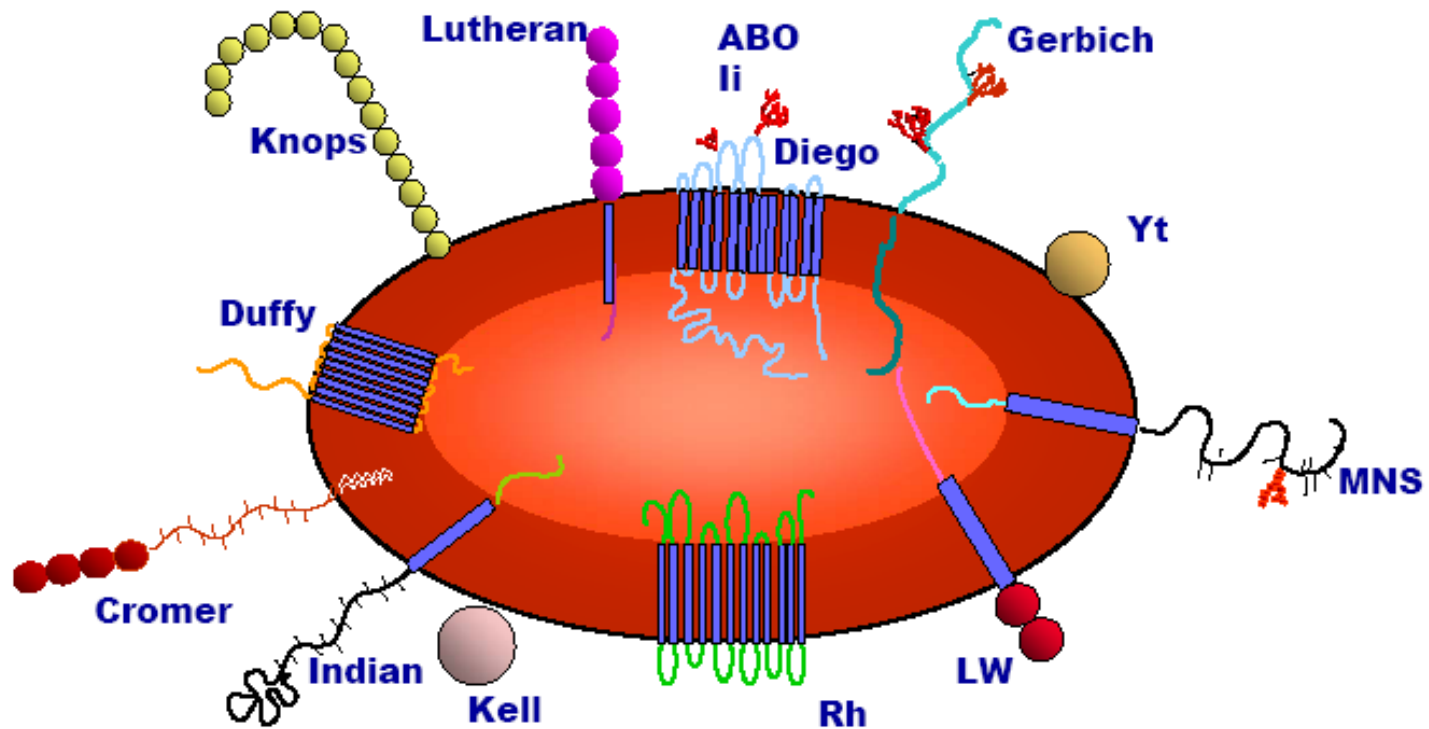


Krevní skupiny erytrocytů

Blood Groups on the RBC



Krevní skupiny /skupinové systémy

- Krevní polymorfizmy
- Antigeny na povrchu membrány erytrocytů
- Produkty jednoho genu nebo komplexu vzájemně souvisejících genů
- Bialelické systémy
- Podléhají pravidlům mendeliánské dědičnosti
- Dnes 26 skupinových systémů s 270 antigeny

Krevní skupiny

- Syntéza:
 - přímo na erythrocytech (nerozpustná forma)
 - v plazmě nebo tělních tekutinách (rozpustná forma)
 - adsorpce z plazmy nejen na erythrocyty, ale také na jiné buňky (nejen krevní, ale i ostatní tkáňové)
- Některé skupiny jsou histokompatibilní (ABO)
- Sloučeniny proteinové nebo sacharidové s biologickými funkcemi
- Detekovatelné různými metodami / serologicky, precizně DNA analýzou
- Aloantigeny, vznikají proti nim protilátky

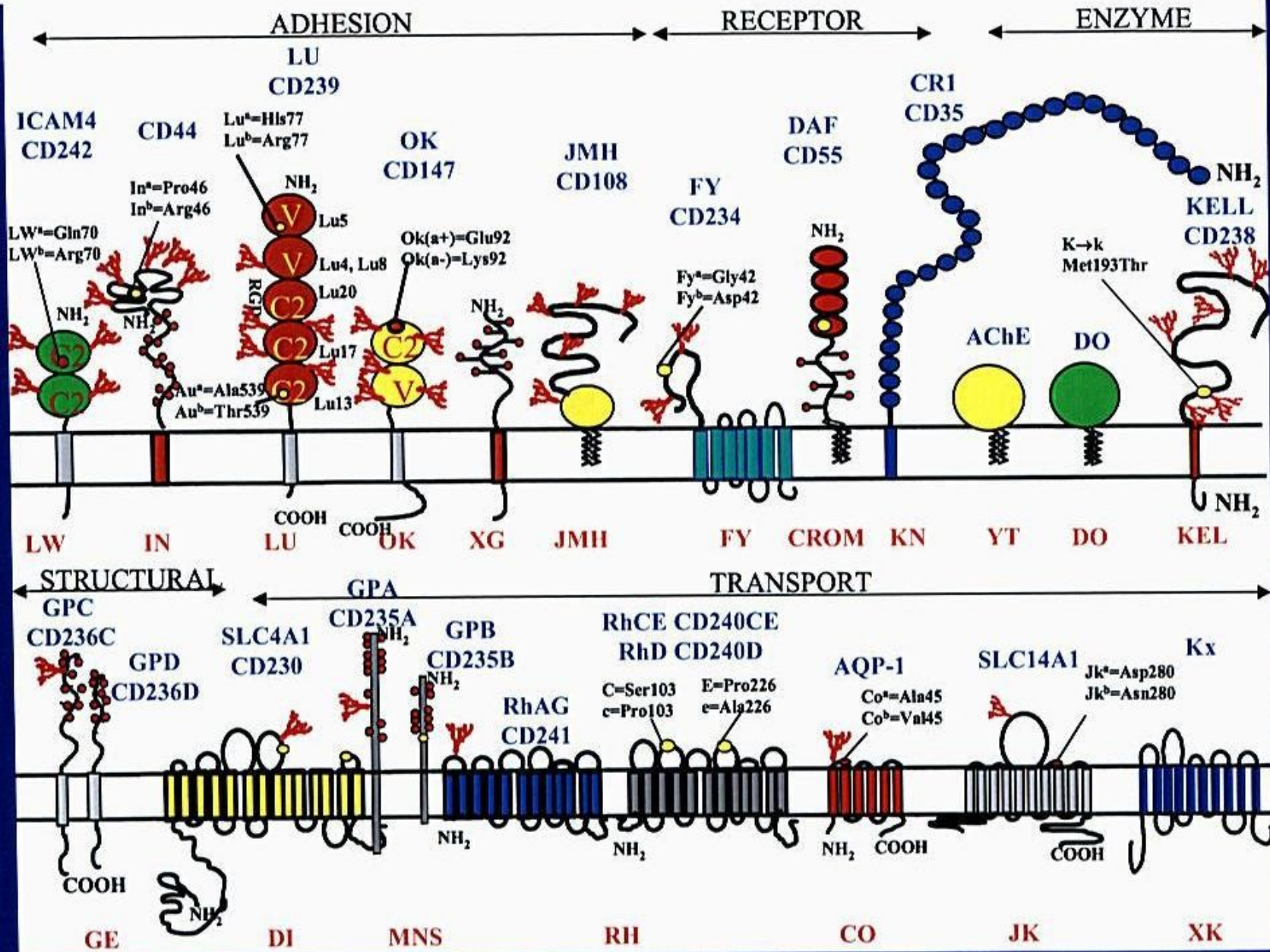
Rozdělení krevních skupin podle funkce v erytrocytu

1. Strukturální skupiny

- Integrální membránové proteiny (traverzují x-krát membránou nebo mají extracelulární N-nebo C-zakončení)

2. Funkční skupiny

- Udržují integritu buňky
- Transportéry
- Aktivní enzymy
- Receptory pro ligandy, adhezivní funkce



Terminologie

ISBT terminologie od r.1980, kontinuální up-date, databaze.

Numerické označení:

- Šestimístné číslo pro antigen (005001 Lu^a)
- První trojčíslí pro systém (005 Lutheran)
- Druhé trojčíslí identifikuje antigen (001Lu^a)
- Systému odpovídá abecední symbol (LU, např. LU 1)
- V genotypu oddělení místem nebo * (LU 1, LU*1)
- Ve fenotypu znaménko + a – pro přítomnost nebo nepřítomnost antigenu (LU:-1,2)

Alternativní označení (běžně používané):

- LU:-1,2 odpovídá fenotyp $\text{Lu}(a-b+)$
- LU:-1.-2 odpovídá Lu_{null} nebo $\text{Lu}(a-b-)$

Dědičnost krevních skupin

- Dědičné znaky jsou řízeny určitými oblastmi chromozomů (geny)
- Geny se vyskytují v párech (gen mateřský/otcovský)
- Varianty genu na molekulární úrovni = alely
- Obvykle dvě alely pro určitý gen (bialelismus), může být i více alel v genu (genový polymorfismus)
- Každý gen kóduje vznik specifického *proteinu* (antigenu), který je typický uspořádáním aminokyselin
- Genotyp = genetická charakteristika jedince, určuje, jaké antigeny mají vznikat (dominantní i recesivní znaky)
- Fenotyp = manifestní znaky (dominantní znaky)

Dědičnost krevních skupin

- Většinou bialelické systémy
- Alela zajišťuje konkrétní fenotypový projev genu
- Alela dominantní/ recesivní/ kodominantní
- Homozygotní jedinec: shodné alely v genu (A/A , B/B, 0/0)
- Heterozygotní jedinec: různé alely v daném lokusu (A/0, B/0, A/B)

AB0 systém - dědičnost

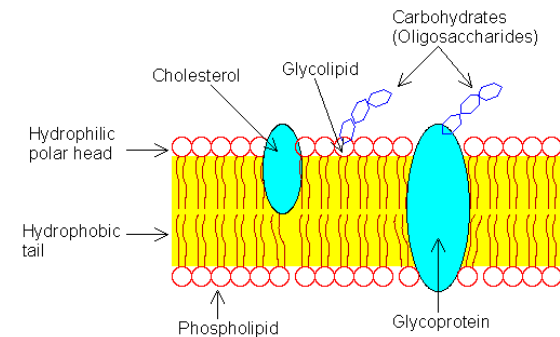
Matka/otec Fenotyp/genotyp	00 0	AA,A0 A	BB,B0 B	AB AB
00 0	00 0	A0,00 A,0	B0,00 B,0	A0,B0 A,B
AA,A0 A	A0,00 A,0	AA,A0, 00 A,0	AB,A0, B0,00 AB,A,B,0	AA,AB, A0,B0 A,AB,A,B
BB,B0 B	B0,00 B,0	AB,A0, B0,00 AB,A,B,0	BB,B0, 00 B,0	AB,BB, A0,B0 AB,B,A
AB AB	A0,B0 A,B	AA,AB, A0,B0 A,AB,B	AB,A0, BB,B0 AB,A,B	AA,AB, BB A,AB,B

Fenotyp a souvislost s laboratorním vyšetřením

- Větší množství antigenu (efekt dávky) u některých homozygotů proti heterozygotům
- Různá síla aglutinační reakce při serologickém vyšetření (silnější reakce u homozygotních typů)
- U některých krevních skupin: Rh, Duffy, MNSs, Kidd

AB0 systém

- nejvýznamnější skupinový systém
- rozpoznání r.1900/Landsteiner
- AB0 gen na 9. chromozomu → alela A a/nebo B a/nebo žádná z nich u krevní skupiny 0
- Produkt genu: antigeny A a/nbo B (jejich průkaz definuje AB0 skupinu)
- Skupina 0 (chybí geny A,B) → antigen H
- Specifické glykoproteiny nebo glykolipidy
- 4 fenotypy A ,B,AB,0



The agglutination of IgM is stronger due to the relatively large size of the IgM antibody, but the nature of the bodily reaction as a result of agglutination with IgG can be more dramatic.^[7]

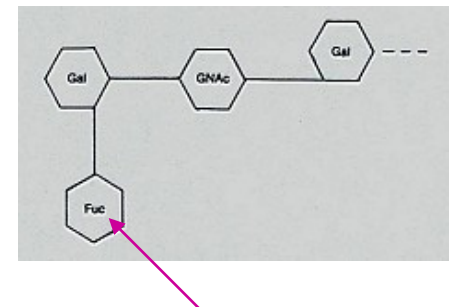
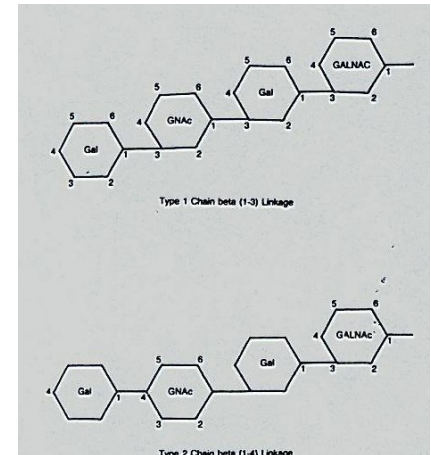
Distribution of ABO and Rh Blood types (averages for each population)

Population	O+	O-	A+	A-	B+	B-	AB+	AB-
Native South Americans ^[8]	100%		-		-		-	
Ireland ^[8]	52%		35%		10%		3%	
Hong Kong ^[9]	40%		26%		27%		7%	
Vietnam ^[8]	45.0%		21.4%		29.1%		4.5%	
Indigenous Australians ^[8]	44.4%		55.6%		-		-	
Germany ^[8]	42.8%		41.9%		11.0%		4.2%	
Bengal ^[8]	22.0%		24.0%		38.2%		15.7%	
Sami people ^[8]	18.2%		54.6%		4.8%		12.4%	
New Zealand ^[10]	38.4%	9.3%	31.8%	6.4%	8.8%	1.6%	3.2%	0.6%
Australia	40%	9%	31%	7%	8%	2%	2%	1%
Finland ^[11]	27%	4%	38%	6%	15%	2%	7%	1%
Sweden	32%	6%	37%	7%	10%	2%	5%	1%
Denmark ^[12]	35%	6%	37%	7%	8%	2%	4%	1%
France	36%	6%	37%	7%	9%	1%	3%	1%
South Korea ^[13]	27.4%	0.1%	34.4%	0.1%	26.8%	0.1%	11.2%	0.05%
United Kingdom ^[14]	37%	7%	35%	7%	8%	2%	3%	1%
United States ^[15]	38%	7%	34%	6%	9%	2%	3%	1%

Other human blood group systems

H antigen = základ pro ostatní ABO antigeny

- gen – enzym – antigen
- součinnost genů FUT1(H) na erythrocytech a FUT2 (Se) v sekrečních epiteliích
- geny kódují **H-transferázu**, která připojuje fukózu ke galaktóze prekursorové substance a vzniká **H antigen**
- H antigen *je nepřímý produkt genu*, glykanové jednotky antigenu obsahují **fukózu**



H antigen

Tkáňová distribuce

- FUT1 v erytroidních tkáních, endotelu, sensorických nervech
- FUT2 v sekretech exokrinních, v epitelích
- často aberantní exprese v maligních bb.

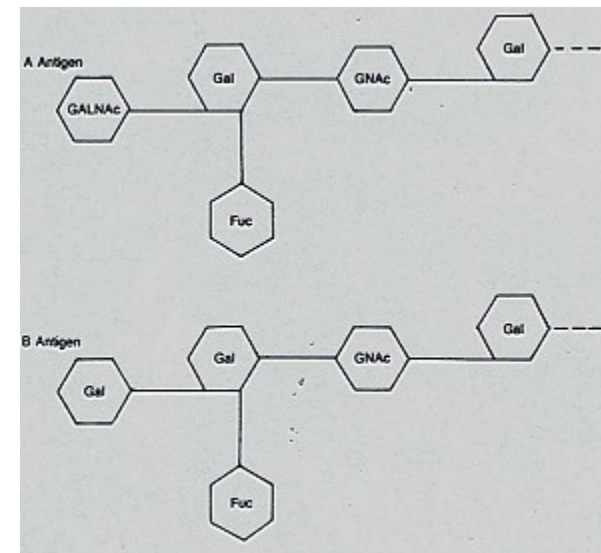
Funkce

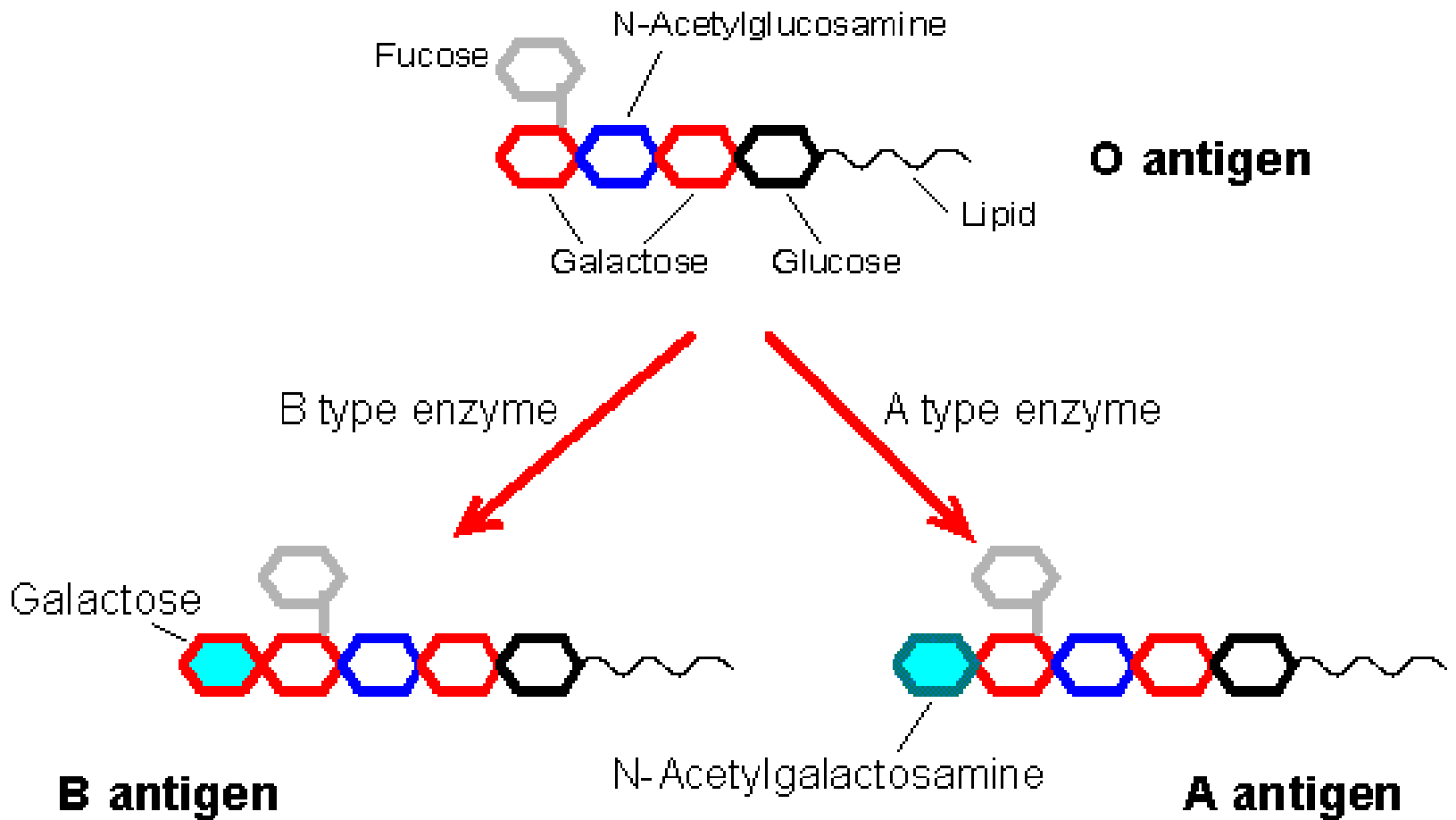
- substrát pro A a B antigeny
- prekurzor Lewis antigenu
- uplatnění v adhezi bb., receptor pro mikroorganismy

Biosyntéza A, B antigenů

Probíhá stejným způsobem, tj. připojením sacharidů specifických pro A nebo B krevní skupinu k H antigenu. Vzniká tím specifický polysacharid A, B nebo AB.

- A alela = **A transferaza** = transfer **GalNAc** na Gal akceptor
- B alela = **B transferaza** = transfer **Gal** na Gal akceptor
- 0 alela = **neaktivní** = neprobíhá substituce oligosacharidů, má H antigen





AB0 sekretorství (vylučovatelství)

- solubilní ABH antigeny/glykoproteiny v tělních tekutinách
- vyžadují gen FUT2(Se)
- Jedinec - nonsekretor se/se nevylučuje ABH antigeny
- 80% osob jsou sekretoři: podle AB0 skupiny mají stejné antigeny v sekretech (A+H, B+H nebo H)
- 20% osob jsou nonsekretoři: v sekretech nemají H ani A nebo B antigeny
- stanovení sekretorství: detekce **ABH substancí** (= rozpustné antigeny) ve slinách nebo geneticky

A skupina: Podskupiny A1 a A2

Kvantitativní rozdíly

- A1 nejfrekventovanější
- A1(A1B) silná exprese A antigenu (více aktivní enzym)
 - Počet Ag míst/ery pro A1: $8-12 \times 10^5$
pro A2: $1-4 \times 10^5$

Kvalitativní rozdíly

- A1 ery obsahují antigen A + A1
 - A2 ery obsahují pouze antigen A
- ⇒ Vznik anti-A1 protilátky u osob A₂ nebo A₂B

Slabé skupiny

- fenotypové změny- zeslabení A a B antigenu
- také změny antigenů v sekretech
- příčina: genové mutace, vzácné alely provázené změnou fenotypu
např. $A_3, A_x, A_m, A_{el}, A_{end}$ / B_3, B_x, B_m, B_{el}
- způsobují problémy při určení skupiny
- provází je nález nepravidelných AB0 protilátek

Získané změny antigenů

Získaný antigen B u osob skupiny A (vzácně naopak):

- slabší reakce získaného antigenu B
- provází onemocnění GIT – deacetylase A sacharidu pomocí bakteriálních enzymů – zůstává sacharid podobný B antigenu – cross reakce s dg. sérem anti-B

Zeslabení antigenů (obvykle A antigen)

- leukemie (inaktivace A,B transferaz nebo inaktivace H transferazy se sekund. zeslabením A,B), malignity (neutralizace dg.séra solubilními A,B substancemi)

Chimérické antigeny

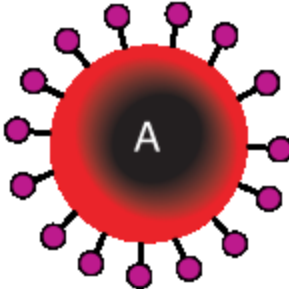
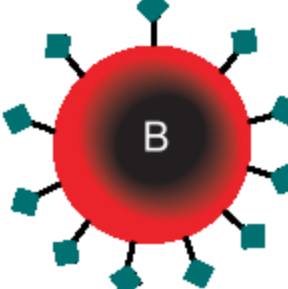
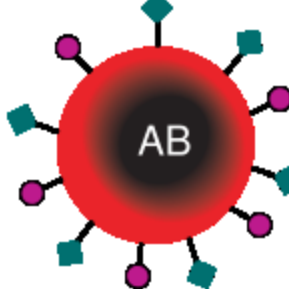
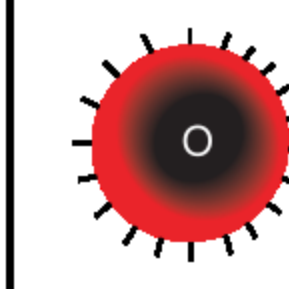
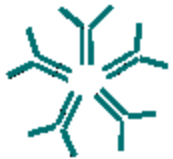

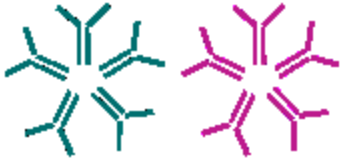



- potransfuzní, potransplantační, F-M krvácení, genetická chiméra

H - deficitní fenotypy

- homozygotní forma inaktivního FUT1 genu pro syntézu H antigenu (h/h)
- nevzniká H transferáza a H antigen, chybí prekurzor pro A a B antigeny
- fenotypově skupina 0, které chybí také antigen H a má proto navíc přirozenou protilátku anti-H
- dva typy tohoto hh fenotypu:
 - nonsekretoři/**typ Bombay** (nemají antigeny H,A,B Ag na erys ani v sekretech + pravidelně mají v séru kromě anti-A a anti-B tepelnou a klinicky významnou anti-H)
 - sekretoři/**typ paraBombay** (mají H a A,B Ag v sekretech, ale ne na erys + mohou mít v séru nevýznamnou protilátku anti-HI)

AB0 protilátky

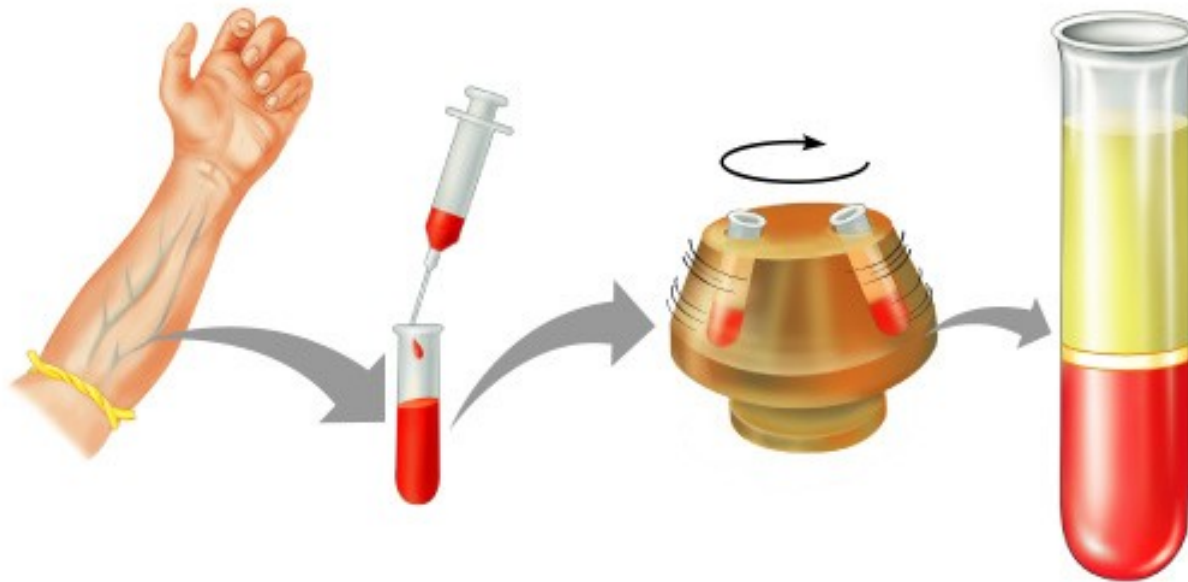
- odlišují AB0 systém od všech ostatních skupin – jsou to **pravidelné protilátky a odpovídají** AB0 antigenům
- „přirozené“ protilátky v důsledku „imunizace“ mikrobiálními substancemi podobnými A,B antigenům
- AB0 protilátky IgM, ale i IgG nebo IgA
- dvě protilátky: anti-A a anti-B/ u osob 0 také anti-A,B
- od 4.měsíce věku dostatečný titr, stacionární během života, změny při imunizujících stavech v těhotenství,
- vzácně jiný nález: novorozenci, slabé skupiny, nemoci
- transfuzích

	Group A	Group B	Group AB	Group O
Red blood cell type	 <p>A</p>	 <p>B</p>	 <p>AB</p>	 <p>O</p>
Antibodies present	 <p>Anti-B</p>	 <p>Anti-A</p>	<p>None</p>	 <p>Anti-A and Anti-B</p>
Antigens present	 <p>A antigen</p>	 <p>B antigen</p>	 <p>A and B antigens</p>	<p>No antigens</p>

Slabé A podskupiny - serologie

Skupina	Anti-A sérum	Anti-AB sérum	Anti-A protilátka	Anti-A1 protilátka	Antigeny sliny sekret.
A ₃	mf	mf	ne	někdy	A H
A _{end}	mf	mf	ne	někdy	H
A _x	-/w	+	-/+	často	H (A _x)
A _m	-/w	-/+	ne	ne	A H
A _y	-	-	ne	ne	A H
A _{el}	-	-	někdy	ano	H

Laboratorní vyšetření AB0 skupiny



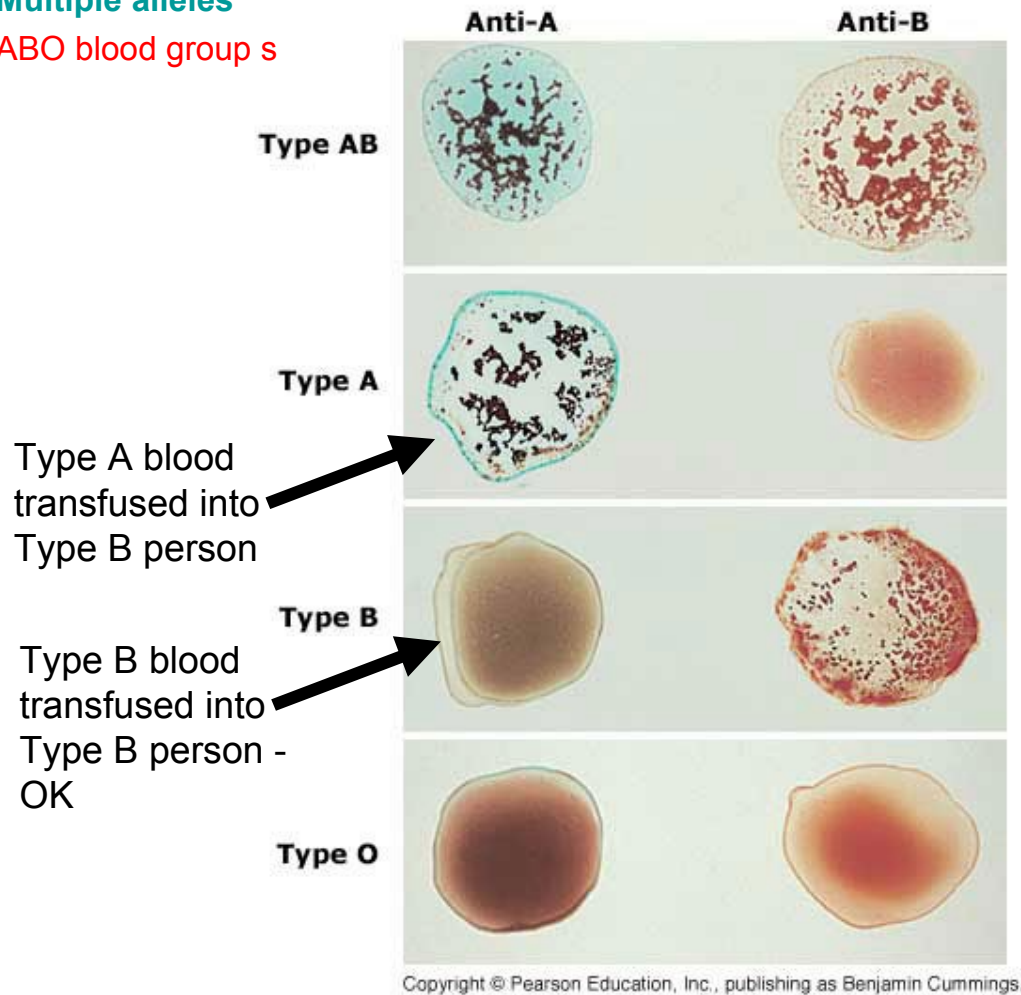
Průkaz A,B antigenu na erytrocytech

Průkaz anti-A, anti-B v plazmě/séru

1. Laboratorní vyšetření AB0 skupiny: AB(0) antigeny na erytrocytech

- dg.sérum anti-A, anti-B
- monoklonální séra pro přímý solný test /pokožová T nebo polyklonální séra -A,-B,-A,B
- metoda zkumavková, sloupcová aglutinace, pevná fáze, na skle, mikrotitrační desce
- rostlinné lektiny (monoklonální séra) pro odlišení A1 podskupiny
- rutinně prováděná kontroly kvality reagensů (kontrola dg. sér a dg. erytrocytů) = při nesouhlasu v kontrole nelze uzavřít výsledek krevní skupiny

Multiple alleles
ABO blood groups



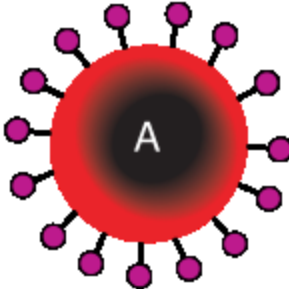
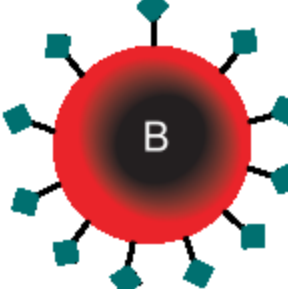
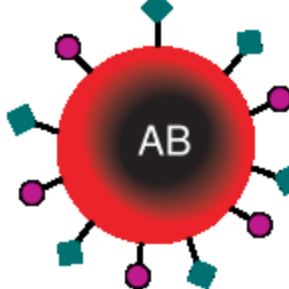
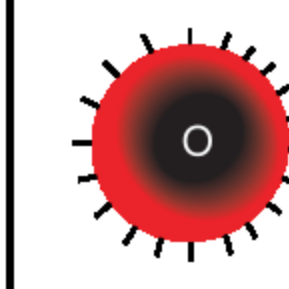
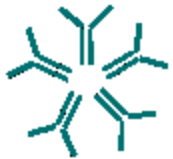

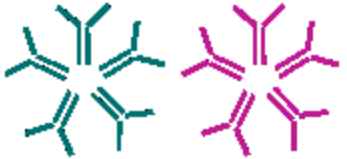



A medical problem - some blood transfusions produce lethal clumping of cells.

Don't worry about details yet...

2. Laboratorní vyšetření AB0 skupiny: pravidelné AB0 protilátky

- detekce pomocí dg.erytrocytů A₁,B (ery 0 nebo autoctl.)
- testy pro přímou aglutinaci / pokojová teplota s inkubací (doplňující testy pro 4°C event. 37°C)
- zřetelné makroskopické reakce
- do 4. měsíce věku se nevyšetřují (chybí, mateřské Ig)

	0 (anti-A,B v séru)	A (anti-B v séru)	B (anti-A v séru)	AB(žádné protilátky)
Dg.ery 0	0	0	0	0
Dg.ery A1	+	0	+	0
Dg.ery B	+	+	0	0

	Group A	Group B	Group AB	Group O
Red blood cell type	 <p>A</p>	 <p>B</p>	 <p>AB</p>	 <p>O</p>
Antibodies present	 <p>Anti-B</p>	 <p>Anti-A</p>	<p>None</p>	 <p>Anti-A and Anti-B</p>
Antigens present	 <p>A antigen</p>	 <p>B antigen</p>	 <p>A and B antigens</p>	<p>No antigens</p>

3. Nepravidelné AB0 protilátky

- anti-A1 u osob A2, anti-H u osob A1
- chladový typ /RT/4°C, vzácně anti-A1 při 37°C
- nebývá klinický význam, vedlejší nález při vyšetření KS

	anti-A1	anti-H
Ery 0	0	+
Ery A1	+	0
Ery A2	0	+
Ery B	+++	+++

- Princip serologického vyšetření všech krevních skupin je stejný: antigeny na vyšetřovaných erythrocytech detekujeme pomocí specifických diagnostických protilátek (dg. sér) v testu a technikou, které umožňují jejich průkaz. Je to naprosto dostačující pro běžné diagnostikování. U AB0 skupiny se prokazují také pravidelné AB0 protilátky.
- Genetické vyšetření umožní precizní diagnostikování skupinových antigenů, je zvláště přínosné u abnormálních forem antigenů, u transplantovaných a transfundovaných jedinců.

AB0 diskrepance

- Při vyšetření antigenů nebo protilátek
- Diskrepance je nutné vyřešit před uzavřením výsledku
- **Pokud nelze – podávat 0 erytrocyty, AB plazmu**
- Opakovat vyšetření, provést vyšetření z nového vzorku, použít jiné reagensie spolu s kontrolami, jiné reakční teploty, promytí erys apod. dle typu problému
- Validace testů – přední x zadní řada, kontroly dg.sér

Příčiny: Technické chyby. Abnormální sérové proteiny.

Abnormální antigeny. Polyaglutinabilita. Získané, zeslabené antigeny. Nadbytek substancí. Chimérismus.

Protilátky/autoprottilátky. Imunodeficiency. Jiné příčiny.

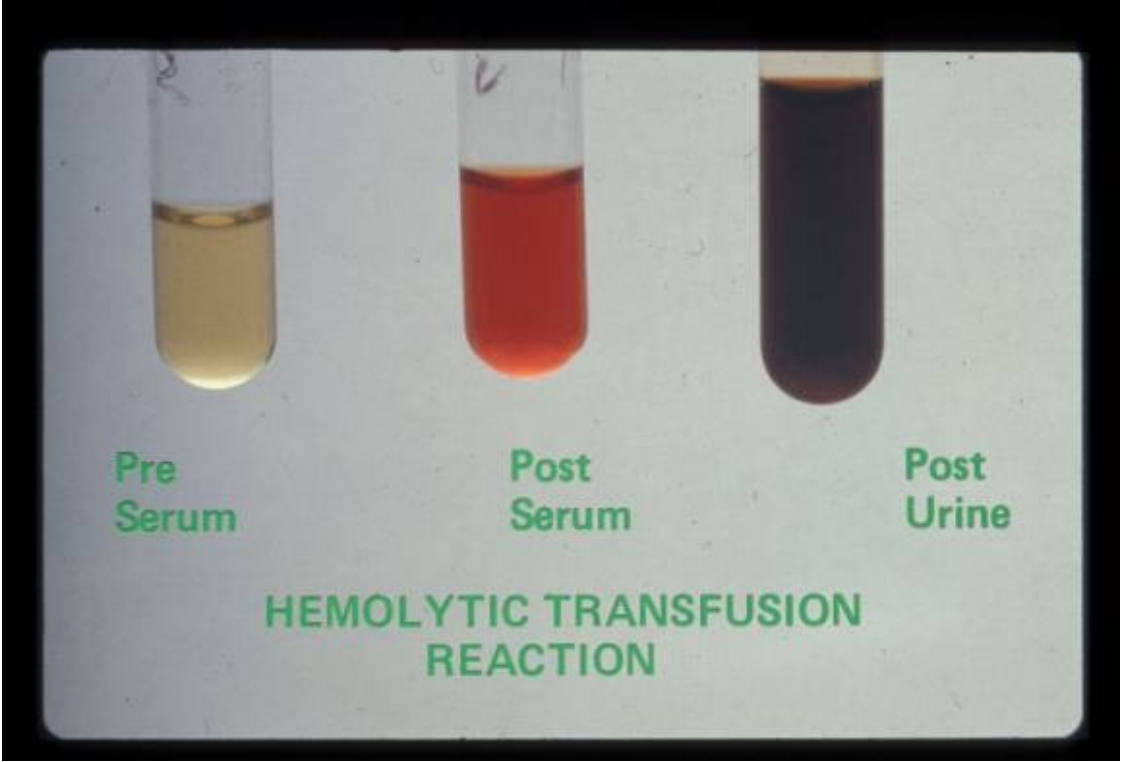
Klinické souvislosti

Asociace s nemocemi vzácně

- H antigen: pouze v souvislosti s hyperakutní rejekcí transplantovaného orgánu u osob typu Bombay a paraBombay, u kongenitální poruchy glykosylace (není dodána fukoza do Golgiho aparátu)

Asociace s transfuzí často

- AB0 inkompatibilní krev vede k HTR a jejím komplikacím
- velká (nové antigeny dárcovské dárce A/příjemce 0) nebo malá inkompatibilita (nové protilátky dárcovské příjemce A/dárce 0)
- **velká inkompatibilita je pro transfuzi nepřijatelná**



Pre
Serum

Post
Serum

Post
Urine

HEMOLYTIC TRANSFUSION
REACTION

Asociace s transplantacemi

- periferních hematopoetických kmenových bb.(PBSCT) nebo kostní dřeně (BMT)
- solidních orgánů (ledviny, srdce, játra vs. rohovka, kost)
- časně a pozdní hemolytické komplikace a rejekce graftu při velké a malé nebo oboustranné inkompatibilitě

Asociace s HON

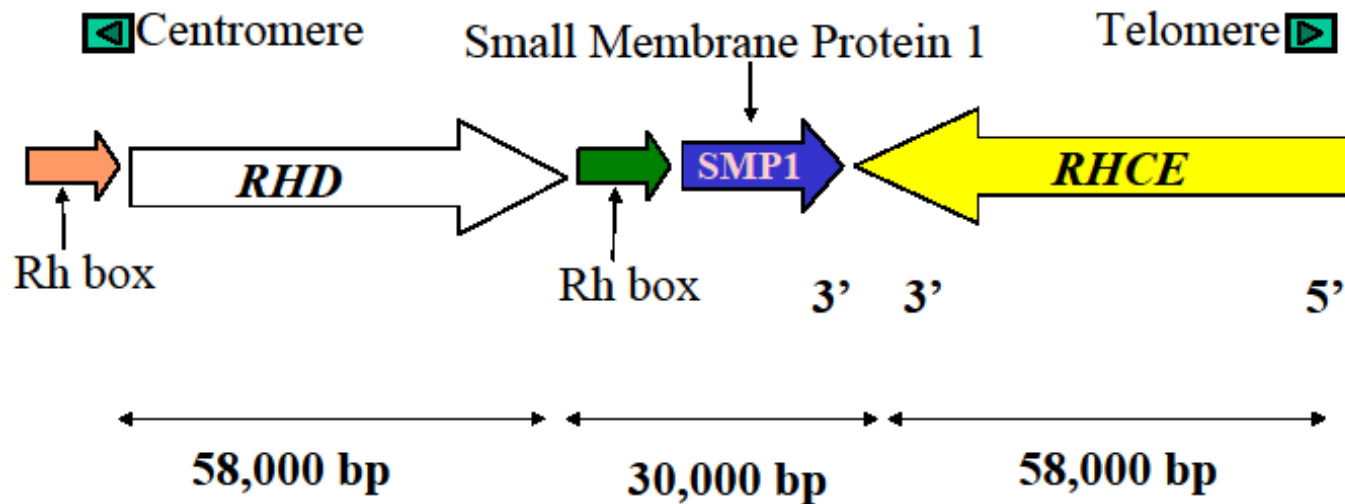
- Při AB0 typu neshody matky vs. plod (typicky matka 0)
- IgG protilátky v etiologii HON

Uplatnění ve forensní medicíně

Rh systém

- dva vzájemně spojené homologní geny RHCE a RHD na 1.chromozomu
- RHD gen kóduje RhD protein (antigen D. Nepřítomnost genu = chybí antigen D)
- RHCE gen kóduje RhCcEe protein (kombinace antigenů Ce,ce,cE,CE)
- RHAG gen je nutný pro Rh aktivitu: tetramerické komplexy Rh glykoproteinu s Rh proteiny
- každý gen 10 exonů
- opozitní orientace RhD a RHCE - Rh boxy – gen SMP1

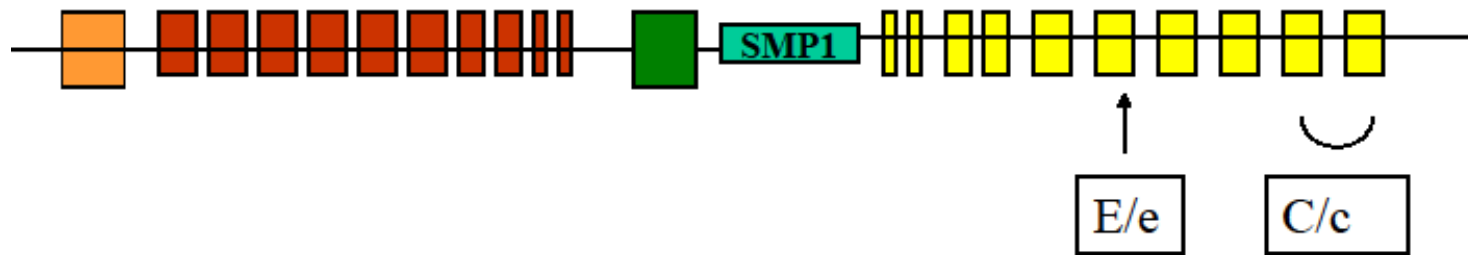
D and *CE*



Chromosome 1p34.1-1p36 (short arm). Opposing orientation.

Wagner and Flegel. ISBT Vienna 2000

Organisation of genes encoding RhD and CcEe



10 exons encoding the D protein plus 2 Rh boxes

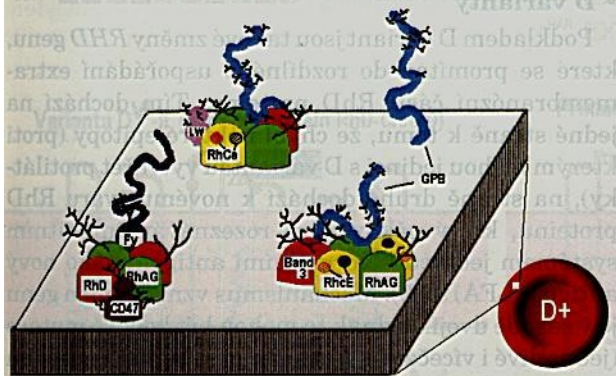
10 exons encoding the CcEe protein

RhCcEe zároveň mohou být způsobeny zesílené exprese D antigenu (u fenotypu D⁺/D⁺ je tak vysoký počet D antigenů, že dochází k aglutinaci těchto krvinek i účinkem inkompletních (IgG) anti-D protilátek.

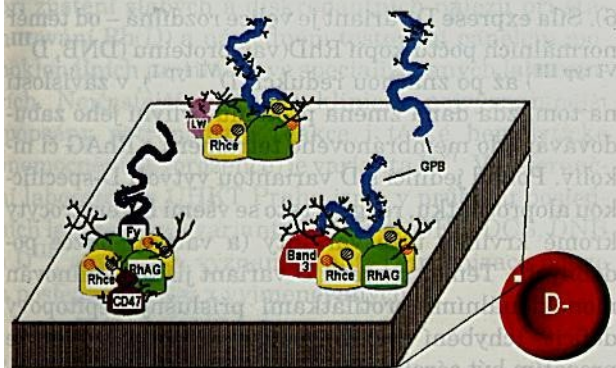
• Rh_{null} a Rh_{mod} fenotypy

Na krvinkách těchto fenotypů nejsou prokazovány žádné Rh antigeny (Rh_{null}), nebo jsou velice zeslabené a prokazatelné jen nejcitlivějšími metodami (Rh_{mod}). Podle způsobu dědičnosti byly rozeznávány dva typy Rh_{null}: amorfní (heterozygotní potomci těchto jedinců – přenašeči amorfní alely, ač sérologicky vypadali jako homozygoti, přenášeli své Rh antigeny jen na 50 % potomků) a regulátorový typ (zde v potomstvu přenašečů regulátorové alely byly děděny Rh antigeny normálním způsobem). Metody molekulární biologie od-

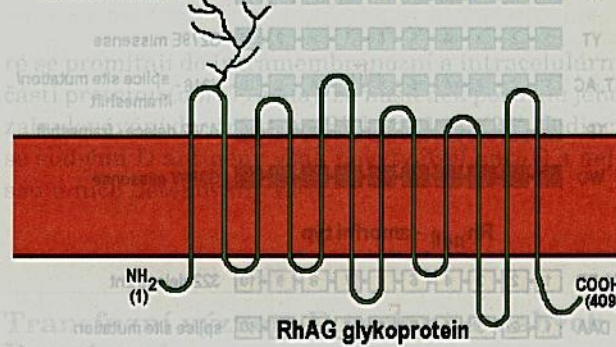
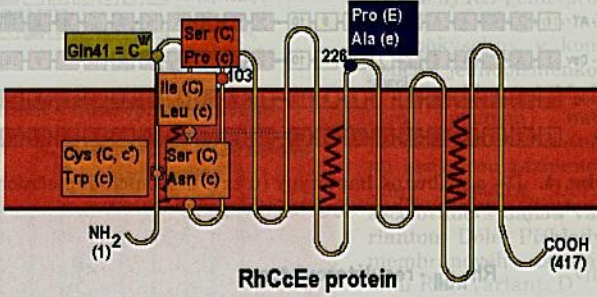
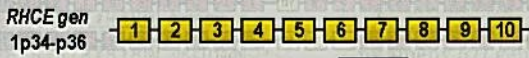
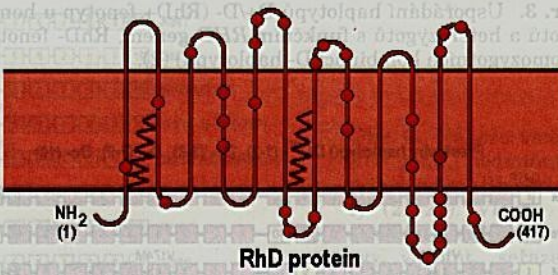
RhAG glykoproteiny. Následně je omezena i exprese ostatních struktur Rh komplexu.



RhD⁺ (D⁺ C⁺ c⁺ E⁺ e⁺) RHD-RHCE/RHD-RHCE



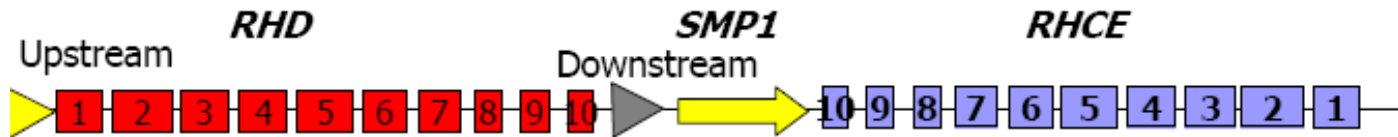
D-



Obr. 2. Schéma uspořádání RHD, RHCE a RHAG genů a předpokládaná dvourozměrná struktura proteinů RhD, RhCcEe a RhAG glykoproteinů.

- D antigen je exprimován na membráně erytrocytu (RhD+)
- D antigen chybí na membráně erytrocytu (RhD-)
 - delece celého genu (naše populace)
 - mutace genu
 - hybridní gen
 - inaktivní RHD pseudogen
- D antigen je fenotypově odlišný' - slabší (různé genetické změny-mutace, hybridní alely, rekombinace genu- vedou ke vzniku vzácných alel, navenek se projeví změnou RhD)

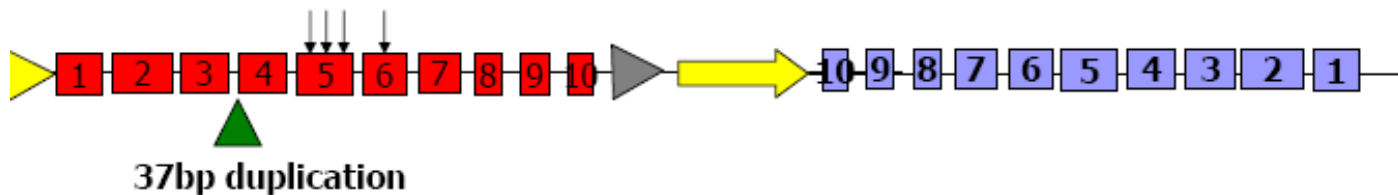
1. Rh D Pos genome



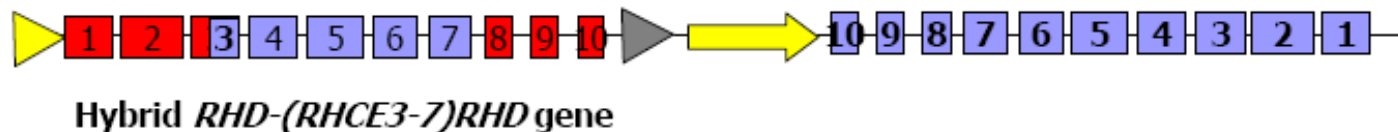
2. Rh D Neg genome (Caucasian)



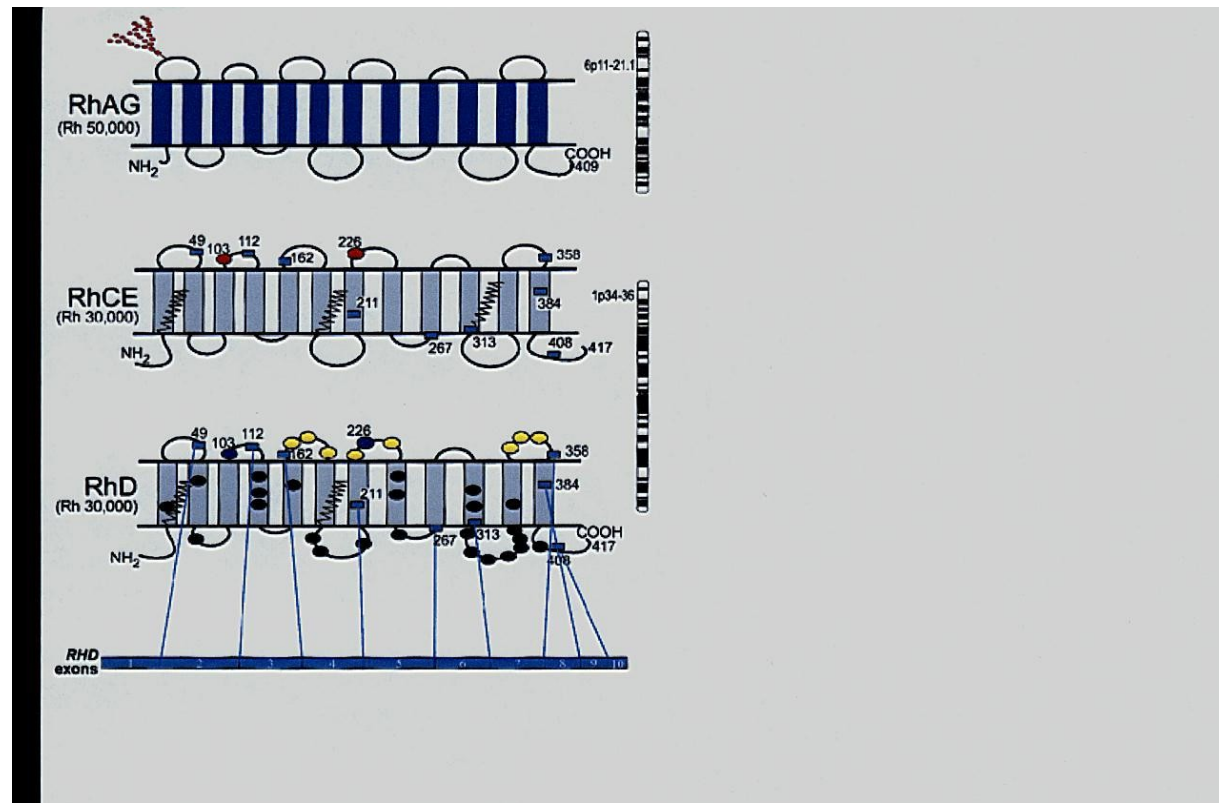
3. Rh D Neg genome (African) *RHD_ψ*



4. Rh D Neg genome (African) *r^S*



- Rh proteiny (antigeny) procházejí 12x membránou, každý vytváří 6 extracelulárních loopů, na kterých jsou umístěné Rh antigeny
- substituce několika aminokyselin Rh proteinu vzájemně odlišuje RhD a RhCcEe antigeny



Rh antigeny

- antigeny D,C,c,E,e (Cw)
- výskyt dle typu populace (D+ cca u 85% Evropanů, 90% Afričanů, u 100% Asiatů)
- jsou podobné, rozdíl mezi RhD a RhCE proteinem 30-35 AMK
- vysoce imunogenní proteiny
- záleží na tvaru molekuly a na interakci mezi jednotlivými extracelulárními loopy
- několik desítek tisíc kopií/ery, závisí na genotypu
- epitop = charakteristické uspořádání AMK řetězce

Ostatní Rh antigeny: high nebo low frequency antigens

Rh antigeny

- serologické rozeznání pomocí dg.sér anti-D,-C,-c,-E,-e
- zygocii D/D a D/d nelze serologicky odlišit (chybí anti-d)
- kombinace 3 párů alel Cc/Dd/Ee umožňuje vznik 8 haplotypů a 36 genotypů

Antigeny	Fenotyp	Genotyp
D+C+c-E-e+	DCe/DCe R ₁ R ₁	DCe/DCe R ₁ R ₁ DCe/dCe R ₁ r'
D+C-c+E+e+	DcE/dce R ₂ r	DcE/dce R ₂ r DcE/Dce R ₂ R ₀ Dce/dcE R ₀ r''

Funkce Rh antigenů:

- udržení integrity membrány erys (protein bandu 3)
- transport amoniaku
- kanál pro transport O_2/CO_2

Tkáňová distribuce:

- erytroidní tkáně, ledviny, játra, kůže, mozek, testes

Asociace s nemocemi:

- hemolýzy - HON, HTR
- nemoc štěpu proti hostiteli - GVHD
- hemolytická anemie u Rh deficient.syndromu (Rh_{null})

Rh nomenklatura

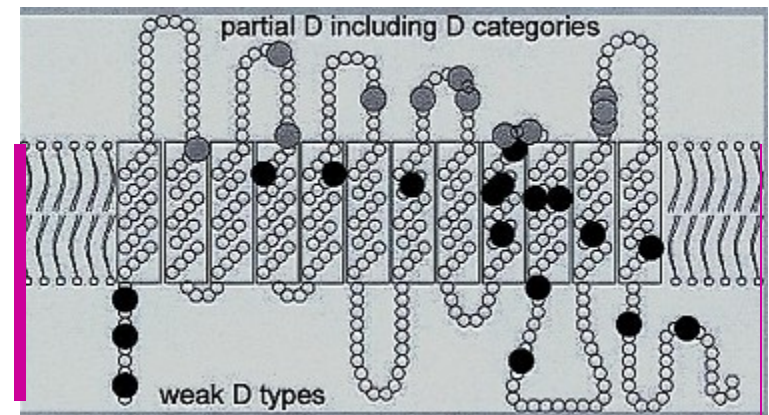
- Písmenová: D,C,E,c,e, f,C^w,C^x,Hr₀,Hr,Har,hr^S...
- Fisherova + Wienerova: DCe = R₁
DcE = R₂
Dce = R₀
DCE = R_z
dce = r
dCe = r'
dcE = r''
dCE = r^Y

Abnormální typy Rh antigenů

- u cca 1% všech RhD pozitivních osob
- D-- : chybí antigeny RhCcEe a zesiluje exprese RhD
- Rh_{null}: chybí úplně všechny Rh antigeny
- Rh_{mod}: změna exprese, zeslabení Rh antigenů
- **Variantní D antigeny:**
 - **Weak D**: kvantitativní změna antigenu
 - **Parciální D**: kvalitativní změna v mozaice antigenu

Weak D: slabý antigen, D^w

- původní terminologie „D^u“
- téměř žádná změna AMK v extramembranozní části RhD proteinu, mutace postihují intramembranozní a intracelulární část proteinu
- porucha zakomponování Rh proteinu do tetrameru Rh komplexu
- nedochází k anti-D imunizaci



Příčina D^w: Dědičnost

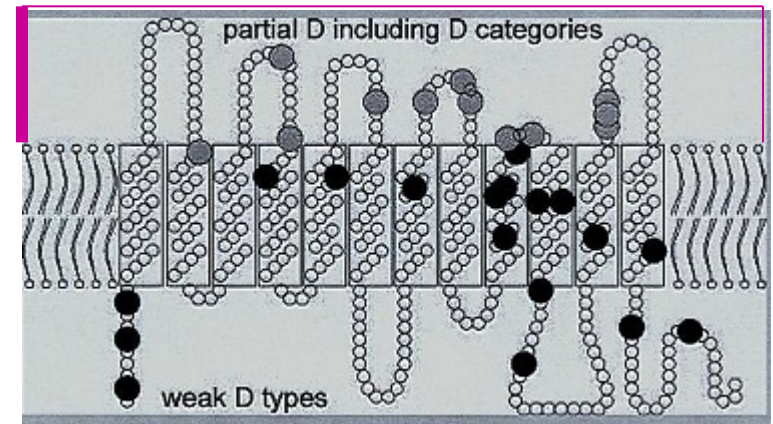
- zděděná zeslabená exprese D^w antigenu při
 - kompletním D antigenem, ale jeho menším počtem na erytech
- pouze slabé aglutinace nebo chybějící aglutinace v přímém aglutinačním testu
- silné aglutinace v NAT s AGH
- netvoří se anti-D, je možné bezpečně transfundovat D pozitivní krev

Příčina D^w : Efekt pozice

- interakce alely D a C u genotypu cDe/Cde
- C alela je v trans pozici k alele D
- netvoří se anti-D, je možné bezpečně trasfundovat D pozitivní krev

Parciální D: varianty D, D^{var}

- Chybí jedna nebo více obvyklých částí (epitopů) D antigenu
- Mutace , rekombinace RHD genu
- Změna se projeví v extramembranozní části RhD proteinu
 - některé epitopy zcela chybí
 - antigen je složený z jiných epitopů = **nový tvar proteinu**
- Problém: vznik alo-anti-D, která reaguje se všemi RhD+ kromě vlastních ery
- Problém: diagnostický + tvoří se alo-anti-D po transfuzi D+



Vyšetření RhD : Reagencie

- rutinní vyšetření D antigenu v rámci krevní skupiny
- dříve polyklonální protilátky, dnes monoklonální protilátky (dg.séra)
- výhody: silné reakce v přímém aglutinačním testu, nízký obsah proteinů - vhodné pro senzibilizované erys
- duplicitně provedené vyšetření dvěma odlišnými dg. séry (chybí přirozené protilátky)
- porovnávání shody výsledků u obou vyšetření
- validace testu - použití kontrolního séra (Ctl) + kontrola pozitivní (D+erys) a negativní (D- erys)

Cíl vyšetření D antigenu:

Dárce krve/event. novorozenec:

- zachytit **všechny** typy D antigenu
- 2 různá séra pro aglutinační test (různé anti-Dep klony)
- **došetření slabých** antigenů v NAT

Příjemce/těhotná:

- ideálně: parciální D=RhD neg, weak D= RhD poz
- **nedetekovat DVI** variantu
- **nedošetřovat slabé** antigeny v NAT

Serologicky běžně nelze rozlišit Dw/v, molekulárně genetické metody (PCR).

Falešně pozitivní výsledky:

- spontánní aglutinace vyšetřovaných erys se všemi dg. séry (oldiší Rh kontrola)
- aglutinace erys při obsahu chladových protilátek nebo paraproteinu ve vyšetřovaném vzorku (Rh kontrola, opakování vyšetření Rh po promytí erys)
- kontaminace diagnostika - bakterie, T, Tn aktivace erys
- laboratorní chyby

Falešně negativní výsledky:

- selhání diagnostika (použití kontroly + a -)
- laboratorní chyby

C,c,E,e antigeny

- produkty alely RHCE
- frekvence: C 68%, c 81%, E 29%, e 98%
- substituce AMK v RhCcEe proteinu vede ke vzniku slabých a variantních antigenů
- složené antigeny ce, Ce, CE, cE, antigen G
- antigen C^w, C^x, MAR

Rh protilátky

- klinicky významné, imunní = vedou k destrukci erys
- IgG / lab. teplota 37°C/ nepřímá aglutinace
- neaktivují komplement, vedou k extravaskulární hemolýze
- Procházejí placentou
- HON, HTR
- anti-D, -E, -c, -C, -e, -Cw
- Rh autoprotiátky u AIHA
- zvýšená reaktivita v enzymovém testu, efekt dávky
- profylaktické použití anti-D u HON, klinické léčebné použití anti-D u ITP

Ostatní krevní skupiny

- Ii
- Lewis
- Kell
- Kidd
- Duffy
- Lutheran
- MNSs
- P
- Ostatní s méně častými Abs (Dombrock, Diego, Colton, Chido/Rodgers, Gerbich, Cromer)
- HFA
- LFA

Ii systém

- sacharidové struktury lineárně spojené
- antigen i je prekurzorem antigenu I
- fenotyp I dominuje u dospělých, i fenotyp u novorozenců
- od narození do 2 let věku se množství I antigenu zvyšuje
- antigeny jsou přítomné v sekretech, plazmě
- změny antigenu u akutních i chronických leukemií

Funkce

- zajišťují připojení sacharidů k proteinům a lipidům buněčné membrány
- receptory a ligandy v adhesivních procesech

Tkáňová distribuce

- všechny krevní buňky, sekrety, epitel, jiné tkáně (oční čočka)

Asociace s nemocemi

- anti-I u CAD (průkaz pomocí erys I-)
- zvýšená exprese i antigenu u thalasémie

Lewis /Le

FUT3 (Lewis) FUT2 (Se)

- souvisí s AB0 a H/h systémem
- gen na 19. chromozomu
- addice specifických monosacharidů k prekurzorovému řetězci
- účast na syntéze antigenů Le^a a Le^b v přítomnosti genu Se také antigenu Le^b
- syntéza neprobíhá v erytroidní tkáni, na erys se navazují z plazmy, jsou obsaženy v sekretech
- antigeny Le^a , Le^b , Le^X (Le^c), Le^Y (Le^d)

- Fenotypy

Le(a+b-)

Le(a-b+)

Le(a-b-)

Le(a+b+) ↓exprese H, nekompletní fukosylace: unikátní

- Funkce:

nejasné, nejsou patologické souvislosti, ligandy pro E-selektiny, adhesivní funkce

Lewis protilátky

- přirozené protilátky, bez imunizačního podnětu
- anti-Le^a, anti-Le^b
- Časté protilátky
- IgM – lab. průkaz v chladových testech
- ne aktivní při 37°C (někdy -Creaktivní, hemolýza)
- vzácně imunní: HON i HTR
- asociace s orgánovými transplantacemi

Kell.

Kel. Cellano

- Glykoproteinové antigeny, silné imunogeny
- Kell protein je připojený k membránovému proteinu XK
- Kell proteiny tvoří cca 25 antigenů
- Antitetické alely K2/K1, K4/K3, K7/K6, K11/K17
- Různá frekvence výskytu v populaci

Funkce:

- Kell : aktivace bioaktivních peptidů /proteolýza
- XK: membránový transportní protein

Asociace s nemocemi:

- absence XK (McLeod) u akantocytozy a svalové dystrofie s neurologickými defekty

Kell protilátky

Protilátky:

- známé od r.1949 při anemii novorozence
- imunní protilátky, IgG typ
- klinicky významné
- v etiologii HON (hlavně anemie, ne hemolýza), navíc suprese erythropoezy), HTR
- častá anti-K1, vzácně anti-K2, raritně anti-K_u

Kidd /Jk

- membránový glykoprotein
- produkt jednoho genu JK na 18 chromozomu
- alely JKA, JKB , ostatní jsou vzácné
- Jk(a+b-), Jk(a-b+), Jk(a+b+)

Funkce:

- transport urey
- udržení osmotické stability a deformovatelnosti ery

Tkáňová distribuce:

- erys, leukocyty, ledviny

Kidd protilátky

- málo frekventované
- nebezpečné, podléhají rychlé fagocytoze - přehlédnutelné - rychlá sekundární anamnestická odpověď
- Imunní IgG typ, hemolyzující účinek při aktivaci komplementu
- efekt dávky u homozygotní exprese
- zesílené reakce v enzymových testech
- příčina HTR, vzácně u HON

Duffy /Fy

- membránový glykoprotein
- Fy(a+b+), Fy(a-b+), Fy(a+b-)

Funkce

- chemokinový receptor, receptor pro Plasmodium knowlesi
- protektivní fenotyp Fy(a-b-)
- úloha v zánětu a při malarické infekci

Tkáňová distribuce

- erytroidní i nonerytroidní bb., epitel ledvin, endotel, plicní alveoly aj.

Asociace s nemocemi nejsou známe

Duffy protilátky

Protilátky:

- méně časté
- imunní protilátky IgG
- HON vzácně, někdy HTR
- falešně negativní testy používající enzymy (destrukce Ag)

Lutheran /Lu

- membránový GP
- přes 20 alel , většina vysokofrekventních
- po narození slabé Ag, postupně zesilují (nebývá HON)
- enzymy nepůsobí destrukci Ag

Funkce: buněčná adheze, erytropoeza

Tkáňová distribuce: epitel, endotel, erys (ne na lymfo, granulo, mono, trc)

Asociace s nemocemi: nejasná, bývá vyšší exprese Ag u malignit

Lutheran protilátky

- málo časté
- většinou IgM, v chladových testech
- někdy IgG v testech při 37°C
- mohou vázat komplement
- často v kombinaci s HLA protilátkami
- efekt dávky u homozygotní exprese
- raritní anti-Lu³ u null fenotypu

MNS. Glykoforiny A,B,E

- GPA gen = MN skupina
- GPB gen = Ss skupina
- GPE u vzácných variantních alel
- membránové Ag, tvoří negativní povrchový náboj erys

Funkce:

- nejasná, absence nevede k fyziologickým abnormalitám
- receptor pro komplement ,cytokiny, bct, viry

Tkáňová exprese:

- pouze erys

Asociace s nemocemi: neznámá

MNS protilátky

- většinou přirozené protilátky
- bez klinického významu
- efekt dávky u homozygotní exprese
- vzácně HON a HTR při aktivitě v NAT (imunní protilátky anti-s,-S,-M)
- anti-N-like u dilazovaných pacientů
- raritní anti-U u jedinců S-s-

P systém

- Globosidové antigeny P, P^k a paraglobosid P₁
- raritní fenotyp p

Funkce:

- v diferenciaci B lymfocytů
- adheze bb., P antigen je buněčný receptor pro bakterie - na erys pro parvovirus B19

Tkáňová exprese:

- erys a jiné krevní bb., endotel, svalové bb., GIT , tumory, bakterie

P systém protilátky

- častá anti-P₁ jako přirozená chladová protilátka
- aktivace komplementu
- nebývá HON, HTR
- vzácné IgG
- anti-P, -P^k, -p jsou vzácné
- anti-PP₁P^k u raritního fenotypu p
- anti-P jako IgG autoprotlátka u dětského typu AIHA (PCH) má charakter bifazického hemolyzinu
- v komplexu s jinými protilátkami (-IP₁, -IP)

T/T_n

- antigenem je neúplně dostavěný polysacharid
 - za normálních okolností se tyto antigeny nevyskytují, za patologických situací umožňují polyaglutinabilitu různých krevních buněk (ery, trc, leu)
1. přechodná exprese T antigenu na ery u malignit, virových onemocnění (neuraminidázy uvolněné z mikrobů odstraňují kyselinu sialovou membrány)
 2. trvalé odhalení T antigenu u idiopatického T_n syndromu, malignit (MDS, leukemie), autoimunních chorob
- pravidelná anti-T_n protilátka v sérech zdravých lidí
 - odlišení typu T aktivace dle reaktivity s různými lektiny

Chido/Rodgers

- Ag tvoří C4A (acid) a C4B (basic) 4.složky komplementu
- při aktivaci komplementu a jeho štěpení zůstane fragment C4d (tj.Ch/Rg) připojený na membránu ery
- přítomné v plazmě, odtud se navazují na erys

Funkce proteinů

- patří ke klasické aktivaci C, pomáhají při interakci mezi Ag a Ab komplexem a jinými komponentami C

Colton /Co

- 11 antigenů jednoho genu AQP1 (protein vodního kanálu)
- AQP1 a AQP3 exprimované na erys.

Funkce

- Zajištění transportu molekul vody membránou erys podle osmotického gradientu

Tkáňová distribuce

- většina tkání včetně erys (ledvinové tubuly, kapiláry, epitel oka, hepatální duktus aj.)
- Významné protilátky: HON, HTR

Cromer /Cr

- součást DAF(CD55) = komplementregulační protein, tlumí aktivační kaskádu
- receptor pro adhezi některých mikroorganismů/ enterovirů

Funkce

- regulace komplementu, chrání tkáň inhibicí C3 a C5 konvertázové aktivity při klasické a alternativní cestě

Asociace s nemocemi

- nejsou pospané abnormality, pouze u null forem intestinální nemoci
- u PNH je deficientní DAF

Diego /Di

- protein bandu 3
- exprimovaný v různých tkáních jako hlavní integrální protein membrány buňky
- čtvrtý loop z 12 nese AB0 epitopy
- absence bandu 3 je spojena se sferocytózou a hemolýzou

Funkce

- udržuje strukturu a stabilitu buňky a její interakci s enzymy, Hb...
- účast při vzniku senescentních Ag na starých erys
- adheze parazitů (malárie) na erys
- zajištění flexibility a tvaru buňky, transportu iontů

Distribuce ve tkáních

- erytroidní gen je na erytrocytech
- exprese v ledvinách, kostech

Asociace s nemocemi

- v patogenezi ovalocytozy (Melanesie), kongenitální akantocytozy, hereditární sferocytozy

Protilátky:

- imunní IgG
- hemolyzující účinek

Dombrock /Do

- glykoproteinový Ag připojený k membráně erys GPI kotvou
- neznámá funkce
- tkáně: erytroidní, lymf.uzliny, testes, slezina
- asociace s nemocemi: ztráta Ag u PNH

Protilátky:

- obvykle ve směsí jiných protilátek
- imunní IgG, neaktivují komplement

Gerbich /Ge

- glykoproteiny membrány
- tři vysokoincidentní Ag, ale také Ge negativní fenotypy

Funkce

- udržují integritu buňky, negativní povrchový náboj erys, participují při vstupu Plasmodia do erys

Tkáňová distribuce

- erytroidní i nonerytroidní tkáně

Asociace s nemocemi

- udržují tvar erys a zajišťují deformovatelnost erys, absence může vést k eliptocytoze nebo abnormálnímu tvaru erys

Protilátky:

- imunní IgG
- vzácně HON, HTR
- autoprotilátky u AIHA, klinicky nevýznamné

Ostatní skupiny

Vysokofrekventní antigeny

- Vel, Lan, JMH, Sd^a, At^a
- Obtížně identifikovatelné / referenční pracoviště
- Téměř nelze najít kompatibilní krev
- Složitě potvrzení negativními fenotypy

Nízkofrekventní antigeny

- Chr^a, By, Bi, JONES, HJK, SARA
- Vzácně imunizace

Registry dárců krve

Jsou:

- Národní registr dárců vzácných krevních skupin / Transnet
- Mezinárodní registry dárců vzácných krevních skupin
- Referenční laboratoře národní/mezinárodní

Cíl:

- Vyhledávání skupinově shodných dárců pro imunizované pacienty – zajištění substituce krve (mražené TU)
- Work shop

CLB (Sanquin)



Amsterdam,
Netherlands

Rotterdam,
Netherlands

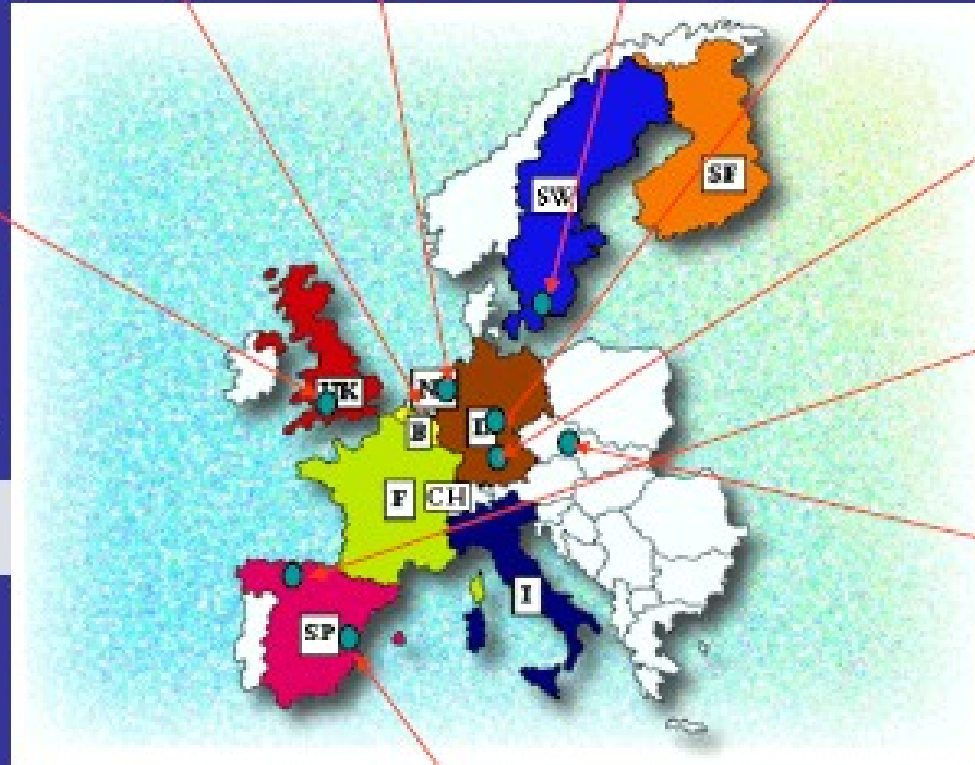


Lund, Sweden

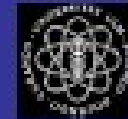
Dreieich, Germany



Bristol, UK
(UWE
and BITS)



Ulm, Germany



Derio, Spain



Prague,
Czech Republic



Barcelona
Spain



bloodgen
blood grouping & genotyping