i C su transmembranski proteini koji kroz membranu prolaze samo jednom i neki njihovi polimorfizmi tvore krvne grupe, kao što je MNS sustav antigena. Na unutarnjoj strani membrane se nalaze periferni proteini. Njihova uloga je očuvanje oblika i prilagodljivosti. Glavni je periferni protein spektrin, odgovoran za

prilagodljivost membrane zbog specifičnog načina povezivanja dimera spektrina u tetramere. Spektrin sadrži četiri vezna mjesta za ostale periferne proteine. Ankirin povezuje spektrin i vrpce 3, čime se spektrin vezuje za membranu. Aktin povezuje spektrin i protein 4.1, globularni protein koji je povezan s membranskim proteinima glikoforinima A i C čime je pojačana veza trojne strukture protein 4.1 – aktin – spektrin s eritrocitnom membranom. Protein 4.9, adducin i tropomiozin su periferni proteini. (5) Na površini eritrocitne membrane nalaze se ugljikohirati u obliku glikoproteina i glikolipida. Njihova uloga je signalizacija i interakcija s ostalim stanicama, a nalaze se i u receptorskim kompleksima. (4)



Slika 1. Model eritrocitne membrane¹. (6)

Izvor: Samuel E. Lux IV. Anatomy of the red cell membrane skeleton: unanswered questions. Figure 2. Blood. 2016;127:187-199.

<https://doi.org/10.1182/blood-2014-12-512772> (preuzeto: 10.7.2019.)

1.4. Eritrocitni antigeni

Na površini eritrocita nalaze se razne proteinske i ugljikohidratne molekule. Dio tih molekula ima sposobnost izazivanja imunog odgovora i nazivaju se antigeni. Antigeni su sve one molekule ili dijelovi molekula koje ulaskom u tijelo stimuliraju imunski sustav domaćina da proizvodi protutijela. Reakcija organizma na antigen naziva se

¹ Na slici je prikazan raspored otkrivenih membranskih i perifernih proteina.

imuni odgovor. Specifično mjesto na antigenu koje veže protutijela zove se antigenska determinanta ili epitop. Na sposobnost antigena da izazove imuni odgovor, odnosno na njegovu imunogeničnost, utječe nekoliko faktora. To su filogenetska udaljenost, molekularna masa antigena, dostupnost antigena antigen - predočnim stanicama te građa antigena. Po svojoj strukturi, antigeni su najčešće proteini. Također antigeni mogu biti i polisaharidi često vezani s nekim drugim tvarima kao što su proteini. Lipidi i nukleinske kiseline postaju imunogenični u spoju s primjerice ugljikohidratima i proteinima. (7)

Antigene na eritrocitima svrstavamo u krvne grupe. Krvnu grupu čini jedan ili više antigena koje kontrolira jedan genski lokus ili dva blisko povezana homologna gena s malim ili nezamjetljivim varijacijama između njih. Većina antigena krvnih grupa čine glikoproteini te je njihova antigenska specifičnost određena oligosaharidom ili slijedom aminokiselina od kojih se sastoji. Do sad je sekvencirano 36 gena koji kodiraju krvne grupe te su određeni njihovi polimorfizmi. (8) Većina polimorfizama kod krvnih grupa je rezultat točkastih mutacija tj. zamjene aminokiselina, a uzroci mogu biti i alternativno RNA prekrojanje te neujednačen crossing-over. (9) Svi do sad pronađeni antigeni spadaju u jednu od 4 klasifikacije: sisteme, kolekcije, antigene visoke učestalosti i antigene niske učestalosti. (8)

Sistem čini jedan ili više antigena koje kontrolira jedan genski lokus ili dva i više blisko povezanih homolognih gena među kojima postoji slaba rekombinacija ili kod kojih izostaje rekombinacija. Kolekcije čine serološki, biokemijski ili genetički povezani antigeni. Antigeni niske učestalosti su antigeni čija je incidencija manja od 1%.

Antigene visoke učestalosti čine antigeni čija je incidencija veća od 90%. (8)

Svaki antigen je određen šesteroznamenkastim brojem. Prve tri znamenke odnose se na sistem kojem antigen pripada, a posljednje tri na specifično taj antigen. Da bi nastala nova krvna grupa, treba biti zadovoljeno nekoliko kriterija. Antigen mora biti definiran ljudskim aloprotutijelom, mora biti nasljeđen, geni koji kodiraju tu krvnu grupu moraju biti identificirani i sekvencirani te lokacija tih gena na kromosomu mora biti poznata. U slučaju da broj nekog antigena postane neadekvatan zbog novih otkrića, taj broj postaje opslolentan i ne može ga se više koristiti. (8)

Tablica 1. Učestalost najznačajnijih eritrocitnih antigena² (10)

Izvor: Ivanković Z. Grgičević i sur. Transfuzijska medicina u kliničkoj praksi. Tablica 20-1. Medicinska naklada: Zagreb; 2006. str. 242

Sustav	Najznačajniji antigeni	Učestalost (%)
ABO	A	43-49
	B	10-14
	0	45-48
Rh	D	80-88
	C	73-75
	c	80-82
	E	26-29
	e	96-98
K	K	8-9
	K	>99
Jk	Jk ^a	75-80
	Jk ^b	70-75
Fy	Fy ^a	40-45
	Fy ^b	54-58
MNSs	M	76-79
	N	71-73
	S	54-57
	S	87-90
Lu	Lu ^a	7-8
	Lu ^b	>99
Le	Le ^a	19-22
	Le ^b	70-72
P	P ₁	52-56

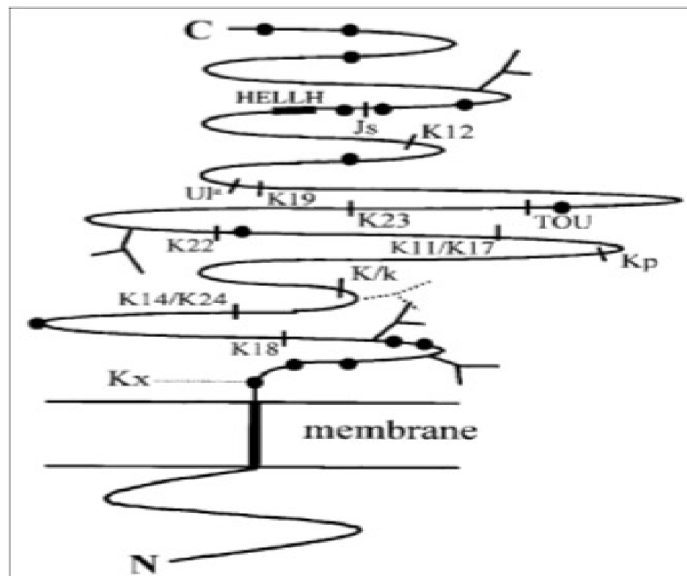
² Prikazani su najučestaliji eritrocitni antigeni. Posebno su istaknuti antigeni Kell sustava. Najučestaliji su k i Lu^b antigeni, a slijede ih e i D antigeni Rh sustava. Najrjeđi antigeni su K antigen te Lu^a antigen.

1.4.1. Kell antigeni

Kell – Cellano sustav antigena, skraćeno Kell sustav, je sustav antigena na površini eritrocita. Kell antigen otkriven je 1946. godine kada su otkrivena anti-Kell protutijela u serumu trudnice koja su uzrokovala hemolitičku bolest fetusa i novorođenčeta. (9) Pronađeno je 36 antigena koja pripadaju ovom sustavu. (8) Kell antigeni se također nalaze na eritrocitima, eritropoetskim stanicama, a u niskoj koncentraciji su pronađeni na stanicama u živčanom sustavu, poprečnoprugastim i srčanim mišićima te stanicama limfatičnih organa. (11)

KEL lokus nalazi se na kromosomu 7q34. KEL gen sadrži 20 egzona te kodira transmembranski glikoprotein tipa II. Kell glikoprotein je disulfidnom vezom povezan s XK membranskim proteinom. (11) Po svojoj strukturi Kell glikoprotein pripada neprilizinskoj obitelji endopeptidaza ovisnih o cinku. Uloga Kell glikoproteina kao endopeptidaze je pretvaranje prekurosra endotelina u biološki aktivne peptide, a specifična reakcija je aktivacija izopeptida endotelina-3 koji je važan vazokonstriktor. (12)

XK membranski protein je transportni protein na eritrocitnoj membrani. Disulfidnom vezom je povezan sa Kell glikoproteinom. Genski lokus ovog proteina je na kraćem kraku X kromosoma, u regiji Xp21. Izostanak ekspresije ovog proteina, poznat je kao McLeod sindrom. McLeod sindrom karakterizira abnormalni oblik eritrocita poznat kao akantocitoza te mišićna distrofija s kasnim početkom, a kod nekih osoba se javljaju i neurološki problemi. U nedostatku Xk proteina dolazi i do izostanka ekspresije Kell antigena na površini eritrocita. (13)



Slika 2. Kell glikoprotein i Kx protein³. (9)

Izvor: Daniels G. Human blood groups. Fig. 7.1. Second edition [Internet]: Blackwell Publishing Company; 2002. Str. 297. Dostupno na: <https://www.wvtv.be/documenten/56a7cd62c4f1c1e52a74529487d01c0f.pdf>, (Preuzeto 15.8.2019.)

Neki antigeni Kell sustava su u aleličnom odnosu, a dio ih je samostalno eksprimiran. Polimorfizmi Kell antigena rezultat su točkastih mutacija. Dije se na antigene s visokom i niskom učestalošću. Antigeni visoke učestalosti su: k, Kp^b, Ku, Js^b, K11, K12, K13, k-like, K18, K19, Km, K22, TOU i RAZ. Antigeni niske učestalosti su: K, Kp^a, Js^a, UI^a, K17, (Wk^a), Kp^c, K23, K24 (Cls) i VLAN. Antigeni koji čine najčešće fenotipove su: K, k, Kp^a, Kp^b, Js^a i Js^b. (9)

K i k su kodominantni aleli što znači da se antigeni nasljeđeni od oba roditelja fenotipski izražavaju na eritrocitnoj membrani. Najčešći fenotip je K-/k+, a javlja se kod 91% bijelaca i 98% crnaca. K i k polimorfizmi rezultat su točkaste mutacije gdje dolazi

³ Slika prikazuje Kell transmembranski protein i Kx membranski protein na eritrocitnoj membrani koji su međusobno povezani disulfidnom vezom. Na Kell proteinu su istaknuti antigeni koji čine najčešće fenotipove (k/K, Kp^b/Kp^a, Js^b/Js^a).

do zamjene treonina 193 u metionin 193 u slijedu aminokiselina kod K antigena što utječe na glikolizaciju molekule i potencijalno na jaču imunogeničnost K antigena. Učestalost K antigena kod bijelaca je 9%, a k antigena 99,8%. K i k antigeni su razvijeni pri rođenju te se mogu pronaći kod fetusa u ranim stadijima prenatalnog razvoja. Što se tiče učestalosti ovih antigena, k antigen ima visoku incidenciju u svim populacijama, dok je visoka incidencija K antigena zabilježena kod stanovnika Arapskog i Sinajskog poluotoka. (9)

Kp^a i Kp^b antigeni otkriveni su nedugo nakon K i k antigena. Istraživanja su pokazala da se K i Kp^a antigeni ne naslijeđuju od istog roditelja. Zajedno se naslijeđuju, odnosno u cis odnosu su K i Kp^b te k i Kp^a antigeni. (9)

Js^a i Js^b antigeni su otkriveni su 1958. godine. Js^b antigen javlja se kod svih osoba europskog podrijetla, dok je fenotip Js^a+/Js^b prisutan kod negroidne populacije. (9)

Ku antigen izražen je kod svih osoba koje imaju Kell antigene. Izostanak ili K-nul (K₀) fenotip rezultat je nasljeđivanja recesivnih gena u homozigota te predstavlja kompletni izostanak svih antigena Kell sustava. (9)

1.5. Antieritrocitna protutijela

Protutijela su velike proteinske molekule koje zajedno s antigenom čine imunokompleks. Čimbenici su humoralne imunosti i služe kao biljeg za raspoznavanje cilja drugim imunim obrambenim mehanizmima. Izlučuju ih plazma stanice koje nastaju diferencijacijom B limfocita nakon dodira s tuđim antigenom. Također, protutijela mogu biti i vezana za površinu limfocita B te tada predstavljaju receptor za antigen. Osnovna građevna jedinica protutijela je monomer, četveroločana molekula sastavljena od dva para istovrsnih polipeptidnih lanaca, a različitog broja aminokiselina koje čine te polipeptidne lance. Ti lanci nazivaju se laki i teški lanci, a međusobno su povezani disulfidnim vezama. Polipeptidni lanci koji čine protutijela nisu linearni već savijeni te čine kuglaste strukture tj. domene ili regije. Svi laki lanci sastavljeni su od 220 aminokiselina, a sastoje se od jedne varijabilne (V_L) domene i jedne konstantne domene (C_L). Teški lanci sastavljeni su od 440 do 550 aminokiselina, a sastoje se od

jedne varijabilne te tri ili četiri konstantne domene, ovisno o razredu protutijela koje grade. I laki i teški lanci sastavljeni su od varijabilnih i konstantnih domena. Varijabilne domene lakih i teških lanaca čine vezno mjesto za antigen. Monomer se još može podijeliti prema funkciji određenih dijelova na 3 ulomka. To su dva istovrsna Fab ulomka koja sadrže vezno mjesto za antigen te Fc ulomak koji određuje biološka svojstva protutijela neovisno o njegovoj specifičnosti. Pet je glavnih razreda imunoglobulina, IgA, IgD, IgE, IgG i IgM protutijela. Ova podjela u razrede se temelji na razlikama u konstantnoj domeni teških lanaca, no i tu se nalaze razlike prema kojima se dalje protutijela grupiraju u podrazrede. (14)

Antieritrocitna protutijela su protutijela na antigene izražene na površini eritrocita. Nastaju kao posljedica imunizacije domaćina nakon transfuzije nepodudarnim pripravcima i u trudnoći. Uzrokuju transfuzijske reakcije i hemolitičku bolest fetusa i novorođenčeta, bolesti čije posljedice variraju od slabih reakcija pa sve do fatalnih ishoda. Tijekom primarne imunizacije stvaraju se IgM protutijela, a u periodu od dva tjedna do 6 mjeseci nakon stvaranja IgM, stvaraju se i IgG protutijela. U početku su protutijela poliklonalna, a s vremenom sazrijevaju u monoklonalna tj. specifična za određeni antigen te se na taj način reakcija pospješuje. U procesu imunizacije sudjeluju antigen predočne stanice i pomoćničke T stanice koje stimuliraju B limfocite da prozivode protutijela. Ovaj mehanizam specifičan je za proteinske antigene. Što se tiče ugljikohidratnih antigena, oni izravno stimuliraju samo limfocite B te imunizacijom na ugljikohidratne antigene nastaju IgM protutijela koja uglavnom nisu od kliničke važnosti jer ne reagiraju pri tjelesnoj temperaturi stoga ih se naziva i hladnim „protutijelima”. Ona IgM protutijela koja su od kliničke važnosti uzrokuju intravaskularnu hemolizu. IgG protutijela reagiraju na tjelesnoj temperaturi, oblažu eritrocite te tako pospješuju uništavanje eritrocita unutar retikuloendotelnog sustava. Zahvaljujući memorijskim stanicama imuna reakcija kod svakog idućeg susreta s poznatim antigenom je brža. IgG protutijela, i to IgG₁ i IgG₃, aktiviraju sustav komplementa te češće uzrokuju ekstravaskularnu hemolizu, odnosno raspad eritrocita u retikuloendotelnom sustavu, posebice u slezeni. Trećinu svih protutijela čine RhD, trećinu ostala protutijela iz Rh sustava, a trećinu ne-RhD protutijela, među kojima su i anti-Kell protutijela. (10)

Tablica 2. Učestalost i vrsta antieritrocitnih protutijela u imuniziranih trudnica⁴ (15)

Izvor: Hašpl-Hundrić Ž., Grgičević D. Transfuzijsko liječenje u opstetriciji i ginekologiji. Tablica 42-1. U: Grgičević i sur. Transfuzijska medicina u kliničkoj praksi. Zagreb: Medicinska naklada; 2006. Str. 422.

Vrsta antieritrocitnog protutijela	Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu N=301
Anti-D	64,8
Anti-C	6,9
Anti-c	3,3
Anti-E	7,3
Anti-K	11
Anti-MNS	5,3
Anti-Jk ^a	0,3
Anti-Jk ^b	4,3 ⁵⁶

1.5.1. Anti - Kell antieritrocitna protutijela

Imunizacija Kell antigenima posljedica je nepodudarnih transfuzija i različitih antigena Kell sustava na majčinim i dječjim eritrocitima. Antigen K izrazito je imunogeničan. Često izaziva imunizaciju nakon jedne doze nepodudarnog pripravka. Kod dvije trećine imunizacija koje nisu rezultat RhD imunizacije, pronađena su anti-K protutijela. Anti-K protutijela su IgG protutijela, podrazreda IgG₁. Imuna anti-Kell protutijela, koja nastaju senzibilizacijom domaćina na strane eritrocitne antigene u trudnoći ili pri

⁴ U Tablici 2. prikazana je vrsta i učestalost antieritrocitnih protutijela u imuniziranih trudnica pri Hrvatskom zavodu za transfuzijsku medicinu. Učestalost je prikazana u postotcima. Posebno je istaknuto anti-Kell protutijelo, koje po učestalosti slijedi anti-D protutijelo.

transfuzijskom liječenju, uzrok su hemolitičkih transfuzijskih reakcija te hemolitičke bolesti fetusa i novorođenčeta. Mehanizam djelovanja anti-K protutijela razlikuje se od mehanizma djelovanja anti-RhD protutijela. S obzirom da su Kell antigeni izraženi na progenitorskim stanicama eritroidne loze, anti-K protutijela vežu se za antigene na tim stanicama te suprimiraju eritropoezu. Zabilježeni su slučajevi Kell imunizacija kod kojih je uzrok imunizacije infekcija bakterijama *E. coli*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Enterococcus faecalis* te *Morganella morganii* te su nastala prirodna anti-Kell protutijela, IgA razreda, zbog senzibilizacije domaćina na antigene slične Kell antigenima. (9)

Anti-k su protutijela na antigen k. S obzirom da je to antigen visoke učestalosti, rijetko dolazi do imunizacije. Uzrok je akutne i odgođene hemolitičke transfuzijske reakcije, a HBFN uzrokovana ovim protutijelima ima tešku kliničku sliku. (9)

Anti-Kp^a i anti-Kp^b protutijela potencijalni su uzrok komplikacija u transfuzijskoj medicini. Anti-Kp^a je rijetko povezan s HBFN, dok su anti-Kp^b uzrok HBFN te odgođene transfuzijske reakcije. Autoprotutijela na Kp^b antigen uzrok su autoimune hemolitičke anemije. Anti-Js^a i anti-Js^b uzrokuju HBFN te hemolitičku transfuzijsku reakciju. Anti-Js^b su uglavnom pronađena kod pripadnika negroidne populacije te je zabilježen slučaj HBFN kod koje je došlo do fetalnog hidropsa. Anti-Ku protutijela su protutijela kod imuniziranih osoba s K0 fenotipom te dovode do HBFN i hemolitičke transfuzijske reakcije. Kod transfudiranih pacijenata, javlja se transfuzijska reakcija s bubrežnim zatajenjem i anurijom. (9)

1.6. Transfuzijske reakcije uzrokovane anti-Kell protutijelima

Transfuzijska reakcija definirana je kao neželjeni događaj koji je posljedica liječenja krvnim pripravcima. Transfuzijske reakcije dijele se prema mehanizmu nastanka i djelovanja na imunološke i neimunološke. Prema vremenu nastanka reakcije dijele se na rane, koje nastaju unutar 24 sata te kasne koje nastaju nakon 48 sati. (16)

Rane imunološke reakcije su akutna hemolitička reakcija, febrilne, alergijske i anafilaktičke reakcije, transfuzijom uzrokovana ozlijeda pluća. U kasne imunološke reakcije spadaju odgođena hemolitička reakcija, poslijetransfuzijska purpura te reakcija odbacivanja presatka protiv primatelja (engl. graft versus host disease). U neimunološke transfuzijske reakcije ubrajaju se preopterećenje krvožilnog sustava, intoksikacija citratom, hipotermija te bakterijske i virusne infekcije. Akutne hemolitičke reakcije vodeći su uzrok smrtnosti u transfuzijskom liječenju. Uzrokovane su nepodudarnošću davatelja i primatelja. Simptomi nastaju naglo, a hemoliza nastupa unutar krvnih žila. Kod primatelja se javlja osjećaj žarenja na mjestu venepunkcije, nelagoda, tresavica, zimica, bol u abdomenu i prsištu, hipotenzija, anurija, oligurija te se razvija diseminirana intravaskularna koagulacija. Pri ovakvoj simptomatologiji, važno je djelovati brzo i pacijenta zbrinuti što hitnije. Najčešći razlog nastanka ovakvog događaja je pogreška u identifikaciji pacijenta ili doze. Odgođene hemolitičke reakcije javljaju se od 48 sati pa do 18 dana nakon transfuzijskog liječenja. Posljedica je porasta titra antieritrocitnih protutijela. Najčešći simptomi su anemija, umor, zimica, tresavica te često zbog nespecifične kliničke slike ostaju neprepoznate. (16)

Transfuzijske reakcije uzrokovane anti-Kell protutijelima nerijetko su opasne. Anti-K, anti-k, anti-Kp^a te anti-Js^b protutijela dokazano uzrokuju transfuzijske reakcije. Anti-Ku protutijela mogu biti uzrok hemolitičkih anemija s fatalnim ishodom. Anti-Kell protutijela uzrokuju akutne i odgođene hemolitičke reakcije. (17)

1.7. Hemolitička bolest fetusa i novorođenčeta uzrokovana anti-Kell protutijelima

Fetus sadržava dio antigena tkivne srodnosti od majke te dio od oca koji je stran majčinom imunološkom sustavu. Nedostatak ekspresije antigena HLA sustava tj. antigena tkivne podudarnosti na dijelovima posteljice, lučenje hormona koji potiskuju imuni odgovor te izrazita ekspresija proteina koji reguliraju sustav komplementa na fetalnomaternalnom spoju štite fetus od majčinog imunološkog sustava. Dio stanica

djeteta kao što su trombociti, limfociti i eritrociti mogu prolaziti kroz posteljicu te na taj način imunizirati majku. U prvoj trudnoći dolazi do senzibilizacije majke na djetetove antigene te nastaju aloprotutijela. IgG protutijela zbog svoje male molekularne mase sposobna su prolaziti posteljicu što može pridonijeti zaštiti djeteta čiji imunološki sustav nije dovoljno kompetentan za zaštitu od bolesti, ali može i uzrokovati probleme kao što je hemolitička bolest fetusa i novorođenčeta. (18)

Hemolitička bolest fetusa i novorođenčeta (skr. HBFN) posljedica je lize eritrocita djeteta zbog imunizacije majke na djetetove eritrocitne antigene te prolazak IgG protutijela kroz posteljicu. Najčešći uzrok HBFN je RhD imunizacija koja se danas sprječava adekvatnom profilaksom, poznatom kao anti-D imunoglobulin. Uzrok ove bolesti mogu biti protutijela na druge eritrocitne antigene kao što su antigeni Kell, Duffy i Kidd sustava. Prolaskom protutijela kroz posteljicu, ona se vežu na fetalne eritrocite, dolazi do aglutinacije te posljedično destrukcije eritrocita. Razvoj kliničke slike ovisi o vrsti protutijela, količini i vremenu pojavljivanja protutijela u cirkulaciji. Plod na destrukciju eritrocita odgovara pojačanom eritropoezom pa su u krvnoj slici zastupljeni razvojni oblici eritrocita. Hemoliza je uglavnom intenzivnija od stvaranja dostatnog broja eritrocita. Dolazi do anemije i hipoksije, hipoalbuminemije te hiperbilirubinemije koja može biti uzrok novorođenačkog kernikterusa. U teškim slučajevima kad hemoglobin padne ispod kritičnih vrijednosti, dolazi do fetalnog hidropsa te smrti. (19)

Što se tiče HBFN uzrokovane anti-Kell protutijelima, ona se razlikuje od HBFN uzrokovane RhD protutijelima po mehanizmu nastanka, a time i u kliničkoj slici, dijagnostici i liječenju. Anti-Kell protutijela uzrokuju supresiju eritropoeze jer su Kell antigeni izraženi i na razvojnim oblicima eritrocitima. To je razlog zašto je kod takve djece izraženija anemija naspram hiperbilirubinemije. (20)

Razina hemoglobina u trudnoći raste linearno uz standardnu devijaciju od 12g/L. Sniženje od dvije do četiri standardne devijacije upućuje na umjerenu, a više od četiri standardne devijacije na tešku anemiju fetusa. Nastali laktati iz hemoliziranih eritrocita djeteta sve teže se uklanjaju putem posteljice. Kada se hemoglobin spusti ispod pet

standardnih devijacija dolazi do volumnog opterećenja krvožilnog sustava fetusa, dekompenzacije, fetalnog hidropsa te smrti fetusa. (18)

Metode dijagnostike i prognoze bolesti su određivanje titra protutijela, fetalna genotipizacija pomoću kordocenteze ili iz slobodne fetalne DNA u majčinoj krvi, određivanje razine bilirubina u plodovoj vodi amniocentezom te dopplersko mjerenje maksimalne brzine protoka u središnjoj moždanoj arteriji. (18)

Određivanje titra protutijela je semikvantitativna metoda. Titar protutijela predstavlja količinu protutijela koju B limfociti proizvedu kada prepoznaju specifični antigenski epitop. Titar se određuje u razrijeđenom serumu pomoću testnih eritrocita na kojima se nalaze antigeni komplementarni protutijelu koje se određuje. Rezultat ovog testa prikazuje se kao inverzna vrijednost razrijeđenja. (21) Ova metoda ne korelira s težinom i ishodom hemolitičke bolesti fetusa i novorođenčeta uzrokovanom anti-Kell protutijelima. (22)

Kordocenteza ili perkutana aspiracija krvi pupkovine je prenatalni dijagnostički postupak kojim se uzima uzorak fetalne krvi iz pupkovine nakon 18. tjedna gestacije. Ne provodi se rutinski jer je riječ o invazivnoj metodi. Koristi se kariotipizaciju te ispitivanje hematološkog stanja fetusa. Amniocenteza je medicinski postupak u prenatalnoj dijagnostici u kojem se uzima uzorak plodove vode iz amnionske vreće koja okružuje fetus. Provodi se između petnaestog i dvadesetog tjedna trudnoće te se smatra postupkom s niskim rizikom od komplikacija. Bilirubin, koji se određuje u plodovoj vodi, služi kod dijagnostike hemolitičke bolesti fetusa i novorođenčeta. Fiziološki, bilirubin kod trudnica pada nakon 20 tjedna trudnoće, no kod imuniziranih trudnica vrijednost bilirubina raste zbog hemolize eritrocita. Izvodi se kod trudnica čiji je titar protutijela 16, a u nekim slučajevima 8, primjerice kod Kell imunizacije. Mjeri se spektrofotometrijski pri optičkoj gustoći od 450 nm. Rezultati se unose na Lileyev dijagram nakon 28 tjedna trudnoće te se te vrijednosti strogo prate do poroda. Što se tiče HBFN uzrokovane anti-Kell protutijelima, ova metoda nije pouzdana jer ne dolazi do većeg raspada eritrocita već do supresije eritropoeze. Mjerenje maksimalne brzine protoka krvi u središnjoj moždanoj arteriji je metoda koja je zamijenila amniocentezu.

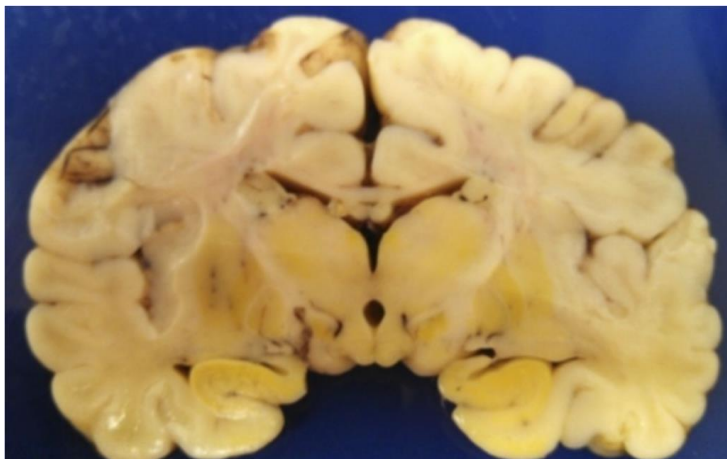
Metoda se zasniva na promjeni viskoznosti krvi uslijed hemolize. S obzirom da se radi o neinvazivnom postupku, spriječen je i porast titra protutijela koji može biti uzrokovan fetomaternalnim krvarenjem koje može nastati prilikom amniocenteze. Test ima zadovoljavajuću točnost i pozitivnu i negativnu prediktivnu vrijednost kod težih oblika HBFN uzrokovanih anti-Kell protutijelima. (18, 22)

Fetalna genotipizacija iz slobodne fetalne DNA u majčinoj krvi je neinvazivna metoda kojom se određuju geni koji kodiraju eritrocitne antigene djeteta pomoću PCR-a (engl. polymerase chain reaction). Tijekom trudnoće, količina fetalne DNA raste. Za genotipizaciju Kell antigena, preporuča se testiranje nakon 20. tjedna. Kod genotipizacije Kell antigena, detektira se polimorfizam jednog nukleotida na egzonu 6. (23)



Slika 3. Normalan pigment djeteta te žuti pigment uslijed neonatalne hiperbilirubinemije. (24)

Izvor: Medicina zdravstveni portal. Ginekologija. Neonatalna hiperbilirubinemija. [Internet] Dostupno na: <https://zdravlje.eu/2011/04/01/neonatalna-hiperbilirubinemija/> (Preuzeto: 10.7.2019.)



Slika 4. Kernikterus. (25)

Izvor: Christensen R.D., Yaish H.M., Wiedmeier S.E. et al. Neonatal death suspected to be from sepsis was found to be kernicterus with G6PD deficiency. Pediatrics. Dec 2013;132:6



Slika 5. Fetalni hidrops. (26)

Izvor: PregMed. Birth Defects. Hydrops Fetalis [Internet].

Dostupno na: <https://www.pregmed.org/hydrops-fetalis.htm> (Preuzeto: 10.7.2019.)

2. CILJ RADA

Cilj rada je prikazati učestalost imuniziranih trudnica s anti-Kell protutijelima te objasniti način i važnost određivanja anti-Kell protutijela u transfuzijskoj medicini.

Glavni ciljevi rada su:

1. Prikaz pozitivnih indirektnih antiglobulinskih testova s anti-Kell antieritrocitnim protutijelima u populacijama: predoperativna bolnička populacija i populaciji trudnica na prvom i kontrolnom testiranju;
2. Usporedba broja identificiranih anti-Kell antieritrocitnih protutijela s ostalim otkrivenim iregularnim protutijelima kod trudnica;
3. Usporedba broja identificiranih anti-Kell antieritrocitnih protutijela kod trudnica na prvom testiranju i kontrolnom testiranju.

3. IZVORI PODATAKA I METODE

3.1. Imunohematološko ispitivanje

Imunohematološka ispitivanja podrazumijevaju određivanje eritrocitnih krvnih grupa, prijetransfuzijsko ispitivanje te ispitivanje transfuzijskih reakcija. Ispitivanje krvnih grupa provodi se kod svih pacijenata za koje postoji vjerojatnost transfuzijskog liječenja. Obuhvaća fenotipizaciju ABO i RhD antigena, određivanje prisutnosti antieritrocitnih protutijela te kod novorođenčadi obavezni direktni antiglobulinski test. Prijetransfuzijsko ispitivanje indicirano je kad je zatraženo transfuzijsko liječenje. Sastoji se od provjere krvne grupe, određivanja prisutnosti antieritrocitnih protutijela te križne probe. Ispitivanje transfuzijskih reakcija provodi se nakon prijavljenih reakcija ili sumnji na istu. Odnosi se na ponovnu provjeru krvne grupe, određivanje antieritrocitnih protutijela u serumu, plazmi ili vezanih za eritrocite, njihovu eluciju s eritrocita, a potom identifikaciju i određivanje njihove specifičnosti. (10)

U imunohematologiji, metoda aglutinacije eritrocita je temelj dijagnostičkih testova zbog svoje jednostavnosti, brzine i osjetljivosti. Aglutinacija je imunološka reakcija antigena i protutijela pri čemu se nastali kompleksi vežu u veće nakupine, aglutinate. Prema in vitro aglutinaciji, protutijela dijelimo na kompletna i inkompletna. Kompletna protutijela su IgM razreda te samostalno uzrokuju aglutinaciju eritrocita, dok su inkompletna IgG protutijela te tvore aglutinate tek pri dodatku antiglobulinskog reagensa ili neke druge tvari koja će pridonijeti aglutinaciji. Antiglobulinski reagens čine protutijela na ljudska IgG protutijela ili C3 komponentu komplementa, faktore koji oblažu eritrocite. Postoje i testovi kojima je u osnovi liza eritrocita, a koja nastaje kao rezultat vezanja protutijela koja aktiviraju sustav komplementa. Testovi koji se zasnivaju na ovim metodama su direktni i indirektni antiglobulinski test. (10)

Indirektni antiglobulinski test (IAT) je metoda kojom se utvrđuje prisutnost antieritrocitnih protutijela in vitro s testnim eritrocitima na kojima se nalaze poznati antigeni. Uzorak za ovaj test su serum ili plazma te se ispituje reakcija protutijela u uzorku s testnim eritrocitima. Ako je ovaj test pozitivan, sljedeći koraci su utvrditi

mehanizam nastanka protutijela, dakle odrediti radi li se o autoprotutijelima ili aloprotutijelima, odrediti specifičnost te kliničku važnost otkrivenog protutijela. (10)

Direktni antiglobulinski test (DAT) obavezni je dio dijagnostike bolesti uzrokovanih antieritrocitnim protutijelima. Radi se o testu kojim se dokazuju protutijela ili C3 komponenta komplementa vezana za eritrocite in vivo. Prvi korak je uporaba polispecifičnog antiglobulinskog reagensa kojim se dokazuje postojanje vezanih protutijela ili C3 komponente komplementa. Ako je taj test pozitivan, koristi se monospecifični antiglobulinski reagens za određivanje radi li se o protutijelu i/ili C3 komponenti komplementa te određivanje razreda i podrazreda protutijela. Ovaj test je izrazito visoke osjetljivosti pa se posljedično tome javljaju i lažno pozitivne vrijednosti. (10)

Svaku trudnicu se nakon utvrđivanja trudnoće, uz ostale laboratorijske pretrage, šalje i na transfuzijsko ispitivanje. To ispitivanje uključuje fenotipizaciju AB0 i RhD antigena na eritrocitima majke te ispitivanje prisutnosti antieritrocitnih protutijela. Testiranje se ponavlja u 28. i 34. tjednu trudnoće. Potrebu za ponovnim testiranjem dio stručnjaka smatra neopravdanom zbog velike materijalne potrošnje u odnosu na smrtnu ishode povezane s bolestima uzrokovanih imunizacijom. U slučaju pozitivnog testa, prati se titar protutijela o kojem ovisi daljnja dijagnostika i liječenje. (20)

Test pretraživanja antieritrocitnih protutijela je primarni i najpouzdaniji test za otkrivanje trudnoće u riziku od razvoja hemolitičke bolesti fetusa i novorođenčeta. Test se izvodi u indirektnom antiglobulinskom testu. Tri su metode izvođenja testa, a to su metoda u epruveti, u mikrostupcu i mikropločama. Od komercijalnih testova u mikrostupcu najzastupljeniji su Diamed GmbH Biorad, Cressier, Switzerland te Ortho Clinical Diagnostics, New Jersey, USA. Identifikacija tj. određivanje specifičnosti antieritrocitnih protutijela se primarno izvodi u indirektnom antiglobulinskom testu. Diamed GmbH i Ortho Clinical Diagnostics danas koriste testne eritrocite s obično 11 poznatih eritrocitnih antigena. Postoje i drugi testovi kao što su testiranje s enzimom tretiranim testnim eritrocitima, elucija protutijela s eritrocita, adsorpcija protutijela iz seruma na gelu i neutralizacija protutijela antigenima topivim u serumu. Nakon identifikacije, određuje se klinička važnost protutijela. (27)

3.2. Standardni postupci kod trudnica s klinički značajnim anti-Kell antieritrocitnim protutijelima otkrivenima na prvom testiranju u trudnoći

Prema podacima iz literature, anti-Kell antieritrocitna protutijela pokazala su se klinički značajnima pri nastanku hemolitičke bolesti fetusa i novorođenčeta.

1. Nakon ustanovljenog pozitivnog IAT-a na rutinskom testiranju u trudnoći, vrši se identifikacija vrste antieritrocitnog protutijela. Prema dobroj laboratorijskoj praksi, ispunjava se Karton ispitivanja senzibilizacija u trudnoći („Zeleni karton”). Kod izdavanja nalaza s trudnicom je potrebno obaviti informativni razgovor o otkrivenim protutijelima te ispuniti Zeleni karton. Preporuka je testirati oca na antigene iz Kell sustava. (27,28)

2. Sljedeći korak je testiranje oca djeteta. Određuje se očeva ABO krvna grupa, prisustvo RhD antigena te ostali eritrocitni antigeni kao što je Kell antigen. Ovo testiranje je važno ako je trudnica u prijašnjim trudnoćama imala drugog partnera ili je tijekom života bila podvrgnuta transfuzijskom liječenju. Ako otac nema Kell antigen tj. antigen od interesa daljnji koraci nisu potrebni. Rezultati ovog testiranja također se upisuju u Zeleni karton. (27,28)

3. Ako otac ima antigen od interesa tj. antigen iz Kell sustava, radi se fetalna genotipizacija iz majčine krvi. Taj uzorak se šalje Hrvatskom zavodu za transfuzijsku medicinu, Odjelu za molekularnu dijagnostiku. Ovaj uzorak se preporuča slati tek nakon 16. gestacijskog tjedna. (27,28)

4. Titar protutijela podrazumijeva određivanje onih protutijela koja su klinički značajna. Titar protutijela se prati ako je otac pozitivan na Kell antigen. Prije 20. tjedna

gestacije, titar protutijela se određuje svako 3-8 tjedana, a nakon svako 2-4 tjedna. Dinamika određivanja titra ovisi o specifičnosti protutijela i prijašnjim nalazima. (27,28)

5. Nakon rođenja, novorođenčetu se određuje prisustvo Kell antigena te se izvodi direktni antiglobulinski test. Rezultati se potom upisuju u računalni program te Zeleni karton. (27,28)

3.3. Standardni postupci kad su anti-Kell protutijela otkrivena prvi put na kontrolnom testiranju u trudnoći

Koraci potrebni pri otkrivanju anti-Kell protutijela na kontrolnom testiranju su:

1. Prvi korak kod pronalaska iregularnih protutijela na kontrolnom ispitivanju je identifikacija antieritrocitnog protutijela. Evidentira se pojačavanje protutijela u Kartonu ispitivanja senzibilizacija u trudnoći („Zeleni karton”). Kod izdavanja nalaza, s trudnicom se obavlja informativni razgovor o otkrivenim protutijelima te se ispunjava dio Zelenog kartona predviđen za to. (27,28)

2. Potom se određuje titar toplih protutijela. Određuje se u vremenskim intervalima svaka 2-4 tjedna, a dinamika određivanja ovisi o prethodnim nalazima titra i specifičnosti protutijela. (27,28)

3. Nakon rođenja, novorođenčetu se određuje krvna grupa, prisustvo Kell antigena te se izvodi DAT. Rezultati se upisuju u računalni program te Zeleni karton. (27,28)

3.4. Test pretraživanja antieritrocitnih protutijela

Test pretraživanja antieritrocitnih protutijela ili indirektni antiglobulinski test (skr. IAT) je metoda kojom se utvrđuje prisutnost antieritrocitnih protutijela in vitro s testnim eritrocitima na kojima se nalaze poznati antigeni. Uzorak za ovaj test su serum ili plazma te se ispituje reakcija protutijela ili C3 komponente komplementa u tom uzorku s testnim eritrocitima. (10)

IAT se izvodi u staklenim epruvetama te se koristi ispitanikov serum ukoliko nije drukčije indicirano. Pri izvođenju testa, važno je pridržavati se uputa proizvođača te pridržavati se roka valjanosti reagensa. IAT se može izvoditi u fiziološkom mediju te u mediju niske ionske jakosti. (29)

A) Postupak IAT-a u fiziološkom mediju (29) :

1. Dvije staklene epruvete obilježe se imenom i prezimenom ispitanika te oznakama P1 i P2;
2. u svaku epruvetu se dodaju po dvije kapi seruma ispitanika;
3. u epruvetu obilježenu s P1 dodaje se 1 kap suspenzije testnih eritrocita iz bočice 1, a u epruvetu obilježenu s P2 dodaje se 1 kap suspenzije testnih eritrocita iz bočice 2;
4. treskanjem se resuspendiraju eritrociti i serum;
5. epruvete se inkubiraju na sobnoj temperaturi 5 minuta;
6. nakon inkubacije, epruvete se centrifugiraju na 1000 rpm 1 minutu;
7. epruvete se potom lagano protresu te se utvrđuje prisustvo aglutinata ili hemolize te se rezultat zabilježi;
8. zatim sljedi pranje eritrocita. Pranje eritrocita vrši se u automatskoj peračici ili ručno;
9. nakon pranja eritrocita, u epruvete se dodaju dvije kapi polispecifičnog antihumanog globulinskog reagensa te se sadržaj ponovno resuspendira;

10. epruvete je potrebno opet centrifugirati na 1000 okretaja 1 minutu;
11. epruvete se zatim lagano protresu te se utvrđuje prisutnost hemolize ili aglutinata, rezultati se zabilježe;
12. u epruvete kod kojih je rezultat ispitivanja negativan, odnosno gdje nije došlo do hemolize ili aglutinacije, dodaje se 1 kap Coombs kontrole;
13. te epruvete se ponovno centrifugiraju na 1000 rpm 1 minutu, a potom se određuje prisustvo aglutinata ili hemolize te se bilježi rezultat. Prisustvo pozitivne Coombs kontrole potvrda je dobro izvedenog testa. Ako izostane pozitivna reakcija s Coombs kontrolom, IAT je potrebno ponoviti.

B) Postupak IAT-a u mediju niske ionske jakosti (29) :

Postupak je isti kao i za IAT u fiziološkom mediju, samo se nakon očitavanja rezultata nakon inkubacije na sobnoj temperaturi dodaju dvije kapi LISS te se inkubira na 37°C tijekom 30 minuta.

C) Rezultati (29):

1. Pozitivan rezultat je aglutinacija ili hemoliza nakon inkubacije na sobnoj temperature ili 37°C.
2. Pozitivan rezultat je prisutnost aglutinacije nakon dodatka antihumanog globulinskog reagensa u epruvetu.
3. Negativan rezultat je odsutnost aglutinacije nakon dodatka antihumanog globulinskog reagensa u epruvetu.

3.5. Titar antieritrocitnih protutijela ispitanika

Ovim testom se dokazuju antieritrocitna protutijela ispitanika iz seruma. Test se izvodi na način da se miješaju ispitanikov serum i testni eritrociti krvne grupe 0 na kojima se nalaze antigeni komplementarni protutijelima za koje se sumnja da se nalaze u ispitanikovu serumu. (10)

A) Postupak izvođenja titra antieritrocitnih protutijela ispitanika (30):

1. U epruveti se pomiješaju 2 kapi pacijentovog seruma te 1 kap 3-5 %-tne suspenzije testnih eritrocita;
2. nakon centrifugiranja pri 1000 rpm, epruvete se protresu te se gleda jesu li prisutni aglutinati;
3. epruvete se inkubiraju sat i 30 minuta na 37°C u toploj kupelji. U ovu mješavinu mogu se dodavati otopine koje će ubrzati reakciju, primjerice dvije kapi otopine niske ionske jakosti – LISS čime se vrijeme inkubacije skraćuje na 30 minuta;
4. epruvete se ponovno centrifugiraju na 1000 rpm i ponovno se određuje prisustvo aglutinata;
5. dodaje se fiziološka otopina u 100 puta većem volumenu od volumena eritrocita te se oni resuspendiraju;
6. epruvete se ponovno centrifugiraju na 3000 rpm;
7. otopina iznad sedimenta se odlije;
8. postupci 5., 6. i 7. se ponavljaju još dvaput;
9. nakon zadnjeg pranja se fiziološka otopina potpuno odstrani;
10. u epruvetu se dodaju dvije kapi antiglobulinskog reagensa te se eritrociti resuspendiraju laganim protresanjem;
11. epruveta se centrifugira na 1000 rpm;

12. laganim protresanjem i naganjanjem naprijed-nazad određuje se prisutnost eritrocitnih aglutinata.

4. REZULTATI

Istraživanje o učestalosti Kell antieritrocitnih protutijela provedeno je u Centru za transfuzijsku medicinu u Splitu. Rezultati obuhvaćaju razdoblje od početka 2014. do 6. svibnja 2018. godine, a podaci su preuzeti iz sustava e-Delphyn. Promatran je broj trudnica s Kell imunizacijom u odnosu na predoperativnu bolničku populaciju. Uspoređen je broj Kell imunizacija kod trudnica na prvom i kontrolnom testiranju. Uspoređen je broj trudnica s anti-Kell protutijelima te trudnica s ostalim iregularnim protutijelima.. Tablice i grafikoni izrađeni su u programu Microsoft Office Excel 2016.

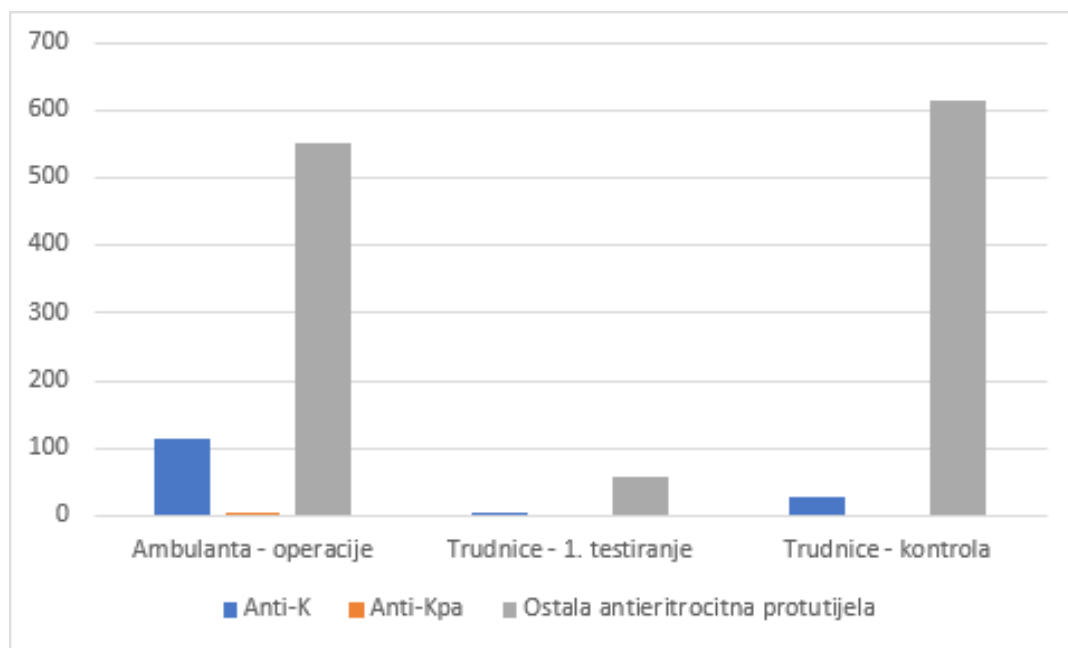
Tablica 3. Broj pronađenih antieritrocitnih protutijela u populacijama

Antieritrocitno protutijelo	Ambulanta operacije	Trudnice – prvo testiranje	Trudnice – kontrolno testiranje
Anti-D	106	7	172
Anti-C	35	1	44
Anti-E	77	0	54
Anti-c	32	2	60
Anti-e	1	0	0
Anti-f	1	0	0
Anti-C ^w	12	0	6
Anti-K	113	2	26
Anti-Kp ^a	4	0	0
Anti-Fy ^a	20	1	34
Anti-Fy ^b	3	0	3
Anti-Jk ^a	19	0	10
Anti-Jk ^b	1	0	0
Anti-Le ^a	67	14	78
Anti-Le ^b	10	8	18
Anti-S	12	4	23
Anti-M	134	21	130
Anti-N	4	0	0
Anti-P ₁	5	0	0
Anti-Lu ^a	2	0	2
Hladno protutijelo	4	0	2
Anti-A1	1	0	0
Anti-G	6	0	0
Anti-Rh17	1	0	0
Ukupno	670	60	662

Tablica 4. Učestalost anti Kell protutijela u pojedinim populacijama u odnosu na ostala identificirana antieritrocitna protutijela

Prijem	Anti – K (%)	Anti – Kp^a (%)	Ostala antieritrocitna protutijela (%)	Ukupni broj identificiranih protutijela (%)
Ambulanta – operacije	113 (16,87)	4 (0,60)	553 (82,53)	670 (48,84)
Trudnice – prvo testiranje	2 (3,33)	0 (0,00)	58 (96,67)	60 (4,37)
Trudnice – kontrola	26 (4,05)	0 (0,00)	616 (95,95)	642 (46,79)
Ukupno (%)	145 (10,57)		1227 (89,43)	1372

Od ukupno 1372 identificirana antieritrocitna protutijela u svim populacijama, zabilježeno je 145 (10,57%) imunizacija anti-Kell protutijelima. U ambulantnoj predoperativnoj populaciji identificirano je 670 (48,84%) antieritrocitnih protutijela od kojih su 113 (16,87%) bila anti-K, a samo 4 (0,6%) anti-Kp^a protutijela. Od ukupno 60 (4,37%) identificiranih antieritrocitnih protutijela kod trudnica na prvom testiranju, kod njih 2 (3,33%) pronađena su anti-K protutijela. Od ukupno 642 (46,79%) identificiranih protutijela kod trudnica na kontrolnom testiranju, kod njih 26 (4,05%) pronađena su anti-K protutijela. Veća učestalost anti-K i anti-Kp^a protutijela u predoperativnoj ambulantnoj populaciji upućuje na češće slučajeve imunizacije u toj populaciji ispitanika.



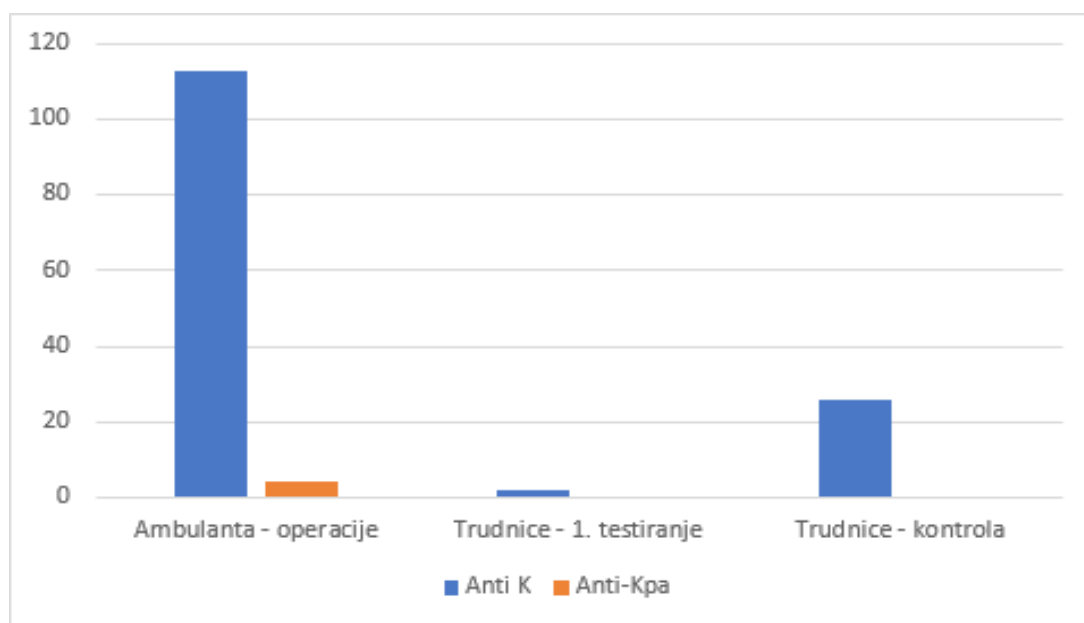
Slika 1. Usporedba identificiranih anti-Kell (anti-K i anti-Kp^a) protutijela s ostalim identificiranim antieritrocitnim protutijelima u pojedinim populacijama.

Tablica 5. Učestalost anti-Kell protutijela u pojedinim populacijama

Prijem	Anti-K (%)	Anti-Kp ^a (%)	Ukupno (%)
Ambulanta – operacije	113 (96,58)	4 (3,42)	117 (80,69)
Trudnice – 1. testiranje	2 (100)	0 (0,00)	2 (1,38)
Trudnice – kontrola	26 (100)	0 (0,00)	26 (17,93)
Ukupno ident. anti-K protutijela (%)	141 (97,24)	4 (2,76)	145

Od ukupno 145 ispitanika s identificiranim anti-Kell protutijelima, kod 141 (97,24%) ispitanika pronađena su anti-K, a kod 4 (2,76%) ispitanika anti-Kp^a protutijela. U ambulantnoj predoperativnoj populaciji bilo je 117 (80,69%) Kell imunizacija, od kojih je 113 (96,58%) imunizacija bilo s anti-K, a 4 (3,42%) s anti-Kp^a protutijelima. Kod 2

(1,38%) trudnice anti-K protutijela otkrivena su na prvom testiranju. Kod 26 (17,93%) trudnica anti-K protutijela su potvrđena na kontrolnom testiranju.

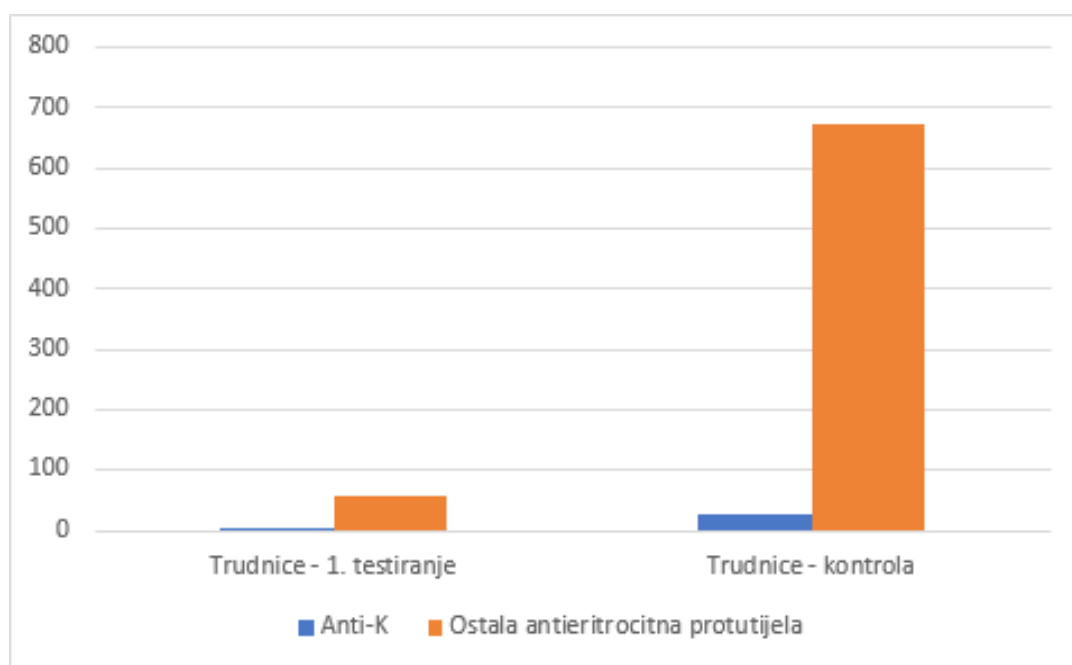


Slika 2. Učestalost anti-Kell (anti-K i anti-Kp^a) protutijela u pojedinim populacijama.

Tablica 6. Učestalost anti – Kell antieritrocitnih protutijela u odnosu na ostala iregularna antieritrocitna protutijela kod trudnica

Prijem	Anti – K (%)	Ostala antieritrocitna protutijela (%)	Ukupno identificiranih protutijela u populaciji
Trudnice – prvo testiranje	2 (7,14)	58	60
Trudnice – kontrola	26 (92,86)	616	642
Ukupno identificiranih protutijela	28 (3,99)	674 (96,01)	702

Od ukupno 702 identificirana antieritrocitna protutijela kod trudnica, kod njih 28 (3,99%) trudnica pronađena su anti-K protutijela što ne ukazuje na visoku učestalost anti-K protutijela, a time ni na visoku učestalost hemolitičke bolesti fetusa i novorođenčeta kod trudnica uključenih u istraživanje. Od 28 trudnica kod kojih su pronađena anti-Kell protutijela, kod 2 (7,14%) trudnice novootkrivena su anti-K na prvom testiranju, a kod 26 (92,86%) trudnica anti-K protutijela potvrđena su na kontrolnom testiranju.



Slika 3. Učestalost anti-Kell antieritrocitnih protutijela u odnosu na ostala nepravilna antieritrocitna protutijela kod trudnica.

5. RASPRAVA

Visoka učestalost anti-Kell antieritrocitnih protutijela u ambulantnoj predoperativnoj populaciji u odnosu na Kell imunizaciju kod trudnica upućuje na veći rizik razvoja transfuzijskih reakcija uzrokovanih nepodudarnošću Kell antigena primatelja i davatelja krvi u slučaju transfuzije nepodudarnim pripravcima. Anti-K protutijela kod trudnica u odnosu na predoperativnu ambulantnu populaciju nisu pokazala veliku učestalost stoga ni hemolitička bolest fetusa i novorođenčeta uzrokovana ovim protutijelima nije česta pojava. Zbog nedostupnosti potrebne dokumentacije, u ovom istraživanju nije popraćen ishod trudnoća ispitivanih trudnica te postojanje komplikacija pri porodu. Pregledom dostupne literature ustanovljeno je da određivanje titra anti-Kell protutijela kod imuniziranih trudnica ne korelira s težinom anemije niti je dobar prognostički faktor u predviđanju ishoda bolesti. Najmanje invazivna i najosjetljivija metoda za utvrđivanje Kell antigena djeteta, a time i predviđanje razvoja hemolitičke bolesti fetusa i novorođenčeta je fetalna genotipizacija iz slobodne fetalne DNA iz majčine krvi. S obzirom da je K antigen izrazito imunogeničan, preporuka je liječiti žene u generativnoj dobi Kell podudarnim pripravcima. Važno je osigurati da je cijeli postupak ispitivanja senzibilizacije na Kell antigene sljediv od zaprimanja uzorka do izdavanja nalaza. Dobro vođena dokumentacija, edukacija osoblja, redovite unutarnje i vanjske kontrole kvalitete osiguravaju pouzdanost laboratorijskih nalaza koji čine važan dio dijagnostike hemolitičke bolesti fetusa i novorođenčeta uzrokovane anti-Kell protutijelima.

6. ZAKLJUČCI

1. Anti-Kell antieritrocitna protutijela najučestalija su u ambulantnoj predoperativnoj populaciji s 80,69% identificiranih anti-Kell protutijela u razdoblju od početka 2014. do 6. svibnja 2018. godine.
2. Anti- Kell protutijela kod trudnica niske su učestalosti. Učestalost iznosi 3,99%, u odnosu na ostala antieritrocitna protutijela. Rijetki slučajevi Kell imunizacija kod trudnica posljedica su liječenja žena u generativnoj dobi Kell negativnim koncentratima eritrocita.
3. U većini slučajeva, tj. u 92,86% trudnica s anti-Kell protutijelima, radilo se o primarnoj imunizaciji anti-Kell protutijelima.

7. LITERATURA

1. Balen S. Transfuzijska medicina: jučer, danas, sutra. U: Značaj transfuzijske medicine u kliničkoj praksi. KBC Rijeka i Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci. 14. znanstvena tribina 29. lipnja 2017. Str: 3-4. Dostupno na: http://info.hazu.hr/upload/File/aba/14.-znanstvena-tribina_HAZU_Rijeka.pdf [pristupljeno: 10.6.2019].
2. Learoyd PA. Short history of blood transfusion [Internet]. National blood service, Scientific & Technical training. Dostupno na: <https://pdfs.semanticscholar.org/ed32/28ef2794c095d61be9f92f45cd6e8dc2d9bf.pdf> [pristupljeno: 10.6.2019]
3. Guyton Arthur C., Hall John E. Medicinska fiziologija. Dvanaesto izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2012. Str. 413-419, 495-504.
4. Karlson P. Biološke membrane. U: Karlson P. Biokemija za studente kemije i medicine. Osmo izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 1993. Str. 268-92.
5. Murray Robert K, Granner Daryl K. Struktura i funkcija membrana. U: Harperova ilustrirana biokemija. 28. Izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2011. Str. 406-24.
6. Samuel E. Lux IV. Anatomy of the red cell membrane skeleton: unanswered questions. Figure 2. Blood. 2016; 127:187-99. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-12-512772> (preuzeto: 10.7.2019.)
7. Andreis I, Lukinović-Škudar V, Grčević D. i ostali. Antigeni. U: Andreis I., Batinić D., Čulo F., Grčević D., Lukinović-Škudar V., Marušić M. i sur. Imunologija. Sedmo, obnovljeno i dopunjeno izdanje. Medicinska naklada; 2010. Str. 144-51.
8. International Society for blood transfusion [Internet]. Red cell immunogenetics and blood group terminology. Dostupno na: <https://www.isbtweb.org/working-parties/red-cell-immunogenetics-and-blood-group-terminology/> [pristupljeno: 10.6.2019]
9. Daniels G. Human blood groups, second edition [Internet]. Blackwell Publishing Company; 2002. Str. 295.-323. Dostupno na: <https://www.wvtv.be/documenten/56a7cd62c4f1c1e52a74529487d01c0f.pdf> [pristupljeno: 11.6.2019]

10. National Center for Biotechnology Information. Genom Kell metallo-
endopeptidase (Kell blood group) [(*Homo sapiens* (human))]. Gene ID : 3792,
updated on 17-Jun-2019. Dostupno na:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=3792>
[pristupljeno: 20.6.2019]
11. Lee S, Lin M, Mele A et al. Proteolytic Processing of Big Endothelin-3 by the Kell
Blood Group Protein. *Blood*. 1999;94:1440-50. Pubmed PMID: 10438732
12. Russo D, Redman C, Lee S. Association of XK and Kell blood group protein. *J
Biol Chem*. 1998 May 29;273(22):13950-6. Pubmed PMID: 9593744
13. Taradi M. Građa protutijela I antigenskih receptora limfocita B. U: Andreis I.,
Batinić D., Čulo F., Grčević D., Lukinović-Škudar V., Marušić M. i sur.
Imunologija. Sedmo, obnovljeno i dopunjeno izdanje. Medicinska naklada; 2010.
14. Ivanković Z. Osnove imunohematologije i laboratorijskog testiranja. U: Grgičević
D. i sur. *Transfuzijska medicina u kliničkoj praksi*. Medicinska naklada: Zagreb;
2006. Str. 237-239., 247-51.
15. Hašpl-Hundrić Ž, Grgičević D. Transfuzijsko liječenje u opstetriciji i ginekologiji.
Tablica 42-1. U: Grgičević i sur. *Transfuzijska medicina u kliničkoj praksi*. Zagreb:
Medicinska naklada; 2006. Str. 422.
16. Balen S., Sušanj Tomašić E. Transfuzijske reakcije. *Medicina*. 2005;42(41):160-4.
17. Dean L. Blood Groups and Red Cell Antigens [Internet]. Bethesda (MD): National
Center for Biotechnology Information (US); 2005. Dostupno na:
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2261/pdf/Bookshelf_NBK2261.pdf
[pristupljeno: 14.6.2019]
18. Delmiš J., Orešković S. i sur. *Fetalna medicina i opstetricija*. Zagreb: Medicinska
naklada; 2014. Str. 150-151, 341-345.
19. MSD priručnik dijagnostike i terapije [Internet]. Ginekologija, Poremećaji
trudnoće, Fetalna eritroblastoz. Dostupno na: [http://www.msd-
prirucnici.placebo.hr/msdprirucnik/ginekologija/poremecaji-trudnoce/fetalna-
eritroblastoz](http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msdprirucnik/ginekologija/poremecaji-trudnoce/fetalna-eritroblastoz) [pristupljeno: 15.6.2019]

20. Samardžija M, Golubić-Ćepulić B, Gojčeta K. Transfuzijska medicina. U: Topić E., Primorac D., Janković S., Štefanović M. i sur. Medicinska biokemija i laboratorijska dijagnostika u kliničkoj praksi. Zagreb: Medicinska naklada; 2018. Str. 556.
21. Grgičević D, Vuk T. Imunohematologija i transfuzijska medicina. Zagreb: Medicinska naklada; 2000. Str. 56-67.
22. Soumya D. Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn. U: Blood groups. Intech Open. May 16th 2019. Str. 8-11. DOI: 10.5772/intechopen.85316
23. NHS, Blood and transplant [Internet]. International blood group reference laboratory, Molecular diagnostics, Non-invasive fetal genotyping from maternal blood. Dostupno na: <https://ibgrl.blood.co.uk/services/molecular-diagnostics/> [pristupljeno: 20.7.2019]
24. Medicina zdravstveni portal. Ginekologija. Neonatalna hiperbilirubinemija. [Internet] Dostupno na: <https://zdravlje.eu/2011/04/01/neonatalnahiperbilirubinemija/> (preuzeto: 10.7.2019.)
25. Christensen RD, Yaish HM, Wiedmeier SE et al. Neonatal death suspected to be from sepsis was found to be kernicterus with G6PD deficiency. Pediatrics. Dec 2013; 132:6.
26. PregMed. Birth Defects. Hydrops Fetalis [Internet]. Dostupno na: <https://www.pregmed.org/hydrops-fetalis.htm> (Preuzeto: 10.7.2019.)
27. Dajak S. Značaj antieritrocitnih protutijela otkrivenih na kontrolnom testiranju zarazvoj hemolitičke bolesti fetusa i novorođenčeta [disertacija]. Split: KBC Split i Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu; 2011. 17-18., 21-22.
28. Subramanayan R. Kell alloimmunization in pregnancy: Lessons to be learnt. Glob J Transfus Med 2017; 2:64-7.
29. Anđelić M. Laboratorijsko izvođenje imunohematoloških testova klasično u epruveti i u mikrometodama. Završni rad. Split; 2014. Str. 13-15. Dostupno na: <https://zir.nsk.hr/islandora/object/ozs:157/preview>
30. Milinović S. Učestalost antieritrocitnih protutijela u trudnica. Završni rad. Split; 2018. Str.24-25.

8. SAŽETAK

Cilj rada: Cilj rada bio je ispitati zastupljenost broja Kell imunizacija u odnosu na ukupan broj imunizacija kod trudnica. Uspoređena je zastupljenost anti-Kell protutijela u populaciji trudnica i ambulantnoj predoperativnoj populaciji. Uspoređen je broj trudnica s anti-Kell protutijelima na prvom i kontrolnom testiranju.

Izvori podataka i metode: Podaci za ovo istraživanje prikupljeni su iz računalnog programa e-Delphyn te se odnose na ispitanike testirane u Centru za transfuzijsku medicinu u Splitu u period od početka 2014. do 6. svibnja 2018. godine. Imunohematološko ispitivanje podrazumijeva određivanje eritrocitne krvne grupe i test pretraživanja antieritrocitnih protutijela. Test pretraživanja antieritrocitnih protutijela se izvodi u indirektnom antiglobulinskom testu, a ako je test pozitivan, određuje se specifičnost te kod trudnica titar protutijela.

Rezultati: U praćenom razdoblju ukupan broj identificiranih protutijela bio je 1372, od kojih su 145 (10,57%) bila anti-Kell protutijela. Od 145 slučajeva Kell imunizacija, 141 (97,24%) bilo je s anti-K i 4 (2,76%) s anti-Kp^a protutijelima. U ambulantnoj predoperativnoj populaciji bilo je 117 slučajeva (80,69%) Kell imunizacija, od kojih 113 (96,58%) s anti-K i 4 (3,42%) s anti-Kp^a protutijelima. Od ukupno 702 identificirana protutijela kod trudnica, kod 28 (3,99%) trudnica pronađena su anti-K protutijela. Od 28 trudnica s anti-K protutijelima, kod 2 (7,14%) trudnice anti-K protutijela su novootkrivena na prvom testiranju. U 26 (92,86%) trudnica anti-K protutijela su potvrđena na kontrolnom testiranju.

Zaključci: Što se tiče populacije trudnica, samo su dvije trudnice s anti-K protutijelima bile novootkrivene u praćenom razdoblju, a ostalih 26 su potvrđene na kontrolnom testiranju. Značajno mali broj imuniziranih trudnica s anti-K protutijelima u odnosu na ostala otkrivena antieritrocitna protutijela kod ispitanika posljedica su transfuzijskog liječenja žena u generativnoj dobi Kell negativnim koncentratima eritrocita.

9. SUMMARY

Objective: The aim of the study was to examine frequency of Kell immunizations in relation to the total number of immunizations in pregnant women. The frequency of anti-Kell antibodies in the pregnant women and preoperative outpatients was compared. The number of pregnant women with anti-Kell antibodies and preoperative outpatients was compared. The number of pregnant women with anti-Kell antibodies at first and control testing was compared.

Data sources and methods: The data for this study were collected from the e-Delphyn computer program and they are related to examinees tested at the Center for Transfusion Medicine in Split from the beginning of 2014 to May 6, 2018. Immunohematological testing involves the determination of erythrocyte blood groups red blood cell antibody screen. The red blood cell antibody screen is done in an indirect antiglobuline test and if this test is positive, the specificity of this antibody is determined and in pregnant women titer of antibodies as well.

Results: There were 1372 identified antierythrocyte antibodies during the follow-up period, of which 145 (10,57%) were anti-Kell antibodies. Of 145 Kell immunizations, 141 (97.24%) were with anti-K and 4 (2.76%) with anti-Kp^a antibodies. There were 117 (80,69%) cases of Kell immunizations in the preoperative outpatients, of which 113 (96.58%) with anti-K and 4 (3.42%) with anti-Kp^a antibodies. Out of total of 702 antibodies identified in pregnant women, 28 (3.99%) were anti-K antibodies. Of 28 pregnant women with anti-K antibodies, in 2 (7.14%) anti-K antibodies were newly detected at the first testing. In 26 (92.86%) pregnant women, anti-K antibodies were confirmed at the control testing.

Conclusions : Only two pregnant women with anti-K antibodies were newly detected at the first testing in the follow-up period, and the other 26 were confirmed at control testing. Significantly small number of immunized pregnant women with anti-K

antibodies compared to other detected anti-erythrocyte antibodies in the examinees is due to treating women of generative age with Kell negative erythrocyte concentrates.

10. ŽIVOTOPIS

Osobni podaci

Ime i prezime	Duje Razmilović
Datum rođenja	21. prosinca 1997.
Državljanstvo	hrvatsko
Adresa	Mažuranićevo šetalište 15, 21 000 Split
Web adresa	drazmil00@gmail.com

Školovanje

2016. - 2019.	Medicinsko laboratorijska dijagnostika, Odjel zdravstvenih studija sveučilišta u Splitu
2012. – 2016.	Prirodoslovna tehnička škola Split, Ekološki tehničar
2004. – 2012.	Osnovna škola Dobri, Split

Osobne vještine i kompetencije

Strani jezici	Engleski jezik	B2
	Njemački jezik	A1
	Talijanski jezik	A2
Korištenje računala	Rad u operacijskom sustavu Windows, korištenje Microsoft Office paketa	
Vozačka dozvola	B kategorija	