



UNIVERZITA KARLOVA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD



**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**ANTIGENNÍ STRUKTURY ERYTHROCYTŮ**

**Petra Anderlová**

**Vedoucí bakalářské práce: PharmDr. Jana Rathouská, Ph.D.**

**HRADEC KRÁLOVÉ, 2018**

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou vyjádřila poděkování školitelce PharmDr. Janě Rathouské, Ph.D. za cenné rady a připomínky při psaní mé bakalářské práce. Rovněž bych ráda poděkovala MUDr. Martě Zvarové za její cenné informace a pestrou výuku při předchozím vzdělávání, která mě k sepsání této práce motivovala.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové 4. 6. 2018

Anderlová Petra

# 1. OBSAH

2.	ABSTRAKT .....	7
3.	ABSTRACT .....	8
4.	ÚVOD .....	9
5.	ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE .....	10
6.	ANTIGENY – OBECNÁ STRUKTURA .....	11
7.	IMUNOGLOBULINY – OBECNÁ STRUKTURA.....	13
7.1	TŘÍDY IMUNOGLOBULINŮ .....	14
7.2	DALŠÍ ROZDĚLENÍ PROTILÁTEK: .....	15
7.3	REAKCE ANTIGENŮ A PROTILÁTEK.....	16
8.	SKUPINOVÝ SYSTÉM ABO.....	17
8.1	ÚVOD .....	17
8.2	CHEMICKÁ STRUKTURA ANTIGENŮ .....	17
8.3	SKUPINY SYSTÉMU ABO .....	17
8.4	PODSKUPINY SYSTÉMU ABO.....	19
8.4.1	<i>Objevení nové podskupiny B pomocí sérologických a genetických studií .....</i>	19
8.5	DĚDIČNOST KREVNÍCH SKUPIN.....	20
8.5.1	<i>Studie zaměřená na exonické mutace asociované se slabým antigenem B .....</i>	20
8.6	ZEMĚPISNÝ VÝSKYT KREVNÍCH SKUPIN .....	21
8.7	SOUVISLOST GENOTYPU KREVNÍCH SKUPIN S NĚKTERÝMI ONEMOCNĚNÍMI.....	22
8.7.1	<i>Asociace krevní skupiny ABO s virem západního Nilu .....</i>	22
8.7.2	<i>Asociace genotypu ABO s vývojem rakoviny žaludku .....</i>	23
8.7.3	<i>Asociace genotypu ABO s perorální submukózní fibrózou (OSMF).....</i>	23
8.7.4	<i>Asociace genotypu ABO s onemocněním diabetes mellitus.....</i>	23
8.7.5	<i>Asociace ABO fenotypu s hemofilí typu A .....</i>	24
8.7.6	<i>Asociace krevní skupiny s rozvojem trombózy .....</i>	25
8.8	H SYSTÉM .....	25
8.8.1	<i>Protilátky systému H .....</i>	26
8.9	SEKRETORSTVÍ KREVNÍCH SKUPIN .....	27
8.9.1	<i>Asociace genotypu sekretora se složením střevní mikroflóry .....</i>	27
8.10	PROTILÁTKY V SYSTÉMU ABO.....	28
8.10.1	<i>Aglutininy.....</i>	28
8.10.2	<i>Přirozené nepravidelné protilátky.....</i>	29
8.10.3	<i>Zkříženě reagující protilátky .....</i>	29
8.10.4	<i>Imunní protilátky .....</i>	29
8.10.5	<i>Autoprotilátky a defektní skupiny.....</i>	29
8.11	KLINICKÝ VÝZNAM ABO SYSTÉMU .....	30
8.11.1	<i>Historie krevních transfuzí .....</i>	30
8.11.2	<i>Význam krevní skupiny při opakované zátěži dárce.....</i>	31
8.11.3	<i>Inkompatibilita krevní skupiny v těhotenství .....</i>	32
8.11.4	<i>Význam ABO systému v transplantační medicíně .....</i>	32
8.11.4.1	<i>Transplantace ledvin provedená u ABO inkompatibilních pacientů .....</i>	32
9.	RH SYSTÉM NA ERYTROCYTECH.....	33
9.1	HISTORIE A ÚVOD .....	33

9.2	NOMENKLATURA SYSTÉMU .....	34
9.3	STRUKTURA RH PROTEINŮ A ANTIGENŮ .....	35
9.4	ANTIGEN D .....	35
9.5	ZVLÁŠTNÍ FORMY RH FENOTYPŮ .....	36
9.5.1	<i>Varianty antigenu D</i> .....	36
9.5.2	<i>Slabé antigeny D (D-weak)</i> .....	37
9.6	ANTIGENY C, c, E, e .....	39
9.7	OSTATNÍ RH ANTIGENY .....	39
9.8	PROTILÁTKY RH SYSTÉMU .....	40
9.9	VÝZNAM RH SYSTÉMU .....	41
<b>10.</b>	<b>HEMOLYTICKÉ ONEMOCNĚNÍ NOVOROZENCE .....</b>	<b>42</b>
10.1	RH HON .....	45
10.2	ABO HON .....	46
10.3	OSTATNÍ HON .....	47
10.4	NEJČASTĚJŠÍ KLINICKÉ PROJEVY HON .....	47
10.5	LÉČBA HON .....	48
<b>11.</b>	<b>OSTATNÍ KREVNÍ SKUPINOVÉ SYSTÉMY .....</b>	<b>49</b>
11.1	SKUPINOVÝ SYSTÉM LEWIS .....	49
11.1.1	<i>Antigeny systému Lewis</i> .....	49
11.1.2	<i>Protilátky systému Lewis a význam systému v transfuzi</i> .....	50
11.1.3	<i>Fenotypy krevní skupiny Lewis a ABO ovlivňují Chagasovu chorobu</i> .....	50
11.2	SKUPINOVÝ SYSTÉM KELL .....	51
11.2.1	<i>Antigeny Kell</i> .....	51
11.2.2	<i>Protilátky a význam systému Kell</i> .....	52
11.3	SKUPINOVÝ SYSTÉM DUFFY .....	52
11.3.1	<i>Antigeny systému Duffy</i> .....	53
11.3.2	<i>Protilátky systému Duffy</i> .....	54
11.4	SKUPINOVÝ SYSTÉM KIDD .....	54
11.4.1	<i>Antigeny systému Kidd</i> .....	55
11.4.2	<i>Protilátky systému Kidd</i> .....	55
11.4.2.1	<i>Studie zaměřující se na lepší detekci a screening Kidd protilátek</i> .....	56
11.5	SKUPINOVÝ SYSTÉM MNS .....	57
11.5.1	<i>Antigeny MNS</i> .....	57
11.5.2	<i>Protilátky MNS</i> .....	57
<b>12.</b>	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>58</b>
<b>13.</b>	<b>SEZNAM TABULEK .....</b>	<b>59</b>
<b>14.</b>	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>59</b>
<b>15.</b>	<b>SEZNAM ZKRATEK .....</b>	<b>60</b>
<b>16.</b>	<b>POUŽITÁ LITERATURA .....</b>	<b>61</b>

## 2. ABSTRAKT

**Cíl:** Znalost antigenů, které jsou exprimovány na krevních buňkách červené řady, je nedílnou součástí transfuzního lékařství, které těchto poznatků využívá pro účinnou, a hlavně bezpečnou hemoterapii. Cílem této práce je vytvoření přehledu o vybraných významných krevních skupinových systémech a sepsání již existujících znalostí do jednoho dokumentu.

**Hlavní poznatky:** Většina antigenních struktur na erythrocytech je zařazena do skupinových systémů, které umožňují lepší přehlednost a orientaci. Každý skupinový systém zahrnuje jak antigeny, tak i příslušné protilátky, jejichž význam je klinicky specifický. Expresse antigenů na erythrocytu je vždy dána geneticky, proto lze najít souvislosti mezi příslušností k dané krevní skupině a některými onemocněními.

**Závěry:** Byly vyhledány informace o jednotlivých skupinových systémech, jejich antigenech a protilátkách. U antigenů zejména o jejich struktuře a genetickém podkladu, u protilátek zejména o jejich reaktivitě a klinickém významu. Tyto již existující poznatky byly porovnány s některými vybranými klinickými studii a bylo poukázáno na asociace krevních antigenů s výskytem některých patologických stavů.

**Klíčová slova:** antigen, protilátka, krevní skupinový systém, transfuze krve.

### 3. ABSTRACT

**Background:** The knowledge of antigens expressed on red blood cells is an integral part of a transfusion medicine that uses this knowledge for effective and more safe hemotherapy. The aim of this work is to create an overview of selected important blood group systems and to compile existing knowledge into one document.

**Main findings:** Most antigenic structures on erythrocytes are included in group systems that provide better lucidity and orientation. Each group system contains both antigens and relevant antibodies, whose importance is clinically specific. Expression of the antigens on erythrocyte is always given by genetics, so it is possible to find links between belonging to some blood group and appearance of some diseases.

**Conclusions:** There have been sought information about individual group systems, their antigens and their antibodies. In antigens especially about their structure and genetic background, in antibodies especially about their particular reactivity and clinical relevance. These already existing facts have been compared with some selected clinical trials and there has also been referred to associations of blood antigens with the occurrence of some pathological conditions.

Keywords: antigen, antibody, blood group system, blood transfusion



## 4. ÚVOD

Důležitost krve si lidé uvědomovali již od nejstarších dob. Ztotožňovali ji se životem. Je známo, že ve starověku jí byla přisuzována funkce životní síly. Již ve staroegyptských, starořeckých a starořímských památkách se mluví o krvi jako o životně důležitém orgánu. (1)

Velkým krokem k získávání nejrůznějších poznatků o krvi bylo v 17. století objevení krevního oběhu Williamem Harveyem. To podnítilo snahy o léčebné využití krve. Lidé se pokoušeli převádět - transfundovat krev zdravých jedinců do těla nemocných za účelem zlepšení jejich zdravotního stavu. Zpočátku se krev transfundovala pouze mezi zvířecími druhy, až následně přišly první pokusy o transfuzi krve lidské. Opakované nezdary a úmrtí však měly souvislost s neznalostí a nerespektováním slučitelnosti krve.

Až objev krevních skupin ve 20. století odstranil hlavní překážku úspěšné hemoterapie. V roce 1901 objevil vídeňský patolog Landsteiner, že některé lidské krvinky se přirozeně shlukují s některými lidskými séry. (1)

Díky objevu aglutinace se na hemoterapii začalo nahlížet i z imunologického hlediska a začaly být objevovány další antigeny vyskytující se na erytrocytech a další protilátky tvořící se po kontaktu s těmito antigeny. Díky zlepšující se úrovni medicíny, a laboratorních metod je objevováno stále více antigenních struktur na erytrocytech, toto nesčetné množství antigenů je zařazováno do různých skupinových systémů, jejichž význam plní roli hlavně při krevních transfuzích, avšak příslušnost k jednotlivým krevním skupinám hraje roli také při paternitních sporech, v genetice, v predikci některých onemocnění, v kriminalistice a dalších oborech.

## **5. ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE**

Cílem mé práce je vytvoření rešerše týkající se antigenů na erythrocytech a protilátek s nimi reagujících. Sepsat již existující poznatky o antigenech do jednoho dokumentu, jenž bude obsahovat i poznatky z klinických studií, a vyhledat souvislosti mezi jednotlivými skupinovými systémy, jejich genetickými podklady a onemocněními s nimi spojenými.

## 6. ANTIGENY – OBECNÁ STRUKTURA

Antigeny jsou definovány jako nejrůznější látky, které po vniknutí do organismu jsou schopny spustit specifický obranný mechanismus, jehož výsledkem je produkce specifické protilátky. Protilátka je pak zaměřená proti antigenu, který vyvolal její tvorbu. (2)

Antigeny proto někdy nazýváme imunogeny. Antigen je složitá organická molekula, nacházející se na povrchu buněk, nebo je rozpustná v tělních tekutinách. Na povrchu antigenu se nachází několik totožných, nebo odlišných antigenních zakončení – determinant. Determinanty jsou zodpovědné za specifickou vazbu protilátky. Determinanty jsou většinou polysacharidy. (3)

Pokud mluvíme o erytrocytárních antigenech, jedná se z biochemického hlediska o proteinové, či glykoproteinové struktury. Proteiny mohou procházet membránou jedenkrát, nebo vícekrát, popřípadě jsou navázány na glykosylfosfatidylinositol (GPI). Aminokyselinové sekvence membránových glykoproteinů můžeme rozřadit do několika typů označených čísly 1,2,3,5. Sekvence proteinu typu 4 antigenní vlastnosti nemá, protože tento protein nemá extracelulární domény. (4)

Každý z typů sekvence aminokyselin je typický pro jiný typ antigenu i pro jiný skupinový systém.

**Tabulka 1 - Typy a složení membránových antigenů**

Způsob ukotvení proteinu	Typ sekvence AMK	Skupinový systém
Procházející membránou 1x	1. a 2. typ	Kell, Lutheran, Knops
Procházející vícekrát	3. typ	RhD, Kidd, Diego, ABO
Zakotvení pomocí GPI	5. typ	CROM, Emm

**AMK** – aminokyselina, **GPI** - glykosylfosfatidylinositol

*Zdroj: MASOPUST, Jiří a Martin PÍSAČKA. Praktická imunohematologie: erytrocyty. Praha: Mladá fronta, 2016. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-3740-2, str. 16 (přepřacováno z textu do tabulky)*

Za celkový počet erytrocytárních antigenů v roce 2016 bylo považováno číslo 346. Z toho 308 antigenů je součástí 36 krevních skupinových systémů. S posunem vědy počet objevených antigenů roste, což lze vidět s pohledem na data z předchozích let. Například v roce 2010 bylo popsáno 231 antigenů v 33 skupinových systémech. Nově objevené antigeny jsou oficiálně inaugurovány na pravidelných kongresech International Society of Blood Transfusion. (4)

Každý skupinový systém obsahuje různý počet antigenů a je jednoznačně určen geneticky. Většina krevních skupinových systémů je dána jedním genem, méně často pak dvěma, nebo třemi. V následující tabulce je pro příklad uvedeno několik z nich. (5)

**Tabulka 2 - Lidské krevní skupinové systémy**

Skupinový systém	Počet antigenů	Název genu	Číslo chromozomu
<b>ABO</b>	4	<i>ABO</i>	9
<b>MNS</b>	43	<i>GYP A, GYP B, GYP E</i>	4
<b>P</b>	1	<i>P1</i>	22
<b>Rh</b>	49	<i>RHD, RHCE</i>	1
<b>Lutheran</b>	19	<i>LU</i>	19
<b>Kell</b>	25	<i>KEL</i>	7
<b>Lewis</b>	6	<i>FUT3</i>	19
<b>Duffy</b>	6	<i>DARC</i>	1
<b>Kidd</b>	3	<i>SLC14A1</i>	18
<b>Diego</b>	21	<i>SLC4A1</i>	17

Zdroj: ČERMÁKOVÁ, Zuzana, Martin KOŘÍSTKA a Alena MALUŠKOVÁ. *Imunohematologie*. Ostrava: Ostravská univerzita v Ostravě, 2008. ISBN 978-80-7368-600-0, str. 34

Významnou roli hrají antigeny s vysokou frekvencí výskytu v populaci (HFA), vyskytují se u více jak 90 % jedinců. Naproti tomu existují i antigeny s nízkou frekvencí výskytu (LFA), s výskytem v populaci menším než 1 %.

(4)

## 7. IMUNOGLOBULINY – OBECNÁ STRUKTURA

Jedná se o sérové proteiny patřící při elektroforéze bílkovin ke gama-globulinové frakci. Molekuly všech imunoglobulinů jsou tetramery a mají v podstatě stejnou stavbu. Tvoří je dva identické těžké řetězce, označované písmenem H (heavy), jejichž molekulová hmotnost se pohybuje mezi 50 000 – 70 000 Daltony, a dva identické lehké řetězce, označované jako light – L, molekulová hmotnost L řetězců se pohybuje okolo 25 000 Daltonů. Lehké i těžké řetězce jsou navzájem poutány disulfidickými můstky.

(5)

Imunoglobuliny připomínají tvar písmene Y. Jeho kratší raménka označujeme jako Fab fragmenty. Delší raménko pak jako Fc fragment. V místě rozvětvení se nachází takzvaná pantová oblast. Molekula imunoglobulinu má díky této oblasti schopnost měnit úhel rozvětvení kratších ramének, což ji umožňuje překlenout zeta potenciál při navazování antigenů. Vazba antigenů se děje na Fab fragmentech. Fc fragment molekuly slouží jako efektorový úsek. Zprostředkuje reakce zahájené protilátkou a vazbu na buňky, které mají příslušný receptor, popřípadě je místem vazby komplementu.

(5)

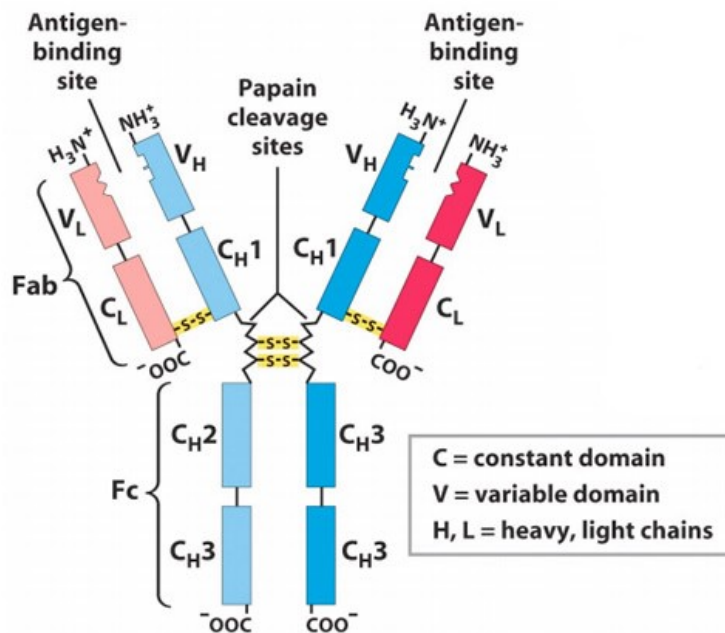
Vazba antigenu na imunoglobulin může být zprostředkovaná díky variabilní části řetězců (VH, VL), které se nachází na koncích ramének Fab fragmentu, který vytváří vazebné místo pro antigen (CDR). Většinou část molekuly tvoří konstantní oblast (CH1, CH2, CH3 a CL). Mezi nimi se objevují takzvané „join“ – spojovací řetězce (JL a JH).

(5)

Variabilní část neboli oblast se liší složením aminokyselin na N koncích peptidových řetězců. Díky variabilitě těchto oblastí existují různé druhy protilátek. Konstantní část je neměnná a je blíže C koncům.

(4)

**Obrázek 1 - Struktura imunoglobulinu**



**Antigen binding site** vazebné místo pro antigen

**Papain cleavage sites** místo štěpení papainu

**C = constant domein** konstantní domény řetězce

**V = variable domain** variabilní doména

**H = heavy chains** těžké řetězce

**L = light chains** lehké řetězce

*Zdroj: MANDAL, Ananya. Antibody Function. News Medical life sciences. 2012 [cit 2018-05-30]  
Dostupné z: <https://www.news-medical.net/image.axd?picture=2012%2f11%2fparts+of+the+antibody.jpg>*

## **7.1 Třídy imunoglobulinů**

Imunoglobuliny rozdělujeme do pěti tříd, přičemž každá třída může mít i podtřídy. V imunohematologii pracujeme s imunoglobuliny tříd IgG a IgM, výjimečně pak s imunoglobuliny třídy IgA. Poslední dvě třídy IgE a IgD se v imunohematologii neuplatňují. Molekula IgM je největší, jedná se o pentamer. Jejich pět základních imunoglobulinových jednotek dává celkem 10 vazebných míst pro vazbu antigenu. IgM protilátky taky velmi dobře aktivují komplement, k aktivaci stačí vazba pouze jedné

molekuly imunoglobulinu na buněčný povrch, ta je následně schopna vyvolat zánik buňky. (5)

Imunoglobulin třídy IgG je tvořen jedinou základní imunoglobulinovou jednotkou = monomer. Na základě odlišností v sekvenci aminokyselin v určité části gama řetězce v molekule IgG rozeznáváme další podtřídy tohoto imunoglobulinu označené číslicemi: IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>. Rozdíly ve stavbě řetězců ovlivňují vazbu komplementu. Podtřídy IgG<sub>1</sub> a IgG<sub>3</sub> váží komplement velmi silně, podtřída IgG<sub>2</sub> jen za určitých podmínek, kdežto podtřída IgG<sub>4</sub> neváže komplement vůbec. Síla vazby komplementu na imunoglobulin navázaný na erytrocytu potom ovlivňuje rychlost hemolýzy. (5)

Jednotlivým třídám imunoglobulinů přísluší vždy různé typy řetězců, následkem jsou odlišné vlastnosti tříd a podtříd.

**Tabulka 3 - Složení a vlastnosti imunoglobulinů**

Izotyp/třída	H řetězec	L řetězec	konfigurace	Vazba komplementu	Průchod placentou
IgM	μ	K, λ	pentamer	+++	-
IgG <sub>1</sub>	γ	K, λ	monomer	+++	++
IgG <sub>2</sub>	γ	K, λ	monomer	+	+/-
IgG <sub>3</sub>	γ	K, λ	monomer	+++	++
IgG <sub>4</sub>	γ	K, λ	monomer	-	+

Zdroj: ČERMÁKOVÁ, Zuzana, Martin KOŘÍSTKA a Alena MALUŠKOVÁ. *Imunohematologie*.

Ostrava: Ostravská univerzita v Ostravě, 2008. ISBN 978-80-7368-600-0, str. 8

## 7.2 Další rozdělení protilátek:

Podle teplotního optima dělíme protilátky na tepelné, chladové a bifázické. Tepelné protilátky reagují nejlépe při teplotě 37 °C, destrukci erytrocytů způsobují nejvíce při tělesné teplotě. Chladové protilátky mají teplotní optimum okolo 20 °C, jsou většinou třídy IgM. Protilátky bifázické reagují tak, že se váží na antigen při nízkých teplotách, ale teprve při vyšší teplotě (37 °C) způsobí hemolýzu. (4)

Dle schopnosti způsobit aglutinaci erytrocytů dělíme protilátky na kompletní a inkompletní. Erytrocyty na sebe vzájemně působí odpudivými silami tak, že udržují mezi sebou navzájem určitou vzdálenost. Odpudivé síly mezi erytrocyty nazýváme zeta potenciál. Imunoglobuliny třídy IgG jsou monomerní a nedokáží zeta potenciál erytrocytů překlenout. Nejsou tedy schopny vzájemně propojit jednotlivé erytrocyty. Aglutinaci způsobí až po snížení povrchového napětí erytrocytů, které má za následek jejich vzájemné přiblížení. Mluvíme o takzvaných inkompletních protilátkách. Naproti tomu protilátky třídy IgM jsou natolik velké, že přímo způsobí aglutinaci erytrocytů.

(7)

Dále rozdělujeme protilátky na pravidelně se vyskytující v lidském séru (tzv. pravidelné protilátky), u kterých očekáváme jejich přítomnost a které podmiňují příslušenství ke skupinovým systémům. Nepravidelné protilátky jsou pak takové, jejichž výskyt neočekáváme. Jedinec je získává imunizací.

(5)

### **7.3 Reakce antigenů a protilátek**

Reakce antigenů a protilátek sledujeme laboratorně nejčastěji na sklíčkách, či destičkách, v gelu nebo zkumavkách. Rozlišujeme následující imunochemické reakce. Nejjednodušší je precipitace, kdy antigen v roztoku tzv. vyvločkuje. Reakce je poměrně dobře viditelná v gelu.

(8)

Hemaglutinace znamená shlukování krvinek, antigen je nazýván aglutinogenem a protilátka aglutininem. Při hemaglutinaci se významně uplatňuje zeta potenciál, zmíněný v předchozí kapitole. Po navázání aglutininu a aglutinogen erytrocytů nastává lýza buněk. Pro samotný rozpad erytrocytů, ale samotné navázání protilátky nestačí, při lýze se uplatňuje komplement, který po navázání se na komplex antigen – protilátka vyvolá postupnou aktivaci všech složek komplementu s následkem porušení buněčné membrány a hemolýzu.

(8)



## **8. SKUPINOVÝ SYSTÉM ABO**

### **8.1 Úvod**

Tento krevní skupinový systém objevil Landsteiner v roce 1900. Popsal 3 krevní skupiny A, B a 0. Nezávisle na něm v roce 1907 objevil Jan Jánský i 4. krevní skupinu AB. Tyto 4 krevní skupiny označil římskými číslicemi I – IV. (1)

Antigeny tohoto systému se vyskytují hlavně na erytrocytech, najdeme je ale i na jiných krevních buňkách, kromě granulocytů. V těle se potom vyskytují hlavně na epitelových a endotelových buňkách. Antigeny lze prokázat již u 3 - 4týdenních embryí. K plné expresi antigenů pak dochází okolo 8. – 20. roku života. (5)

### **8.2 Chemická struktura antigenů**

Antigeny systému ABO jsou chemicky oligosacharidy. Každý antigen vzniká z prekursoru = základního oligosacharidového řetězce. Pomocí enzymu alfa-L-fruktosyltransferázy dojde k připojení L-fruktózy na prekursorový řetězec za vzniku antigenu H. Pokud se na antigen H nepřipojí další sacharidová jednotka, projeví se tento antigen ve fenotypu jako skupina 0. Proto se někdy ABO systém označuje jako ABH systém. (4)

Připojením D-galaktózy na antigen H, pomocí enzymu alfa-galaktosyltransferázy vzniká antigen B. V případě připojení N-acetylgalaktosaminu na antigen H pak vzniká antigen A. Enzym katalyzující tuto reakci je N-acetylgalaktosaminyltransferáza. (4)

### **8.3 Skupiny systému ABO**

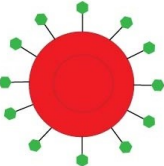
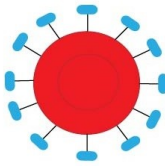
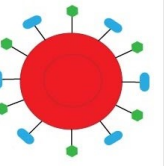
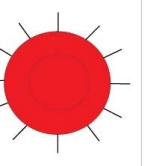






V rámci tohoto systému rozlišujeme 4 základní skupiny: A, B, AB, a 0. Každá skupina je charakterizována výskytem příslušných antigenů na erytrocytech a příslušných protilátek v plazmě. Přehled krevních skupin ABO prezentuje následující tabulka a obrázek.

**Tabulka 4 - Základní charakteristika krevních skupin systému ABO**

Fenotyp	Genotyp	Antigen na erythrocytech	Protilátka v plazmě
<b>0</b>	0/0	nejsou přítomny	anti-A, anti-B, anti-A,B
<b>A</b>	A/A, nebo A/0	A	anti-B
<b>B</b>	B/B, nebo B/0	B	anti-A
<b>AB</b>	A/B	A+B	nejsou přítomny

Zdroj: MASOPUST, Jiří a Martin PÍSAČKA. *Praktická imunohematologie: erythrocyty*. Praha: Mladá fronta, 2016. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-3740-2, str. 39

**Obrázek 2 - Antigeny a protilátky ABO systému**

	Skupina A	Skupina B	Skupina AB	Skupina 0
Erythrocyty				
Protilátky = aglutininy	 Anti - A	 Anti - B	Žádné	 Anti - A + Anti - B
Antigeny = aglutinogeny	 A antigen	 B antigen	 A i B antigen	Žádné

Zdroj: Fontana, J., Trnka, J., Ivák, P., et al. *Funkce buněk a lidského těla*. Praha: 3.lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze, [online] 2014, 1(1), [cit 2018-05-1].  
Dostupné z: <http://fbt.cz/wp-content/uploads/2013/12/krevni-skuiny-01.jpg>

Krevní skupina je od narození neměnná. Jediná možnost trvalé změny krevní skupiny je po transplantaci kostní dřeně. Ke změnám v krevní skupině ale může docházet i přechodně, a to patologicky (bakteriální infekce, nebo hematologické malignity). Setkáváme se také s velmi vzácným jevem zvaným získaný antigen B. Jde o přechodný stav aglutinability erythrocytů A některými antiséry B. Tento stav se popisuje

u pacientů s karcinomem tlustého střeva a infekcí E. Coli. Bakteriální enzymy přítomné v krvi nemocného přeměňují N-acetylgalaktosamin na galaktosamin, který je podobný D-galaktóze, tedy antigenu B, proto dochází k reakci s antisérum B. (5)

U hematologických onemocnění, jako je akutní leukémie, nebo myelodysplastický syndrom, se setkáváme se zeslabenou expresí antigenů A, B a H, které působí snížení aktivity specifických transferáz. (5)

## **8.4 Podskupiny systému ABO**

U fenotypů krevní skupiny A a B rozlišujeme podskupiny. Jednotlivé podskupiny se liší kvalitativním i kvantitativním zastoupením antigenů na povrchu erytrocytů. Nejčastějšími podskupinami jsou A1 a A2. Podskupina A1 má na erytrocytech nejvíce antigenu A1, je to proto, že alfa-N-acetylgalaktosaminyltransferáza A1 dokáže přenášet substrát na všechny typy prekurzorových řetězců. Naproti tomu transferáza A2 dokáže přeměnit jen prekurzorové řetězce typu 2. Ostatní řetězce zůstanou ve formě antigenu H. Z pohledu fenotypu se pak jedná o mozaiku. Podskupina A1 exprimuje na svých erytrocytech 8 – 14 x 10<sup>5</sup> antigenních míst, u podskupiny A2 je počet antigenních míst výrazně nižší (1 – 4 x 10<sup>5</sup>). Se stoupajícím číslem podskupiny klesá počet antigenu A a roste počet antigenu H. Podskupiny se od sebe liší rovněž kvalitativní stavbou antigenů. (4)

### **8.4.1 Objevení nové podskupiny B pomocí sérologických a genetických studií**

Pomocí sérologických a DNA vyšetřovacích technik byla zjištěna přítomnost slabého B antigenu na erytrocytech. Takzvaného B (weak, w). Sérum tohoto pacienta obsahovalo aglutinin anti – B, který silně reagoval pouze s normálními B erytrocyty, neaglutinoval však erytrocyty B (w). Genetickými testy bylo zjištěno, že se jedná o mutaci v exonu 7. alely pro enzym glykosyltransferázu, která přeměňuje O – erytrocyty na B – erytrocyty. Tato mutace je zodpovědná za snížení aktivity tohoto enzymu s následným projevem ve fenotypu krevních skupin jako B (w). (10)

## 8.5 Dědičnost krevních skupin

Gen pro ABO systém má 3 základní alely, lokalizované na 9. chromozomu. 2 z alel jsou vzájemně kodominantní. Alela pro antigen A a antigen B. Třetí alela pro antigen O, respektive H, je recesivní a ve fenotypu se projeví pouze u recesivních homozygotů O/O, jak už bylo uvedeno v předchozí tabulce. Genotypová rozmanitost ABO systému výrazně převyšuje jejich fenotypový projev. Například 2 od sebe nerozlišitelné fenotypy krevní skupiny A<sub>1</sub> mohou mít rozdílnou stavbu oligosacharidového řetězce, způsobenou bodovými mutacemi, nebo hybridními přestavbami. Při crossing-overu mohou vznikat raritní přestavby, které už vedou k fenotypovému projevu. Rovněž se mohou vyskytovat chiméry neboli mozaiky, kdy jsou u jednoho pacienta přítomny populace erytrocytů s antigenem H i antigenem A. V séru pak není přítomna protilátka anti-A. (4)

**Tabulka 5 - Fenotypy a genotypy ABO**

Fenotyp	Genotyp
A <sub>1</sub>	A <sub>1</sub> /A <sub>1</sub> , A <sub>1</sub> /A <sub>2</sub> , A <sub>1</sub> /O
A <sub>2</sub>	A <sub>2</sub> /A <sub>2</sub> , A <sub>2</sub> /O
B	B/B, B/O
A <sub>1</sub> B	A <sub>1</sub> /B
A <sub>2</sub> B	A <sub>2</sub> /B
O	O/O

Zdroj: MASOPUST, Jiří a Martin PÍSAČKA. *Praktická imunohematologie: erytrocyty*. Praha: Mladá fronta, 2016. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-3740-2, str. 42

### 8.5.1 Studie zaměřená na exonické mutace asociované se slabým antigenem B

V nedávné studii bylo zjištěno, že mutace v genu pro antigen A může být spojena se slabou formou antigenu B. Dosavadní technické možnosti odhalili v genu pro ABO aminokyselinové substituce, které jsou způsobené mutacemi. Tyto záměny aminokyselin obvykle ovlivňují funkci glykosyltransferázy, nebo její biosyntézu. V této

studii byla prokazována ABO exonická missense mutace, která ovlivňuje expresi antigenu B ve smyslu jeho snížení. Exonové sekvence ABO genu byly analyzovány pomocí Sangerova sekvenování. Antigen B310 s mutací c.28G> A byl exprimován na HeLa buňkách. Tok cytometrie na těchto buňkách HeLa byl proveden po transfekci a aglutinaci buněk HeLa-B weak. Molekula mRNA genu pro ABO byla analyzována pomocí přímého sekvenování a řetězové reakce reverzní transkriptázy-polymerázy v reálném čase. K vyhodnocení potenciálu spárování byl připraven minigenový konstrukt.

Bylo zjištěno, že ABO missense mutace c.28G> ovlivní sdružování molekuly RNA v genu pro ABO, a tím může ovlivnit expresi antigenu B natolik, že vytvoří podskupinu podobnou podskupině B3. (11)

## 8.6 Zeměpisný výskyt krevních skupin

Rozvrstvení krevních skupin v populaci není rovnoměrné, určité zeměpisné oblasti jsou typičtější výskytem vždy určité krevní skupiny. Zastoupení krevních skupin v populaci v ČR prezentuje následující tabulka.

**Tabulka 6 - Zastoupení krevních skupin v populaci ČR**

Krevní skupina	Frekvence výskytu %
<b>A</b>	40 – 44, (z toho 80 % A <sub>1</sub> a 20 % A <sub>2</sub> )
<b>B</b>	15 – 18
<b>AB</b>	8 – 9
<b>0</b>	30 - 34

*Zdroj: MASOPUST, Jiří a Martin PÍSAČKA. Praktická imuno hematologie: erytrocyty. Praha: Mladá fronta, 2016. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-3740-2, str. 41 (upraveno)*

Rozložení krevních skupin v populaci ČR víceméně odpovídá rozvrstvení ve střední Evropě. Obecně lze říci, že krevní skupiny A ubývá směrem ze západu na východ, a naopak tímto směrem roste výskyt krevní skupiny B. Některé severoamerické indiánské kmeny mají až osmdesátiprocentní zastoupení skupiny A. Naopak v centrální Asii žije až 40 % obyvatel se skupinou B.

Nejvíce osob s krevní skupinou 0 je mezi jihoamerickými indiány, kde nacházíme až 100% zastoupení. Nejméně frekventovanou skupinou je skupina AB. Nejvíce populace s touto skupinou žije v Bangladéši. I tak je to pouze 16% zastoupení.(4)

## **8.7 Souvislost genotypu krevních skupin s některými onemocněními**

Je známo, že krevní skupiny mají různé zastoupení v populaci napříč zeměpisnou šířkou i délkou, stejně tak bylo zjištěno, že některé genotypy krevních skupin jsou typičtější u pacientů s určitým onemocněním. Jinými slovy, může být určitá krevní skupina náchylnější k rozvoji onemocnění než jiná.

Tato skutečnost začala být studována od počátku 20. století, kdy bylo zjištěno, že antigeny a protilátky krevních skupin jsou záležitostí genetiky. Chemická identifikace antigenních řetězců na erytrocytech vedla v 50. letech 20. století k pochopení biochemické syntézy těchto antigenních struktur a tím napomohla odhalování některých patologických stavů spojených s genotypem krevních skupin. (12)

### **8.7.1 Asociace krevní skupiny ABO s virem západního Nilu**

Infekce zvaná West Nile virus (WNV) je běžně asymptomatická virová infekce. Může ale způsobit i mírnou horečku západního Nilu (WNF) nebo potenciálně fatální neuroinvasivní onemocnění. V Řecku vypuklo toto onemocnění v roce 2010. Bylo zaznamenáno 262 případů nového kmene Lineage 2 s velmi vysokou úmrtností (až 17 %). Tato forma onemocnění probíhá symptomaticky.

Cílem studie probíhající v letech 2010 – 2013 bylo vyšetřit krevní skupiny ABO, antigen D, krevní skupiny Lewis, a rovněž i alely HLA I. a II. třídy ve vztahu k úmrtnosti na onemocnění WNV, kmen Lineage 2. Výsledkem studie bylo objevení A a D negativity antigenů jako nového rizikového faktoru spojeného s výskytem onemocnění WNV a jeho zvýšenou mortalitou. Další poznatky poukazují na možnost, že alely HLA C, HLA DRB1 a HLA DQB1 jsou spíše ochranné alely, na rozdíl od DRB1 alely, která je více "náchylná" k této infekci. (13)

### 8.7.2 Asociace genotypu ABO s vývojem rakoviny žaludku

Studie zjišťovala, jak stav infekce bakterií *Helicobacter pylori* a krevní skupina ABO ovlivňují vývoj karcinomu žaludku, vzhledem k multifaktoriální a specifické etiologii podle místa rakoviny (noncardia a kardia) a jejímu histologickému typu (intestinální nebo difúzní). Studie byla provedena u 997 pacientů s noncardia typem rakoviny. Byly zavedeny také více variabilní logistické regresní modely.

Bylo zjištěno, že genotyp ABO s alelou B je spojen s významně nižším rizikem rakoviny žaludku typu noncardia (NCGC) u obou histologických typů (jak intestinální, tak difúzní). Přičemž snížení rizika pro NCGC bylo výraznější v difúzním typu než v intestinálním typu. Nejvýrazněji však snižovala riziko vzniku NCGC eradikace *H. pylori*. Proto by jeho eradikace měla být považována stále za primární opatření v prevenci NCGC. (14)

### 8.7.3 Asociace genotypu ABO s perorální submukózní fibrózou (OSMF)

Orální submukózní fibróza je onemocnění, které je jedním z nejčastějších premaligních stavů hlavně v indickém subkontinentu. Hlavní příčinou je tradiční používání ořechů z palmy *Areca vulgaris* a různých přípravků z nich vyrobených. Míra maligní transformace tohoto onemocnění je 7 % až 14 %.

Cílem studie bylo zhodnotit souvislost krevní skupiny s výskytem perorální submukózní fibrózy. Studie byla provedena v nemocnicích na 164 pacientech. 180 zdravých jedinců představovalo srovnávací skupinu. Výsledkem bylo zjištění, že pacienti s krevní skupinou A mají vyšší riziko vzniku OSMF ve srovnání s ostatními. Díky použití rutinních metod na terénních programech při stanovování krevních skupin mohou být náchylní jedinci snadněji identifikováni a upozorňováni, aby přestali s tradičním užíváním oříšků Areky, a tak se vyvarovali možných komplikací. (15)

### 8.7.4 Asociace genotypu ABO s onemocněním diabetes mellitus

Existují hypotézy, že genetická predispozice krevní skupiny v systému ABO je spojena s výskytem onemocnění diabetes mellitus 2. typu. Tato studie měla za cíl prověřit potenciální souvislost mezi ABO – skupinovým systémem a pozitivitou

antigenu D s výskytem onemocnění diabetes mellitus 2. typu. Existuje řada studií a materiálů prověřujících souvislost mezi těmito dvěma faktory. K analýze bylo použito 47 dokumentů z různých databází. Zjištěno bylo, že krevní skupina B je skutečně spojena s vysokým výskytem tohoto onemocnění. Naproti tomu, krevní skupina 0 má s tímto onemocněním minimální souvislost. Krevní skupiny A a AB byly rozloženy téměř stejně u diabetické i nediabetické populace. Souvislost onemocnění diabetes mellitus 2. typu s pozitivitou antigenu D nebyla prokázána. (16)

### **8.7.5 Asociace ABO fenotypu s hemofilií typu A**

Stále se navyšují důkazy o vazbě mezi ABO (popřípadě H) determinantami krevních skupin s hemostázou. Konkrétně ABO-příbuzné glykosylační vzorce von Willebrandova faktoru silně ovlivňují jeho funkční hladiny, a to může přispět k interindividuálním změnám biologického poločasu faktoru VIII (FVIII) u pacientů s hemofilií typu A. (Hemofilie typu A je definována jako dědičné onemocnění z nedostatku faktoru VIII.)

Studie publikovaná v roce 2017 se zabývala rolí ABO krevních skupin při regulaci imunogenicity faktoru VIII (FVIII) a vyhodnocovala jeho distribuci u pacientů s velmi nízkou hladinou tohoto faktoru (FVIII <1 IU/dl). Studie probíhala v kohortě italský pacientů se závažnou hemofilií typu A. U 209 těchto pacientů s hemofilií A byla distribuce faktoru VIII v ABO skupinách podobná distribuci ve zdravé populaci. Distribuce inhibitorů faktoru VIII byla rozvinuta u 56 pacientů, což je celkově 26 %. Distribuce inhibitoru u těchto pacientů se v jednotlivých krevních skupinách významně lišila, s nejnižším výskytem u krevní skupiny 0. Rozdíl byl ještě zřetelnější potom, co byly zvažovány pouze inhibitory s vysokým titrem.

Relativní rizika pro hemofilii A u krevní skupiny 0 versus krevní skupiny jiné než 0 byly počítány pro libovolné inhibitory s vysokým titrem. Statistické zpracování dat bylo provedeno z multivariační logistické regrese. U krevní skupiny 0 bylo prokázáno až dvojnásobně nižší riziko výskytu inhibitoru. Zatímco vysoce rizikové pro výskyt inhibitoru byly mutace FVIII. Ze studie tak vyplývá, že fenotyp krevní skupiny 0 má jistý protektivní charakter pro výskyt a distribuci inhibitorů FVIII. Pro potvrzení tohoto zjištění jsou však zapotřebí podrobnější studie. (17)



### 8.7.6 Asociace krevní skupiny s rozvojem trombózy

Non-0 alely genotypu ABO byly spojeny se zvýšeným rizikem trombózy. Cílem studie bylo zhodnotit souvislost mezi fenotypem krevní skupiny a trombózou protézových chlopní.

V této retrospektivní studii byla hodnocena souvislost mezi krevními skupinami a trombózou protetických ventilů. Jako vyšetřovací metoda byla zvolena transesofageální echokardiografie, která byla provedena u 149 pacientů s diagnózou trombózy protetických ventilů a zároveň u 192 zdravých, tzv. kontrolních jedinců. Bylo zjištěno, že výskyt neúčinné antikoagulace byl vyšší u pacientů s trombózou protetických ventilů než u kontrolních osob, stejně tak i přítomnost středně těžkého až těžkého kontrastu levé síňové spontánní ozvěny. Pacienti s non-0 krevní skupinou měly vyšší výskyt obstrukčních trombů a trombotických příhod v centrálním nervovém systému než pacienti s krevní skupinou 0. Non-0 krevní skupina může být tedy rizikovým faktorem trombózy z protetického ventilu u pacientů s protetickými srdečními chlopněmi. (18)

### 8.8 H systém

Antigen H, jak už bylo zmíněno výše, je prekurzorem pro tvorbu antigenů skupinového systému ABO. Proto H systém úzce souvisí s ABO systémem. Zahrnuje pouze jeden antigen H, přítomný na krevních buňkách (hematopoetických buňkách, erytrocytech a megakaryocytech), ale i na ostatních buňkách těla, v plazmě a tělních tekutinách. Antigen H se vyskytuje na všech erytrocytech, kromě tzv. fenotypu Bombay, kdy se jedná se o autozomálně recesivní mutaci způsobující nefunkčnost enzymu fukosyltransferázy FUT1 (H) a současně nefunkčnost, případně delecí FUT2 (Se). Vzniká tak genotyp hh sese, kdy na erytrocytech není přítomen žádný antigen H, ani A, nebo B a v plazmě je přítomna protilátka anti-H. Jestliže na erytrocytech chybí prekurzor H, je tím znemožněná i vazba monosacharidových jednotek krevní skupiny A, nebo B. Příslušné transferázy, katalyzující vznik finálních antigenních řetězců A a B na erytrocytech, pak nemají pro své působení žádné substráty, a tedy ani produkty.

(4)

Může existovat i částečně deficitní antigen H. Velmi málo funkční FUT1 má za následek slabou expresi antigenu H na erytrocytu. Případně může dojít k přeměnám na antigen A, nebo B pomocí příslušných transferáz. Tyto antigeny však nejsou přítomny ve slinách nebo jiných tělních tekutinách. V plazmě je stejně jako v předchozím případě přítomna protilátka anti-H. Jedná se o takzvané nonsekretory. (viz následující kapitola)

(4)

Za zmínku stojí i fenotyp para-Bombay, kdy jedinec má na erytrocytech opět slabě exprimovaný antigen H, případně i A, nebo B. V plazmě je však přítomna protilátka anti-H. Antigen H tak může být přítomen i ve slinách a jedná se o takzvaného H deficitního sekretora. Geneticky se tento případ liší od předchozího tím, že jedinec má funkční alelu Se. Popsáno bylo celkem asi 20 mutací FUT1 asociované s deficitem antigenu H, a tak se mohou nacházet v populaci i další typy tohoto deficitu. Fenotyp H<sub>m</sub> má na rozdíl od předchozích popsanych deficitů méně výraznou zeslabenou expresi antigenu H.

(4)

### 8.8.1 Protilátky systému H

Protilátka anti-H může být dvojího typu. 1. typ se vyskytuje jen u fenotypu Bombay (O<sub>h</sub>), jedná se o hemolyzin, který váže komplement a aglutinin, který je nejaktivnější při 4 °C i při 37 °C. 2. typ protilátky anti-H je slabá chladová protilátka. Při 37 °C reaguje pouze zřídka. Kromě fenotypu O<sub>h</sub>, nemají anti-H protilátky klinický význam. Pouze u fenotypů Bombay a para-Bombay je nutné podávat příjemcům erytrocyty O<sub>h</sub>, tedy bez antigenu H. Vzhledem k velmi nízké frekvenci výskytu tohoto fenotypu v populaci, může být někdy obtížné tyto transfuzní přípravky najít, proto existuje evropská banka zmražených erytrocytů, případně lze erytrocyty najít v registrech vzácných dárců. Anti-H protilátky reagující při 37 °C mohou falešně ovlivňovat stanovení krevní skupiny. Jako diagnostické erytrocyty nelze v tomto případě použít skupinu 0.

(4)

Velmi ojediněle může dojít k hemolytické potransfuzní reakci způsobené protilátkami anti-HI. Dochází k tomu pouze u jedinců z velmi vysokým titrem anti-HI reaktivních při 37 °C.

(4)

## 8.9 Sekretorství krevních skupin

Antigeny A a B jsou přítomny téměř na všech buňkách těla a mohou být i vylučovány do plazmy a tělních tekutin ve formě tzv. solubilních glykoproteinů. Antigeny u takovýchto jedinců pak lze prokázat i v tělních tekutinách jako jsou sliny, slzy, pot, žaludeční šťáva. Sekretorství je dáno alelami *Se* a *se*, lokalizovanými na 19. chromozomu. Jedinci vylučující své krevní skupinové vlastnosti do tělních tekutin jsou nazýváni sekretoři, jejich genotyp je *Se/Se*, nebo *Se/se*. V Evropě je asi 80 % populace sekretorů a pouze 20 % nonsekretorů s genotypem *se/se*. Všichni sekretoři vylučují antigen H, dále vylučují antigen A a B dle příslušnosti ke krevní skupině. (5)

**Tabulka 7 - Sekretoři a nonsekretoři**

	Krevní skupina	Sekretorství antigenu
<b>Sekretoři 80 %</b>	A	A, H
	B	B, H
	AB	A, B, H
	0	H
<b>Nonsekretoři 20 %</b>	A	-
	B	-
	AB	-
	0	-

Zdroj: ČERMÁKOVÁ, Zuzana, Martin KOŘÍSTKA a Alena MALUŠKOVÁ. *Imunohematologie*.

Ostrava: Ostravská univerzita v Ostravě, 2008. ISBN 978-80-7368-600-0, str. 39

### 8.9.1 Asociace genotypu sekretora se složením střevní mikroflóry

Ve Velké Británii byl prováděn výzkum na asociaci sekretorství krevních skupin ABO a uspořádáním mikroflóry člověka u dvojčat. Genetika je jedním z několika faktorů, které udávají mikrobiální kompozici lidského střeva. Rozdíly mezi pacienty v jednotlivých genetických faktorech, které vedou k rozdílné sekreci antigenů do lumen střev, mohou vést ke změnám v mikrobiálním složení. Jedním z takovýchto faktorů je

antigen krevního skupinového systému ABO. Tyto antigeny se nenachází pouze na erythrocytech, ale jsou rovněž vylučovány do sliznicových povrchů obsaženy v tělních tekutinách. Jedinci sekretující antigeny ABO do tělních tekutin mají gen FUT2. Předchozí studie poukazyvaly na rozdíly v mikrobiální kompozici u jednotlivých ABO genotypů a genotypů sekretorů. Nicméně, kvůli omezenému množství použitelných metod zůstávají tyto studie neprůkazné. Tato studie se snažila určit vztah mikrobioty k ABO sekretorství ve velkém panelu, který zahrnoval 1503 jedinců z kohort dvojčat z Velké Británie. Na rozdíl od předchozích zpráv, robustní souvislost mezi buď ABO systémem nebo sekretorovými fenotypy a střevní kompozicí mikroflóry nebyly detekovány. Celková struktura komunity, její rozmanitost a relativní výskyt jednotlivých taxonů nebyl s ABO genotypem významně spojen. Závěr studie byl tedy takový, že i přes předchozí zprávy o asociaci taxonomického zastoupení střevních mikrobů s ABO genotypem, nebo sekretory, nebyla tato souvislost na 1503 osobách z Velké Británie prokázána. (19)

## **8.10 Protilátky v systému ABO**

### **8.10.1 Aglutininy**

Jde o přirozené a pravidelné protilátky anti-A, anti-B a anti-AB. Přirozeným protilátkám říkáme aglutininy. V těle jedince se utvářejí postnatálně, již od prvních měsíců života. Vznik těchto pravidelných protilátek je následkem styku organismu se substancemi A a B pocházejících z okolního prostředí, například jsou obsaženy v potravě. Jedinec si tvoří protilátku na základě imunologického pravidla, tedy proti tomu antigenu, který se nevyskytuje na vlastních erythrocytech. V séru lze protilátku prokázat obvykle od 3. – 6. měsíce věku. Hladiny jako u dospělých jedinců dosáhnou v 5 – 10 letech. Takto vznikající protilátky jsou třídy IgM. Výjimečně mohou být i tříd IgG a IgA.

Pokud jsou protilátky v séru novorozence prokázány dříve než ve 3. měsíci, jde pravděpodobně o protilátky mateřského původu třídy IgG, které procházejí transplacentárně z matky na plod. Až průkaz protilátek IgM poukazuje na nemateřský původ. (4)

### 8.10.2 Přirozené nepravidelné protilátky

Přirozené nepravidelné protilátky spadají obvykle do třídy IgM. Jejich teplotním optimem je teplota okolo 20 °C, při 37 °C se jejich účinek ztrácí. Příkladem takovéto protilátky je anti-A<sub>1</sub>, nacházející se u krevní skupiny A, B, ale i u slabých podskupin A.

(4)

### 8.10.3 Zkříženě reagující protilátky

U pacientů s krevní skupinou 0 obsahuje krevní plazma nejen anti-A a anti-B, ale hlavně i zkříženě reagující protilátku anti-AB. Tato protilátka zkříženě reaguje se strukturami společnými pro antigeny A i B. Protilátky anti-A a anti-B nejsou směsí protilátek anti-AB, protože reagují jen s korespondujícím antigenem.

(5)

### 8.10.4 Imunní protilátky

Během těhotenství vznikají v těle matky i imunní protilátky ABO systému, ty jsou výhradně třídy IgG. Vznikají tehdy, pokud plod má jinou krevní skupinu než matka. U žen s krevní skupinou 0 a plodem A může být tvorba protilátek velmi významná. Díky transplacentárnímu přechodu IgG protilátek mohou vyvolat mírnou formu HON. Viz kapitola Hemolytické onemocnění novorozence.

(5)

K imunizaci může docházet i uměle, po vakcinaci, nebo inkompatibilní transfuzi. Dříve se prováděla i aktivní imunizace dárců. Po imunizaci se zvyšuje jak titer protilátek, tak i jejich síla a avidita. Teplotní optimum se pohybuje okolo 37 °C.

(4)

### 8.10.5 Autoprotilátky a defektní skupiny

Autoprotilátky se v tomto skupinovém systému vyskytují velmi vzácně. Příkladem může být anti A<sub>1</sub>I, anti-B<sub>I</sub>, anti-B<sub>II</sub>. Výjimečně mohou způsobit autoimunitní hemolytickou anémii = AIHA.

(4)

Naopak častější může být chybění, nebo velmi nízká koncentrace přirozených pravidelných protilátek = aglutininů. Dochází k ní u novorozenců, u hypogamaglobulinémie (u mnohočetného myelomu, chronické lymfatické leukémie a maligních lymfomů), nebo při některých výměnných léčebných metodách jako je

například plazmaferéza. Dalším příkladem chybění aglutininu jsou již zmíněné chiméry = mozaiky, kde chybí protilátka proti další populaci erytrocytů. Například geneticky se může jednat o krevní skupinu 0, jedinec má však přítomnou i populaci erytrocytů s antigenem A, protože nemá v séru patřičnou protilátku. K mozaikám dochází například u dvojčat, kdy na základě imunologické tolerance druhého sourozence s jinou krevní skupinou nevznikl aglutinin. (4)

## **8.11 Klinický význam ABO systému**

### **8.11.1 Historie krevních transfuzí**

Jedná se o převod krve dárce do těla příjemce za účelem zlepšení zdravotního stavu pacienta. První pokusy transfuzí prý provedl už v roce 1638 Francis Potter na psech. (1)

Nejdůležitějším mezníkem pro úvahu krevní transfuze jako léčebné metody bylo objevení krevního oběhu Williamem Harvyem v roce 1616, který tak vyvrátil dosavadní spekulativní domněnky o lidském těle. První historicky doloženou transfuzi provedl v roce 1666 anatom Richard Lower. V 17. století byla provedena první technicky úspěšná transfuze u člověka, provedl ji lékař Ludvíka XIV Jean Bapstiste Denis. V této době probíhaly pokusy o krevní transfuze i při duševních onemocněních, nebo jako léčba při sešlosti věkem. Zázračný účinek krevních transfuzí se ovšem nepotvrdil a na konci 17. století byly tyto nesmyslné pokusy zakázány. V 19. století bylo dokázáno, že transfundovat lze pouze lidskou krev. Byla provedena první úspěšná čistě lidská transfuze lékařem James Blundellem, který tak zachránil několik pacientů. Avšak stále přetrvávaly neúspěchy transfuzí a úmrtí příjemců krve. Neúspěchy byly způsobeny hlavně neznalostí složení krve. Proto pro rozvoj krevní transfuze hrál ve 20. století naprosto klíčovou roli právě objevený skupinový ABO systém. (20)

Jak už bylo zmíněno, ABO systém má při krevních transfuzích největší klinickou roli. Při podání inkompatibilní krve dochází k intravaskulární hemolýze a rozvoji akutní hemolytické transfuzní reakci, ta může být spojena s diseminovanou intravaskulární koagulací, renálním selháním až úmrtím. (5)

Rozlišujeme dva typy inkompatibility. Velká inkompatibilita znamená, že protilátky příjemce navozují rychlou destrukci podaných erytrocytů dárce. Podáme-li pacientovi s krevní skupinou 0 erytrocyty krevní skupiny AB, k akutní hemolytické potransfuzní reakci = AHTR dojde již po převodu několika mililitrů. Naproti tomu malá inkompatibilita se projeví až po převodu několika set mililitrů transfuzního přípravku obsahujícího plazmu. Vzniká tak, že protilátky dárce destruuji erytrocyty v těle příjemce. (5)

K akutní hemolytické potransfuzní reakci dochází zejména při velké inkompatibilitě. Při vzniku malé inkompatibility je AHTR velmi vzácná. Klinicky nevýznamné je také vyšetřování protilátek anti-A1, protože reagují pouze při 20 °C a tak nejsou schopny vyvolat AHTR. Pacient ale vyžaduje sledování. (4)

### **8.11.2 Význam krevní skupiny při opakované zátěži dárce**

Dárcovství krve vede k podstatné ztrátě železa. Jeho chronický nedostatek je dobře známou komplikací pravidelného darování krve. Současná studie porovnávala sérovou hladinu feritinu, hladinu železa, celkovou vazebnou kapacitu železa (TIBC) a procento saturace transferinu v různých krevních skupinách typu ABO a v Rh systémech dobrovolníků z Bangladéše. Současná prospektivní studie zahrnovala 100 zdravých dárců dobrovolníků navštěvujících oddělení transfuze krve v Dhaka Medical College v období od července 2013 do června 2014. Od každého byla odebrána dávka 10 ml vzorku žilní krve a rozdělena na heparinizované a ne-heparinizované vzorky pro stanovení hemoglobinu (Hb) a hematokritu (Hct), sérového železa (SI), celkové vazebné kapacity a sérového feritinu. Bylo vypočítáno procento saturace transferinu (TS) ze séra a TIBC. Data byla analyzována pomocí softwaru SPSS.

Mezi dárci bylo zastoupení krevních skupin takovéto: 18,0 % dárců bylo krevní skupiny A, 35,0 % B, 14,0 % příslušelo ke skupině AB a 33,0 % mělo krevní skupinu 0. 91,0 % bylo RhD pozitivní a 9,0 % RhD negativní.

Dárci s krevní skupinou A měli nejvyšší úroveň TIBC. Dárci s krevní skupinou B měli nejnižší hladinu sérového feritinu. Studie ukázala i statisticky významný rozdíl v sérovém feritinu a procentuální saturaci transferinu mezi krevní skupinou AB a krevní skupinou 0. Významný rozdíl byl rovněž v procentech nasycení transferinu mezi krevní

skupinou B a krevní skupinou 0. Dárci krve s krevní skupinou B měli nejnižší saturaci transferinu železem.

Studie vedla jednoznačně k pochopení, že různé krevní skupiny mají různé schopnosti zachovat si železo ve svém systému. Tato studie může také poskytnout nahlédnutí do jejich schopností zvládat určitá onemocnění, jako jsou například anémie s nedostatkem železa. (21)

### **8.11.3 Inkompatibilita krevní skupiny v těhotenství**

Klinický význam systému ABO v těhotenství je velmi malý. K rozvoji HON dochází velice vzácně, zejména pokud je matka krevní skupiny 0 a dítě skupiny A1, případně B. Je to hlavně proto, že přirozené protilátky matky třídy IgM neprostupují placentou a imunní protilátky anti-A a anti-B jsou třídy IgG, jsou tedy inkompletní a nejsou schopny aktivovat komplement. Navíc erytrocyty plodu mají na svých erytrocytech jen velmi nízký počet antigenů, k tomu obsahují jejich tělní tekutiny A a B solubilní substance, které mohou případné IgG imunní protilátky neutralizovat. (5)

### **8.11.4 Význam ABO systému v transplantační medicíně**

Daleko větší klinickou úlohu hraje ABO systém v transplantační medicíně, protože ABO protilátky jsou velmi častou příčinou rejekce transplantovaných orgánů (zejména těch prokrvených: srdce, jater, plic, ledvin). Ve výjimečných případech lze transplantovat i ABO inkompatibilní ledviny. Pacientovi se uměle snižují hladiny anti-A a anti-B plazmaferézami. Zároveň se pacientům podává intravenózně anti-CD20. (4)

#### **8.11.4.1 Transplantace ledvin provedená u ABO inkompatibilních pacientů**

Při transplantacích ABO inkompatibilních ledvin se výrazně rozšiřuje zdroj orgánů a s ním i pravděpodobnost nalezení vhodného dárce. Tato studie byla prováděna na 14 pacientech a u všech případů ABO-inkompatibilní renální transplantace byla použita léčba pomocí specifické anti-A, nebo anti-B protilátky, pomocí imunoabsorpce a pomocí anti-CD20 monoklonální protilátky. Příjemci byli krevní skupina 0 a B. Dárci byli skupiny A1, A2, A2B a B. U příjemců byly zjišťovány reakce na některé antigeny,



například reaktivita anti-lidského leukocytového antigenu (HLA), reaktivita těchto protilátek byla negativní u všech příjemců s výjimkou jednoho.

Všichni příjemci byli před transplantací podrobeni 3 – 6 plazmaferézám za použití A nebo B sacharidových antigenních kolon, dokud jejich titry při provedení NAT (nepřímého antiglobulinového testu) nebyly menší, nebo rovno 8. Příjemci rovněž dostali předoperačně mykofenolovou kyselinu a steroidy.

V počátečním léčebném protokolu byly podávány monoklonální protilátky anti-CD20 pouze příjemcům, kteří dostávali štěpy od dárců skupiny A<sub>1</sub>. Následně tento léčebný protokol zahrnoval protilátky anti-CD20 i pro příjemce B štěpů. Jeden štěp skupiny B byl ztracen při těžké akutní rejekci zprostředkované protilátkami anti-B i přes to, že donor byl HLA identický.

Celkové přežití štěpu bylo tedy 13/14, přičemž pozorovací rozsah pacientů byl 2 až 41 měsíců. Po 1 roce od transplantace byl u pacientů měřen sérový kreatinin jako ukazatel funkce ledvin. Průměrná hodnota byla 113 mmol/l. Glomerulární filtrace u pacientů byla průměrně 55 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (Fyziologické rozmezí GF je 24 až 77).

U 5 pacientů, byly tyto hodnoty měřeny dříve než po jednom roce. Průměrný sérový kreatinin dosahoval hodnot 145 mmol/l po 2 až 9 měsících sledování. Titry protilátek anti-A, nebo anti-B byly v rozmezí 2 až 32.

Z výsledků této studie vyplývá, že při provedení ABO inkompatibilní renální transplantace za použití A a B sacharidů, a za použití léčebného protokolu s protilátkami anti-CD20 má transplantovaný štěp vynikající přežití i funkci.

(22)

## **9. RH SYSTÉM NA ERYTROCYTECH**

### **9.1 Historie a úvod**

Tento systém antigenů objevil v roce 1940 Landsteiner a Wiener. Poprvé byl popsán na opicích *Maccacus Rhesus*, odsud název Rh. Jeho pravděpodobnou funkcí je membránový transport amoniaku, tato teze však není potvrzena.

(5)

Rh systém zahrnuje nejvíce antigenů ze všech krevních skupinových systémů. V současnosti je známo 56 antigenů, přičemž nejdůležitější z nich je antigen D. Potom antigeny C, c, E, e, C<sup>w</sup>. Antigeny se mohou vyskytovat v různých variantních a zeslabených formách, zejména antigen D. (5)

Z důvodu možnosti výskytu různých variantních forem antigenů je Rh systém nejpolymorfnějším systémem s největší aloimunogenicitou. Antigeny tohoto systému jsou přítomny pouze na erytrocytech, případně jejich vývojově mladších formách. Nalézáme je už od 6. týdne intrauteriního života. (4)

## 9.2 Nomenklatura systému

V praxi se běžně používají dvě historické nomenklatury: Fischerova „písmenková“ (CDE nomenklatura) a Wienerova numerická nomenklatura (Rh1). Z praktického hlediska je přehlednější používání Fischerova systému. Písmeno malé d představuje deletovaný, či inaktivovaný antigen D. Fenotyp je vždy dán kombinací dvou různých haplotypů. (5)

**Tabulka 8 - Fischerova a Wienerova nomenklatura, zastoupení Rh haplotypů ve střední Evropě**

Fisherova nomenklatura	Wienerova nomenklatura	Frekvence výskytu v %
<b>DCe</b>	R <sub>1</sub>	41
<b>DcE</b>	R <sub>2</sub>	14
<b>Dce</b>	R <sub>0</sub>	3
<b>DCE</b>	R <sub>z</sub>	<1
<b>dce</b>	r	39
<b>dCe</b>	r'	1
<b>dcE</b>	r''	<1
<b>dCE</b>	r <sup>y</sup>	0,01

Zdroj: ČERMÁKOVÁ, Zuzana, Martin KOŘÍSTKA a Alena MALUŠKOVÁ. *Imunohematologie*. Ostrava: Ostravská univerzita v Ostravě, 2008. ISBN 978-80-7368-600-0, str. 42

### **9.3 Struktura Rh proteinů a antigenů**

Významné jsou dva vysoce homologní geny RHD a RHCE lokalizované na 1. chromozomu, které kódují proteiny RhD a RhCcEe. Oba tyto proteiny jsou tvořeny polypeptidovým řetězcem o 417 aminokyselinách. Řetězec prochází erytrocytární membránou 12x a na její vnější straně tvoří 6 smyček, na kterých jsou lokalizovány vlastní antigeny Rh. Vždy dva stejné proteiny Rh tvoří v membráně spolu s glykoproteiny tetramerické komplexy, které se s dalšími membránovými strukturami seskupují do Rh komplexu. (5)

Jak už bylo zmíněno v předchozím odstavci, Rh antigeny jsou lokalizovány na vnějších smyčkách Rh proteinů. Počet antigenů se v případě antigenu D pohybuje mezi 10 000 – 30 000, v případě antigenu C/c, nebo E/e je to asi 40 000. Tyto počty jsou na erythrocytech zachovány za předpokladu normální exprese. Počty závisí na genotypovém uspořádání (například exprese antigenu D je vyšší při uspořádání genu C v pozici cis, naopak v pozici trans je exprese antigenu D slabší.) Dále závisí na tom, zda je jedinec homozygot, či heterozygot pro daný antigen (tzv. efektu dávky). Zvýšené počty antigenu D na erythrocytech jsou nalézány v případech, kdy chybí antigeny C/c a E/e. Naopak snížené počty nalézáme u slabých antigenů, nebo u některých D variantních typů. (5)

### **9.4 Antigen D**

Hlavní a nejvýznamnější antigen tohoto systému. Je souborem řady D epitopů na povrchové části Rh proteinu. D epitop představuje prostorově jedinečné uspořádání 3 – 5 aminokyselin na extracelulární části Rh proteinu. V současnosti lze monoklonálními protilátkami IgM rozeznat více než 30 různých epitopů. Imonologická jedinečnost a velmi silná imunogenicitu tohoto antigenu je způsobená hlavně tím, že RhD negativním jedincům nechybí pouze antigen D, ale celý protein RhD. Tito jedinci mají pouze protein RhCcEe a po styku s antigenem D tvoří velmi rychle protilátky, protože jejich imunitní systém od sebe velmi dobře rozpoznává proteiny RhCcEe a RhD, které se liší 31 – 35 aminokyselinami. Pro srovnání, ostatní erythrocytové antigeny se od sebe liší většinou jednou aminokyselinou, z čehož plyne i výrazně nižší imunogenicitu pro antigen negativní jedince na rozdíl od Rh systému. (5)

Počet antigenů D na erythrocytech se pohybuje mezi 10 000 – 30 000. Snížený počet se vyskytuje nejčastěji u haplotypu dCe, nebo dCE, kdy je C v pozici trans, nebo také u hereditární sférocytózy. Naopak zvýšený počet antigenů D na erythrocytu nacházíme tehdy, nachází-li se C v pozici cis a zároveň chybí některé antigeny C/c, E/e. V tomto případě počty antigenů mohou dosáhnout počtů až 100 000 – 200 000. (4)

## **9.5 Zvláštní formy Rh fenotypů**

Velmi vzácně mohou antigeny tohoto systému na erythrocytech zcela chybět. Tomuto fenotypu říkáme syndrom Rhnull, nebo mohou být antigeny velice zeslabené a detekovatelné pouze nejcitlivějšími metodami – u fenotypu Rhmod. U syndromu Rhnull jsou abnormální erythrocyty rozeznatelné již morfologicky. Většinou bývá přítomna stomatocytóza a sférocytóza. Mají také abnormální obsah vody a sníženou osmotickou rezistenci. Oba fenotypy jak Rhnull, tak Rhmod bývají spojeny s hemolytickou anémií. (5)

Dále lze mezi zvláštní Rh fenotypy zařadit i variantní, nebo zeslabené formy.

### **9.5.1 Varianty antigenu D**

Variantní antigen D se kvalitativně odlišuje od antigenu D, tím že na jeho proteinu Rh D chybí některé epitopy. Rozlišujeme více než 50 variantních forem.

(4)

**Tabulka 9 - Vybrané variantní antigeny D**

Název	Riziko aloimunizace u příjemce	Počet D na erythrocytech	Populace	Poznámka
DII	+	3200	kavkazská	Společně s Ce
DIIIa	+	12300	černošská	Společně s ce G+
DIIIb	+	neuveдено	černošská	Společně s ce G-
DIIIc	+	22300	kavkazská	Společně s ce G+
DIII typ 4	+	33300	kavkazská	
DIVa	+	9300	černošská	Společně s ce Go(a+)
DIVb	+	4000	kavkazská, japonská	Společně s Ce, cE Go(a-)
DIV typ 3	-	600	kavkazská	Společně s Ce
DIV typ 4	-	neuveдено	neuveдено	společně s Ce

Zdroj: MASOPUST, Jiří a Martin PÍSAČKA. *Praktická imuno hematologie: erythrocyty*. Praha: Mladá fronta, 2016. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-3740-2, str. 82

Počet Rh proteinů s variantním antigenem (kvalitativně změněným) na erythrocytu může být normální, nebo mírně snížený. V důsledku těchto kvalitativních změn se mohou u Rh variantních jedinců vytvářet protilátky proti normálním antigenům Rh D. Variantní antigeny se vyskytují na proteinech RhD i RhCeEe. Častěji jsou však nalézány na proteinu Rh D s frekvencí výskytu asi 1 % všech RhD pozitivních jedinců. (5)

### 9.5.2 Slabé antigeny D (D-weak)

Jedná se o kvantitativně změněnou expresi antigenu D na erythrocytu. Na takovýchto erythrocytech potom nalézáme nižší počet kopií příslušného Rh proteinu, přičemž jejich epitopová mozaika je nezměněna. Podkladem k této kvantitativní změně jsou bodové mutace na genech RhD, ty vedou k substituci aminokyselin v membránové a intracelulární části Rh D proteinu. Počet kopií je pak na povrchu erythrocytu snížen. Extracelulární část proteinu zůstává nezměněna, a tudíž není prokazatelná monoklonálními protilátkami. (5)

Jedinci se slabými antigeny D nebývají normálním antigenem D imunizováni, přesto se někdy u těchto jedinců objeví tvorba protilátky anti D. Tuto imunizaci lze vysvětlit tím, že některé změny v Rh proteinu na vnitřní membráně erythrocytu mohou mít za následek prostorové přeuspořádání smyček proteinu na vnější straně, a imunitní systém na tuto změnu může reagovat tvorbou protilátky. (5)

Rozeznáváme více než 70 typů slabých forem antigenu D. Tyto typy se od sebe nijak zvlášť fenotypově neliší. Některé z typů slabých forem antigenu D jsou uvedeny v následující tabulce. (4)

**Tabulka 10 - Vybrané slabé formy antigeny D**

Název	Riziko aloimunizace u příjemce	Počet antigenů D na erythrocytech	Populace
typ 1	-	1285	kavkazská
typ 2	-	489	kavkazská
typ 3	-	1932	kavkazská
typ 4	-	2288	kavkazská
typ 4.1	-	3811	kavkazská
typ 5	-	296	kavkazská
typ 15	+	297	kavkazská
DEL (3 různé typy)	-	velmi nízký	východní Asie

Zdroj: MASOPUST, Jiří a Martin PÍSAČKA. *Praktická imuno hematologie: erythrocyty*. Praha: Mladá fronta, 2016. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-3740-2, str. 83

Slabé antigeny jsou označovány jako D<sup>w</sup>, z anglického slova weak = slabý. Variantní antigeny mají označení D<sup>v</sup> Při běžném sérologickém vyšetření rozlišíme pouze D variantní a D zeslabený antigen od D normálních forem, proto jsou abnormální formy antigenu D označovány souhrnně jako D<sup>w/v</sup>. Teprve molekulárně genetické techniky, jako je například PCR, umožní přesnější určení, zda se abnormalita týká kvalitativní (D<sup>v</sup>), nebo kvantitativní (D<sup>w</sup>) změny. (5)

## **9.6 Antigeny C, c, E, e**

Dva alelické páry C/c a E/e jsou produkovány genem RHCE. Polymorfismus, který nalézáme u C/c je dán substitucí 6 nukleotidů RHCE genu a substitucí 4 aminokyselin v proteinu RhCcEe. Základním rozdílem mezi antigeny C a c, je substituce aminokyselin. V antigenu velké C je na pozici 103, nacházející se na druhé extracelulární smyčce proteinu RhCcEe, přítomen serin, kdežto v antigenu malé c je serin v této pozici nahrazen prolinem. Polymorfismus E/e je dán jednak substitucí aminokyseliny a jednak substitucí jednoho nukleotidu. Konkrétně jde o substituci aminokyseliny prolinu za alanin v pozici 226, lokalizované na čtvrté membránové smyčce proteinu. (5)

Početně připadá na jeden erytrocyt 20 000 – 85 000 antigenů C, c, E, e. Početní rozmezí je závislé na fenotypu a genotypu. Nejméně C antigenů se vyskytuje na erytrocytech DCE a DcE, kde jich je i méně než 10 000. Fenotypový projev také závisí na kombinaci genotypu, antigen C je například vyvinutější u genotypu DCe/dce, než u DCe/DcE. (4)

Za zmínku stojí antigen Cw, který je určen substitucí glycinu za arginin v pozici 41 proteinu RhCcEe. Tento antigen se řadí mezi základní Rh antigeny. V populaci má pouze nízkou frekvenci výskytu. V africké populaci je to pouze 1 %, v kavkazské 2 %, v České republice však jeho výskyt dosahuje až 4 – 6 %. (5)

## **9.7 Ostatní Rh antigeny**

Další antigeny Rh systému mají v populaci jak nízkou, tak vysokou frekvenci výskytu. Protilátky proti nim, se vyskytují ale jen velmi vzácně. Jejich diagnostika se v běžných rutinních laboratořích neprovádí a je možná pouze na specializovaných pracovištích. Některé vybrané Rh antigeny jsou shrnuty v tabulce. (5)

**Tabulka 11 - Vybrané antigeny Rh systému**

Název	Číslo	Popis
C <sup>w</sup>	RH8	C weak = slabý, tvořen substitucí glycinu za arginin v poloze 41 proteinu RhCcEe, nejčastěji se vyskytuje u haplotypu DCE. Jeho přítomnost oslabuje antigen C.
C <sup>x</sup>	RH9	Nejčastěji se vyskytuje ve Finsku. Obvyklý u haplotypu DCE, reaguje jen s některými diagnostickými séry anti-C.
E <sup>w</sup>	RH11	Reaguje jen s některými diagnostickými séry anti-E, výjimečně se u těchto jedinců tvoří anti-E aloprotilátka, vždy je spojen s fenotypem DCE.
G	RH12	Téměř vždy doprovází antigen C a D, proto Rh negativní jedinci tvoří protilátku anti-C+D.
Hr <sub>0</sub>	RH17	Protilátka anti RH17 se vyskytuje u D negativních jedinců, kdy chybí i antigeny C,c,E,e.
Hr	RH18	Varianta antigenu e

Zdroj: MASOPUST, Jiří a Martin PÍSAČKA. *Praktická imunohematologie: erythrocyty*. Praha: Mladá fronta, 2016. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-3740-2, str. 76

## 9.8 Protilátky Rh systému

Přirozené a nepravidelné protilátky proti antigenům Rh systému se vyskytují jen velice vzácně, jde spíše o zkříženou reaktivitu těchto protilátek proti podobným strukturám, jako jsou například mikrobiální membrány. Nejčastěji se jedná o protilátku anti-E. (5)

Významné jsou imunní protilátky anti-D, anti-C, anti-E, anti-c, anti-e a anti C<sup>w</sup>. Většina z nich patří do třídy IgG, tedy neaktivují tak komplement. Jedná se o nejčastěji se vyskytující antierytrocytární protilátky. Příkladem je jejich tvorba po opakované imunizaci v těhotenství, kdy se tvoří v důsledku neslučitelnosti antigenů Rh systému u matky a jejího plodu. Nebo může jít o imunizaci na základě transfuze odlišných Rh erytrocytů. Rh protilátky vyvolávají spíše pozdní potransfuzní hemolytické reakce. Klinicky významné je také hemolytické onemocnění plodu a novorozence. (5)

Nejvýznamnější imunní protilátkou, hned po ABO protilátkách, je anti-D, která je schopná vyvolat jak hemolytické onemocnění novorozence, tak i hemolytickou potransfuzní reakci (HTR). Asi 30 % této protilátky obsahuje i složku anti-C, a asi 2 %



obsahují složku anti-E. Až 85 % Rh D negativních příjemců tvoří tuto protilátku ihned po podání Rh D pozitivních erytrocytů. Klinicky nejzávažnější je druhotná imunizace, která vede k vysokému nárůstu koncentrace anti-D protilátky během 3 týdnů. Existují však i takzvaní nonrespondenti, kteří ani po opakovaných transfuzích protilátku anti-D nevytvoří. (4)

Druhou klinicky nejvýznamnější protilátkou je anti-c, která se vyskytuje často společně s anti-E. Rovněž je schopna způsobit jak HON, tak i HTR. Naproti tomu anti-C způsobuje většinou pouze slabou hemolýzu a jen pozdní HTR, HON způsobí jen méně často a obvykle má toto onemocnění mírný průběh. (4)

Protilátka anti-e je nejčastější autoimunitní protilátkou, její působení HON a HTR není opět klinicky významné, většinou mají jen mírný průběh. Za zmínku stojí i v České republice relativně častá protilátka anti-C<sup>w</sup>, která někdy může způsobit HON a slabou HTR. (4)

U osob s variantními antigeny D může docházet k tvorbě protilátek i po kontaktu s normálními formami antigenu D, protože imunitní systém příjemce, který má variantní antigen D rozeznává na normálních formách antigenu D cizí a nevlastní struktury. (4)

## **9.9 Význam Rh systému**

V transfuzní medicíně jde o druhý klinicky nejvýznamnější krevní skupinový systém. RhD antigen je nejvíce imunogenní strukturou erytrocytární membrány vůbec, jeho správné laboratorní stanovení má zásadní význam pro prevenci aloimunizace RhD negativních příjemců. Všichni příjemci transfuze s nestandardním antigenem D<sup>w/v</sup>, ať už se jedná o novorozence, nebo těhotné ženy, jsou vedeni jako Rh D negativní pacienti. Naopak dárce krve s erytrocyty Rh D<sup>w/v</sup>, musí být vedeni jako Rh D pozitivní. Jedině tak lze zabezpečit bezpečné podávání transfuzních přípravků s erytrocyty s variantními, nebo slabými formami antigenu D. (5)

Minimální množství erytrocytů s normálním antigenem D, které je schopné vyvolat imunizaci, je již 0,25 ml. Naopak nižší schopnost imunizace má antigen D<sup>w</sup>.

K větším hemolýzám dochází pouze u příjemců, kteří už mají anti-D protilátku vytvořenou. (4)

Schopnost imunizace u antigenu D<sup>y</sup> není přesně známa. Jeho imonegenicita závisí na podaném objemu transfuzních přípravků, na počtu epitopů u dané varianty a na hustotě antigenních míst. Například varianta DIV zřejmě neimunizuje vůbec. Varianty jako DIII, DIVa, DVa mají na Rh proteinu normální počet antigenních míst. Snížený počet antigenních míst nacházíme u variant DFR, DBT, DII a DVI. Roli může hrát i umístění epitopů na erytrocytu, některé z nich mohou být více schované, a tak nevyvolávají silnou imunizaci. (4)

Po podání D+C erytrocytů, dochází k tvorbě protilátek anti-C+G a samostatných anti-G, které však reagují jako anti-D+C. Rozlišování těchto protilátek navzájem ale nemá z hlediska výběru vhodného transfuzního přípravku význam. (4)

Z pohledu netransfuzních medicínských oborů je Rh systém člověka ještě významnější než ABO systém, protože správná diagnostika antigenu D, D<sup>v/w</sup> a Rh protilátek hraje významnou roli při prevencích hemolytického onemocnění novorozenců. (5)

## 10. HEMOLYTICKÉ ONEMOCNĚNÍ NOVOROZENCE

Název onemocnění byl zmiňován již výše, v souvislosti s antigeny a protilátkami v Rh systému. Jeho klinický význam je tak veliký, že si zaslouží věnování samostatné kapitoly.

Jedná se o stav, při němž mají erytrocyty plodu, nebo novorozence zkrácené přežívání s následnou hemolýzou, která je způsobena mateřskými protilátkami IgG. Podle toho, do jakého skupinového systému protilátky řadíme, rozdělujeme HON do 3 kategorií. Rh HON, kdy se uplatňují protilátky anti-D, anti-C+D, anti-D+E. Dále potom ABO HON s protilátkami anti-A a anti-B, třetí skupinu tvoří protilátky z ostatních systémů. Mezi klinicky nejvýznamnější protilátky patří anti-D, anti-c, anti-K a anti-E.

(23)

Příčinou tohoto onemocnění je tvorba aloimunních protilátek proti erytrocytům plodu během těhotenství. Tvoří se specifické protilátky na základě inkompatibility erytrocytových antigenů matky a plodu. Erytrocyty pronikají během porodního krvácení přes placentu do krevního oběhu matky, kde způsobí její aloimunizaci. Matka tvoří specifické protilátky třídy IgG, které při dalším těhotenství pronikají placentou do krevního oběhu plodu a působí tak hemolýzu a zkrácené přežívání jeho erytrocytů. Příčinou aloimunizace matky může být i předchozí prodělaná tranfuze, v tomto případě se uplatňují nejvíce protilátky anti-K a k HON může dojít již po prvním porodu. Faktory ovlivňující imunizaci matky jsou shrnuty níže v tabulce.

(4)

**Tabulka 12 - Faktory ovlivňující míru imunizace**

<b>Imunologické hledisko</b>	<b>Faktory ovlivňující míru imunizace</b>
	Specifita protilátky, její množství a avidita
	Podtřída protilátky, např.: IgG1 a IgG1+IgG3 způsobují těžší HON, než samotná podtřída IgG3.
	Síla exprese daného antigenu na erytrocytech plodu
	Stupeň proliferace monocyto-makrofágového systému plodu (MMS)
	Přítomnost daného antigenu i na jiných tkáních a buňkách plodu, než na erytrocytech
	Přítomnost mateřských blokujících protilátek = interferují se schopností imunoglobulinu vázat se na embryonální antigeny.
<b>Fetomaternální krvácení (FMH)</b>	Největší imunizace je při FMH ve třetím trimestru a při porodu
	Míra krvácení

*Zdroj: MASOPUST, Jiří a Martin PÍSAČKA. Praktická imunohematologie: erytrocyty. Praha: Mladá fronta, 2016. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-3740-2, str. 307, (přepřevládáno z textu do tabulky)*

**Tabulka 13 - Rizikové stavy FMH (fetomaternálního krvácení)**

<b>Předporodní</b>	Spontální potraty, hlavně ve 2. a 3. trimestru, interrupce, mimoděložní těhotenství, mrtvý plod, odběr choriových klků
<b>Porodní</b>	Cisařský řez, manuální vybavení placenty, komplikovaný a dlouhý porod, zevní obrat plodu (při poloze koncem pánevním)
<b>Abnormality placenty</b>	Tumor placenty, subchoriální, nebo retroplacentární hematom
<b>Ostatní</b>	Transfuze, rozsáhlé trauma (břišní trauma)

*Zdroj: MASOPUST, Jiří a Martin PÍSAČKA. Praktická imunohematologie: erytrocyty. Praha: Mladá fronta, 2016. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-3740-2, str. 307*

Transport protilátek IgG přes placentu je pouze jednosměrný proces. V počátečních stádiích těhotenství proniká transplacentárně pouze malé množství IgG protilátek, postupně se toto množství zvyšuje. Na tomto aktivním transplacentárním přenosu se podílejí receptory Fc, lokalizované v placentě a označované jako FcRn. Protilátky v těle plodu potom působí destrukci fetálních erytrocytů, jejich rozpadem se uvolňuje velké množství nekonjugovaného bilirubinu, během těhotenství stihá být tento nekonjugovaný bilirubin většinou konjugován v játrech matky. Po porodu však nestíhají játra novorozence konjugovat uvolněný bilirubin, čímž se zvyšuje jeho koncentrace v krvi. (4)

Nekonjugovaný bilirubin se tak kumuluje v některých orgánech, nejvíce v mozku, protože molekula nekonjugovaného bilirubinu je výrazně lipofilní a má dobrou afinitu k CNS. Bez léčby dochází k trvalému poškození mozku novorozence. Zvýšený rozpad erytrocytů vede také k hemolytické anémii novorozence, na kterou reaguje zvýšením extramedulární erythropoézy, která vede k hypertenzi portální vény a selhávání funkce jater. Dysfunkce jater je pak příčinou hypoproteinemie, hlavně hypoalbuminemie, která má za následek snížená onkotického tlaku vedoucímu k ascitu až hydropsu plodu. V konečných fázích dochází ke smrti plodu. (4)

## 10.1 Rh HON

Nejčastější příčinou tohoto onemocnění je protilátka anti-D, která je až v 30 % případů schopná vyvolat těžkou formu HON. Matka Rh D negativní tvoří protilátku anti-D, tato IgG protilátka, schopná transplacentárního přechodu, indukuje u plodu destrukci Rh D pozitivních erytrocytů. Rozvíjí se anémie, ascites až hydrops, který může skončit až úmrtím plodu v období 17. týdne. U narozených dětí s HON mívá dítě žloutenku a je následkem kumulace nekonjugovaného bilirubinu ohroženo trvalým poškozením mozku. (5)

Rh HON se rozvíjí u matek, které již byly imunizovány před těhotenstvím. Prvotní imunizace matky probíhá obvykle při prvním těhotenství, kdy ve třetím trimestru pronikají erytrocyty plodu do oběhu matky. Jejich množství je prozatím tak malé, že nedochází k tvorbě protilátek. Avšak při druhém inkompatibilním těhotenství je toto malé množství vzniklých protilátek schopno nastartovat u matky sekundární imunitní odpověď s tvorbou velkého množství anti-D protilátek. (4)

K imunizaci matky ale nemusí docházet vždy při inkompatibilitě v Rh systému. Například pronikne-li při FMH do oběhu matky jen malé množství fetálních erytrocytů k imunizaci dojít nemusí. Někteří jedinci – nonrespondeři protilátky netvoří. Navíc určitou ochranu před imunizací matek může mít paradoxně inkompatibilita v ABO systému, protože ABO inkompatibilní erytrocyty plodu jsou po proniknutí do matčiny cirkulace okamžitě destruovány protilátkami anti-A a anti-B. (4)

Ženy mohou tvořit protilátku anti-D také na základě variantního antigenu D. Byly popsány i těžké formy HON kdy matka byla variantní Rh DIV a plod Rh D pozitivní. Většinou je však průběh onemocnění mírný a těžké formy jsou spíše vzácné, proto je těžké předpokládat imunogenicitu variantních antigenů v případě HON. (4)

Mechanismus účinku anti-D protilátek není doposud zcela objasněn a je velmi složitý. HON může být způsobeno také protilátkami anti-c. V tomto případě však neexistuje žádná prevence onemocnění, protože není známa žádná imunoprofylaxe. (5)

Imunizaci Rh-D negativních matek lze ve většině případů zabránit již zmíněnou imunoprofylaxí. Rodičkám je ihned po porodu podán imunoglobulin anti-D. Tato anti-D

imunoprofylaxe může zabránit imunizaci až 99 % matek. I přes podání profylaxe Rh D negativním matkám však může dojít k imunizaci. Pouze však ve 0,02 % případů. V rámci prevence HON platí také pravidlo, že všechny Rh D negativní ženy v produktivním věku dostávají při případných transfuzích pouze Rh D negativní přípravky. (23)

Použitím rutinní antenatální anti-D profylaxe (RAADP) se prudce snížil výskyt a mortalita HON z neslučitelnosti v Rh systému. Rovněž se výrazně zlepšila schopnost identifikovat těhotenství, která jsou ohrožena HON. Provádí se otcovské molekulární RhD testy a neinvazivní fetální molekulární diagnostika, která detekuje předpokládaný antigen (zejména antigen D) u plodů. Tato diagnostika využívá cff-DNA v mateřské plazmě. Fetální RhD genotypizace pomocí cff-DNA se stává stále přesnější metodou detekce antigenu D. V současné době je kladen důraz na výzvy, aby se u rodiček bez antigenu D profylaxe pomocí RAADP prováděla cíleně. (24)

Vyšetření jako arteriální Dopplerovská ultrasonografie pro předpovědi plodové anémie a neinvazivní fetální molekulární diagnostika výrazně snížila potřebu invazivní diagnostiky u těhotných žen ohrožených HON. Toto hodnocení zdůrazňuje molekulární pokrok v prenatalní diagnostice související s HON. (24)

## **10.2 ABO HON**

Výskyt tohoto onemocnění je častější než v případech Rh HON. U černošské populace je to až 6x častěji než HON z inkompatibility v Rh systému. Nejčastěji vzniká u matek s krevní skupinou 0, nesoucí plod skupiny A, nebo B. Výjimečně pak i u jiných inkompatibilit, například u matek A<sub>2</sub> a plodů B. Na rozdíl od Rh HON dochází k tvorbě imunitních protilátek již při prvním těhotenství, a to z toho důvodu, že protilátky anti-A a anti-B jsou v organizmu již přítomny. (4)

Toto onemocnění má většinou mírný průběh. Příčinou je přítomnost substance A, nebo B v tkáních a tekutinách plodu, nebo nezralost antigenů, kdy mají erytrocyty málo antigenních míst. Typická pro toto onemocnění je poporodní žloutenka, která nastává do 24 hod a většinou rychle odezní. Výměnná transfuze je potřebná jen velice vzácně. Z důvodu, že onemocnění nemá nijak dramatický průběh a nedochází ke vzniku anémie, neprovádí se predikace rizika vzniku onemocnění během těhotenství. (5)

### **10.3 Ostatní HON**

Mezi HON z inkompatibility v jiných systémech než v ABO a v Rh se řadí onemocnění Kell HON. Tento skupinový systém bude popisován v další kapitole.

Toto onemocnění se vyznačuje převážně spíše útlumem erythropoézy než hemolýzou, která je hlavním problémem předchozích dvou typů HON. Titr protilátek nemá v tomto případě vypovídající hodnotu o tíži anémie. Vznikající protilátka anti-K inhibuje peptidázovou funkci glykoproteinu Kell, což je jeden z prvních proteinů, který se objeví na erythrocytech. Protilátka anti-K pak tímto způsobem odstraňuje z erythrocytů velmi rané a důležité prekurzory erythropoézy. (4)

Aloimunizace matek je nejčastěji způsobena při podání TP, které jsou Kell pozitivní. Jako prevence je zakázáno podávat Kell pozitivní přípravek Kell negativním ženám ve fertilním věku. Podobný efekt jako protilátka anti-K může mít i protilátka anti-M. (4)

Poněkud zvláštní formou je tzv. LFA HON, které se objevují velmi nečekaně a způsobují velké komplikace u novorozence a plodu. V těžkých případech může docházet i k úmrtí *in utero*. LFA protilátky většinou nejsou detekovatelné screeningovými testy, které se u těhotných žen provádí. (4)

Jak je patrné, potenciál indukovat HON má celá řada protilátek. Jedinou podmínkou je, aby imunoglobulin byl třídy IgG a příslušný antigen, se kterým imunoglobulin reaguje, byl exprimován i na erythrocytech plodu. Proto je důležité toto onemocnění nepodceňovat a vždy s ním seznamovat pacienty, kteří jsou touto problematikou dotčeni a částečně ohroženi. (4)

### **10.4 Nejčastější klinické projevy HON**

Klinické projevy HON jsou pro toto onemocnění typické a velmi charakteristické. U více typů HON (Rh HON, nebo ABO HON) se vyskytují souhlasné projevy, a to proto, že ať už k onemocnění dochází z více příčin, výsledkem je vždy nadměrný rozpad erythrocytů, ze kterého klinické projevy plynou. (25)

**Tabulka 14 - Klinické projevy HON**

<b>Projev</b>	<b>Příčina</b>
<b>Ikterus</b>	Nadměrný rozpad erytrocytů, degradace hemu na bilirubin, neschopnost konjugovat bilirubin
<b>Anémie</b>	Nadměrná hemolýza a potlačení erythropoézy
<b>Encefalopatie (porucha přijímání potravy, ztráta Morova reflexu, křeče, vyklenutá fontanela, hluchota, mentální retardace, smrt)</b>	Vysoká koncentrace nekonjugovaného bilirubinu, který je lipofilní
<b>Hepatosplenomegalie</b>	Erytroidní hyperplazie při chronické anémii
<b>Edém, ascites, hydrops</b>	Chronická anémie
<b>Kardiální selhání</b>	Chronická anémie
<b>Smrt plodu, novorozence</b>	Neléčená těžká anémie a hyperbilirubinemie

*Zdroj: MASOPUST, Jiří a Martin PÍSAČKA. Praktická imunohematologie: erytrocyty. Praha: Mladá fronta, 2016. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-3740-2, str. 310*

## **10.5 Léčba HON**

Podle koncentrace celkové hladiny bilirubinu v krvi novorozence je léčba odstupňovaná. Nejlehčí případy vyžadují pouhé pozorování, těžší pak fototerapii, která má zabránit dalšímu vzrůstu hladiny bilirubinu a snížit jeho toxicitu. V případech, kde fototerapie jako léčba selhává, se přistupuje k výměnné transfuzi s cílem odstranit erytrocyty novorozence s navázanými protilátkami a omezit tak probíhající hemolýzu.

(26)

Transfuzní výměna se doporučuje novorozencům s celkovými hladinami sérového bilirubinu vyššími než 340  $\mu\text{mol/l}$  ( $\text{TSB} \geq 340 \mu\text{mol/l}$ ), u nichž se předpokládá, že jsou vystaveni riziku mozkové obrny (CP). Nadměrné riziko CP u těchto kojenců však není známo. Touto problematikou se v roce 2015 zabývala studie, jejímž cílem bylo kvantifikovat rizika pro CP, která je spojena s vysokými hladinami TSB.

(27)



Podkladem pro studii byly výsledky 525 409 kojenců, kteří měli poporodní hyperbilirubinemií nebo byli léčeni fototerapií. Všichni novorozenci byli narozeni nejméně v 35. týdnu, celkem v 15 nemocnicích od 1. ledna 1995 do 31. prosince 2011.

Bylo zjištěno, že CP se vyskytla pouze u kojenců, kteří měli alespoň další dva nebo více rizikových faktorů pro neurotoxicitu. U kojenců s nižším stupněm zvýšení hladiny TSB je nadměrné riziko pro CP minimální. (27)

## **11. OSTATNÍ KREVŇÍ SKUPINOVÉ SYSTÉMY**

Asi 20 let po objevení systému ABO bylo dokázáno, že na erythrocytech člověka se nachází ještě další antigenní struktury, které šlo zařadit do dalších skupinových systémů. I tyto antigeny jsou schopny vyvolat imunizaci různé síly a pro zajištění kompatibilní transfuze jsou rovněž velmi důležité. (28)

### ***11.1 Skupinový systém Lewis***

#### **11.1.1 Antigeny systému Lewis**

Antigeny tohoto systému jsou chemicky sacharidy, které jsou vázané na glykolipidy přítomné ve slinách a krevní plazmě. Z plazmy jsou pak sekundárně naadsorbovány na membránu erythrocytů. Mezi dva základní antigeny Lewis systému patří antigen Le<sup>a</sup> a Le<sup>b</sup>. Antigeny jsou nepřímými produkty genu Le (FUT3), lokalizovaném na 19. chromozomu. Le gen produkuje fukosyltransferázu, která je zodpovědná za připojení fukózy k prekurzoru H za vzniku antigenu Le<sup>a</sup>, nebo Le<sup>b</sup>. (5)

Tento skupinový systém souvisí se sekretorstvím krevních skupin, protože biosyntéza těchto antigenů je závislá právě na genu pro sekretorství FUT2, lokalizovaném rovněž na 19. chromozomu. Pokud má jedinec oba geny, jak gen pro sekretorství Se, tak i gen Le, potom produkuje antigen Le<sup>b</sup>. Pokud je u jedince přítomen pouze gen Le, potom je na erythrocytech exprimován antigen Le<sup>a</sup>. Existuje také stav, kdy antigeny Lewis nejsou produkovány vůbec, a to tehdy, chybí-li jedinci oba geny (Se i Le). (5)

### 11.1.2 Protilátky systému Lewis a význam systému v transfuzi

Jedná se o přirozené protilátky třídy IgM. Většinou jsou nejreaktivnější při teplotách <37 °C. Pouze vzácně bývají příčinnou potransfuzní reakce, a to tehdy, jsou-li protilátky spíše tepelné a reagují při 37 °C. Takovými příjemcům musí být podávány TP, které jsou Lewis negativní. Provádí se NAT jako zkouška kompatibility při 37 °C. Protilátky nejsou nikdy příčinnou HON, protože novorozenci mají fenotyp Le vždy negativní, a tudíž nemohou imunizovat matku. (5)

### 11.1.3 Fenotypy krevní skupiny Lewis a ABO ovlivňují Chagasovu chorobu

Chagasova choroba je onemocnění způsobené prvokem *Trypanosoma cruzi*. Choroba může ovlivnit srdce, jícn a tlusté střevo. Důvody, proč onemocnění probíhá v různých klinických formách, nebo zůstává zcela asymptomatické, jsou nejasné. Předpokládá se, že tkáňové imunogenetické markery ovlivňují výskyt *Trypanosomy cruzi* v různých orgánech. Krevní skupinové systémy, jako je systém ABO, sekreторické vlastnosti antigenů a systém Lewis, obsahují v rámci histologie různé antigeny uhlohydrátů ve tkáních, tyto antigeny ovlivňují náchylnost nebo odolnost vůči onemocněním. (29)

Tato studie tedy měla za cíl prověřit souvislost krevních systémů ABO, sekreторů a systému Lewis s klinickými formami Chagasovy choroby. Do studie bylo zařazeno 339 dospělých pacientů s chronickou Chagasovou chorobou bez ohledu na pohlaví. Kontrolní skupina obsahovala 488 zdravých dárců krve. Fenotypy ABO a Lewis byly definovány standardními hemaglutinačními testy. Sekreторické vlastnosti (FUT2) a genotypy Lewis (FUT3) byly stanoveny pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR). Bylo zjištěno, že pacienti, kteří byli sekreторы, navíc s krevní skupinou B a AB, převládali spíše u trávících forem Chagasovy choroby, ve srovnání s fenotypy A a 0 sekreторы. (29)

## 11.2 Skupinový systém Kell

Vyskytuje se pouze na erythrocytech, nikoli na leukocytech nebo trombocytech. V malém množství lze antigeny tohoto systému nalézt ve svalech, nervovém systému a lymfoidních orgánech. (5)

### 11.2.1 Antigeny Kell

Systém zahrnuje celkem 35 antigenů označených čísly. Mezi 2 klinicky nejvýznamnější patří alelický antigen K, nazýván také jako Kell (jehož číslo je KEL1) a antigen k, nazýván také jako Cellano (číslo KEL2). Další klinicky významné antigeny jsou uvedeny v tabulce. (5)

**Tabulka 15 - Antigeny systému Kell**

Číslo antigenu	Název	Fenotyp	Genotyp	Frekvence výskytu
<b>KEL1</b>	K, nebo Kell	KK	K/K	9 %
<b>KEL2</b>	k, nebo Cellano	Kk, nebo kk	K/k, k/k	8 % Kk, 91 % kk
<b>KEL3</b>	Kp <sup>a</sup> , nebo Penny	Kp(a+b-)	Kp <sup>a</sup> /Kp <sup>a</sup>	Vzácně
<b>KEL4</b>	Kp <sup>b</sup> , nebo Rautenberg	Kp(a+b+), nebo Kp(a-b+)	Kp <sup>a</sup> /Kp <sup>b</sup> , nebo Kp <sup>b</sup> /Kp <sup>b</sup>	Kp(a+b+) 2 %, Kp(a-b+) 97 %
<b>KEL5</b>	Ku			≥ 99,9 %
<b>KEL6</b>	Js <sup>a</sup> , nebo Sutter	Js(a+b-)	Js <sup>a</sup> /Js <sup>a</sup>	LFA
<b>KEL7</b>	Js <sup>b</sup> , nebo Matthews	Js(a+b+), nebo Js(a-b+)	Js <sup>a</sup> /Js <sup>b</sup> , nebo Js <sup>b</sup> /Js <sup>b</sup>	Js(a+b+) jen vzácně, Js(a-b+) téměř 100 %

Zdroj: MASOPUST, Jiří a Martin PÍSAČKA. *Praktická imunohematologie: erythrocyty*. Praha: Mladá fronta, 2016. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-3740-2, str. 92

Antigen K je chemicky glykoprotein, jedná se o produkt genu KEL, který je lokalizován na 7. chromozomu. Antigen prostupuje erythrocytární membránou pouze jedenkrát, ale je asociován s XK proteinem, který membránu prostupuje celkem

desetkrát. Chybění tohoto proteinu XK vyvolává takzvaný McLeod fenotyp, při kterém je velmi slabá exprese Kell antigenů na erytrocytech. Velmi vzácně se také může vyskytnout fenotyp K<sub>0</sub>, kdy chybí všechny antigeny Kell, přičemž XK protein je exprimován normálně. Pokud dojde k imunizaci jedince K<sub>0</sub>, vytvoří tento jedinec protilátku anti-Ku. (5)

Antigen K je po antigenu D druhý největší imunogen. Tato velká imunogenita je dána tím, že imunitní systém rozeznává nejen jedinou rozdílnou aminokyselinovou substituci, ale i chybění rozsáhlého glykosylačního řetězce. Jedná se o antigen s velkým počtem antigenních míst na erytrocytech. (4)

### **11.2.2 Protilátky a význam systému Kell**

Obvykle spadají protilátky Kell systému do třídy IgG. Jejich klinický význam je veliký, způsobují hemolytické potransfuzní reakce i HON. Nejčastěji se vyskytující protilátkou je protilátka anti-K. Tvoří se velmi rychle po podání K-pozitivních erytrocytů. Jako u předchozích systémů je doporučeno u K-negativních pacientek ve fertilním věku podávat pouze K-negativní TP. (5)

Protilátka anti-K již byla zmiňována v souvislosti s HON. Toto onemocnění vyvolá v 0,1 % případů ze všech HON. Matka je nejčastěji aloimunizována předchozí transfuzí. Anti-K je schopna vyvolat HON i ve velmi nízkých koncentracích, ve srovnání s anti-D. Způsobuje fetální anémii charakteristickou útlumem krvetvorby. (5)

Ostatní imunní protilátky Kell se vyskytují velmi vzácně. Pokud je však jedinec ve své plazmě obsahuje, je velice těžké pro takového pacienta najít vhodný Kell negativní přípravek. (5)

### **11.3 Skupinový systém Duffy**

Antigeny tohoto systému se vyskytují na erytrocytech, endotelových buňkách, v tlustém střevě, plicích, ledvinách, štítné žláze, slezině a thymu. Nevyskytují se na trombocytech a leukocytech. (4)

### 11.3.1 Antigeny systému Duffy

V udávaném počtu antigenů spadajících do tohoto systému se literatura liší, většinou je udáváno 5 - 6 antigenů, přičemž existují různé varianty těchto antigenů, které jsou velmi těžko identifikovatelné a jejich počet je vzhledem k vyvíjejícím se metodám proměnlivý. (5)

Při fenotypizaci erytrocytů hemaglutinačními metodami vznikají nesrovnatelné a nejednoznačné výsledky. Až metody molekulární genetiky jsou schopny odlišit některé nové varianty antigenů tohoto systému. Gen, který kóduje antigeny systému Duffy, je lokalizován na 1. chromozomu. Tento gen je transkribován jako dvě varianty mRNA, vznikají tak dvě odlišné izoformy transkriptu, a tím i dva odlišné proteinové produkty. Tyto různé alelické formy genu krevních skupin Duffy mohou modifikovat i hladinu exprese antigenu, což způsobuje problémy při fenotypizaci, a vede tak k nejednoznačné sérologii. Jedním z možných vysvětlení takové složitosti mezi antigeny v Duffy systému může být koexprese některých izoform genových produktů a odlišné posttranslační modifikace mezi izoformami. (30)

Antigeny označujeme písmeny a číslicemi FY1 – FY5 (FY6). Mezi klinicky nejvýznamnější patří FY1 a FY2. Někdy bývají také označovány písmeny a a b. Tyto dva antigeny se navzájem liší v jedné aminokyselině v extracelulární části řetězce. Chemicky se jedná o glykoproteiny, které jsou produktem genu DARC, lokalizovaném na 1. chromozomu. (5)

Duffy glykoprotein, nesoucí antigeny tohoto systému, prostupuje membránu erytrocytu celkem 7x, plní funkci chemoreceptoru pro cytokiny (např.: pro IL-8), nebo pro Plasmodium vivax. Proto jsou jedinci s fenotypy Fy(a-b-) rezistentní vůči invazi merozoitů tohoto prvoka způsobujícího malárii. (5)

Antigeny FY1 a FY2 jsou termolabilní a lze je inaktivovat zahříváním erytrocytů na 56 °C po dobu 10 min. Při působení proteolytických enzymů se snižuje aktivita jejich receptorů na erytrocytech. Antigeny FY1 a FY2 jsou poměrně dobře vyvinuty již od narození. (4)

**Tabulka 16 - Antigeny systému Duffy**

Číslo	Název	Fenotyp	Frekvence výskytu v kavkazské populaci
FY1	Fy <sup>a</sup>	Fy(a+b-)	20 – 21 %
FY2	Fy <sup>b</sup>	Fy(a-b+), nebo Fy(a+b+), nebo Fy <sub>null</sub>	32 – 34 %, 40 – 48 %, 0 %
FY3	Fy3		100 %
FY5	Fy5		HFA
FY6	Fy6		HFA

*Zdroj: MASOPUST, Jiří a Martin PÍSAČKA. Praktická imunohematologie: erythrocyty. Praha: Mladá fronta, 2016. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-3740-2, str. 98*

### 11.3.2 Protilátky systému Duffy

Většinou se vyskytují spolu s jinými antierytrocytárními protilátkami. Obvykle jsou třídy IgG1 a jejich klinický význam je poměrně značný. Mohou být příčinou obvykle mírné potransfuzní reakce, nebo vzácně HON. Nejčastěji se vyskytující protilátkou je imunní protilátka anti-Fy<sub>a</sub>, naopak zřídka se vyskytuje protilátka anti-Fy<sub>b</sub>. (5)

V terapeutické transfuzi musí být pro příjemce s Duffy protilátkami zajištěn vždy antigen negativní TP. Protilátky mají imunogenicitu nízkou a jejich schopnost aloimunizace rovněž není velká. (4)

### 11.4 Skupinový systém Kidd

S ohledem na krevní elementy, vyskytuje se pouze na erythrocytech, nikoli trombocytech nebo leukocytech. Rovněž antigeny nalézáme na endotelových buňkách cév. (4)

### 11.4.1 Antigeny systému Kidd

Systém zahrnuje celkem 3 antigeny, které se u plodu vyvíjejí již od 7. – 20. týdne těhotenství. Chemicky se jedná o glykoproteiny, které na membráně erythrocytu plní funkci transportu ury a jsou odolné vůči působení proteolytických enzymů. Membránu erythrocytu prostupuje glykoproteinový řetězec celkem 10x. Geneticky jsou dány genem SLC14A1, který se nachází na 18. chromozomu, alelický pár tvoří Jk<sup>a</sup> a Jk<sup>b</sup>.

(4)

Alelické antigeny Jk<sup>a</sup> a Jk<sup>b</sup> jsou klinicky nejvýznamnější, vzájemně se liší pouze v jedné aminokyselině na extracelulární části. Kombinací těchto dvou alelických antigenů vznikají celkem 4 fenotypy (viz tabulka níže). Fenotyp Jk(a-b-) je dán homozygocíí němé alely Jk, která se vyskytuje velmi vzácně. Nejčastěji u Polynézanů.

(5)

**Tabulka 17 - Antigeny systému Kidd**

Číslo	Název	Fenotyp	Frekvence výskytu v kavkazské populaci
JK1	Jk <sup>a</sup>	Jk(a+b-)	26 – 30 %
JK2	Jk <sup>b</sup>	Jk(a-b+), Jk(a+b+), Jk(a-b-)	23 – 26 % 49 – 50 % vzácně
JK3	Jk3		téměř 100 %

*Zdroj: MASOPUST, Jiří a Martin PÍSAČKA. Praktická imunohematologie: erythrocyty. Praha: Mladá fronta, 2016. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-3740-2, str. 102*

### 11.4.2 Protilátky systému Kidd

Protilátky systému Kidd jsou nejčastější příčinou pozdních hemolytických potransfuzních reakcí. Rovněž mohou být velmi vzácně příčinou těžké akutní potransfuzní reakce, nebo HON.

(5)

Nejčastějšími protilátkami jsou anti-Jka a anti-Jkb, protilátka anti-Jk3 se může vyskytovat pouze u jedinců Jk(a-b-). Specifitu protilátek anti-Jka a anti-Jkb od sebe nelze separovat.

(4)

Imunní protilátky tohoto systému nejsou časté. Většinou se jedná o protilátky třídy IgG3, obvykle se vyskytují i ve směsi s imunoglobuliny IgM. Vzácně však nacházíme pouze samotné IgM. Po imunizaci pacienta po provedení transfuze jejich titr klesá velmi rychle. Proto se i obtížně detekují a jejich specifita je vázána i na jiné imunoglobuliny, se kterými se vyskytují ve směsi. (4)

#### **11.4.2.1 Studie zaměřující se na lepší detekci a screening Kidd protilátek**

Protilátky Kidd jsou proslulé při hemolytické transfuzní reakci. Tato studie porovnávala rychlost detekce anti-Jk<sup>a</sup> při použití gelové aglutinace oproti použití adherence na tuhou fázi v oblasti adherence červených krvinek (SPRCA). Zároveň studie dokumentuje výskyt hemolytických transfuzních reakcí u 17 nedávno transfuzovaných pacientů, kteří vyvinuli protilátku anti-Jk<sup>a</sup>, která byla detekovatelná pomocí metody SPRCA, ale nebyla detekovatelná pomocí gelové aglutinace. (31)

Před 20. dubnem 2011 laboratoř používala aglutinaci gelové kolony jako primární metodu pro screening a identifikaci těchto protilátek. Od 20. dubna 2011 do 12. srpna 2013 byla metoda SPRCA přijata jako primární metoda pro screening protilátek Kidd, přičemž gelová aglutinace zůstala primární metodou pro jejich identifikaci. Studie se snažila prokázat hemolytické reakce u pacientů, jejichž nález protilátky anti-Jk<sup>a</sup> byl negativní nebo nejednoznačný při použití metody gelové aglutinace. Protilátky s tímto nízkým titrem byly však jasně identifikovatelné pomocí SPRCA. (31)

Celkem bylo nalezeno 105 pacientů s protilátkou anti-Jk<sup>a</sup>. U 32 z nich byla anti-Jk<sup>a</sup> nalezena pomocí testů SPRCA i přes to, že za souběžného testování gelovou aglutinací byl výsledek zcela negativní. Sedmnáct z těchto 32 pacientů bylo nedávno transfundováno. (31)

Z výsledků studie vyplývá, že metoda SPRCA pro detekci Kidd protilátek výrazně zvýšila citlivost detekce této klinicky významné protilátky anti-Jk<sup>a</sup>, a usnadnila tak rychlejší využití TP s Jk (A-) erytrocyty. (31)



## **11.5 Skupinový systém MNS**

Už v roce 1927 objevili Landsteiner a Levine aglutinogeny, které označili jako N a M. Jedná se o jeden z nejstarších krevních skupinových systémů. (28)

### **11.5.1 Antigeny MNS**

Systém se kromě erytrocytové řady vyskytuje také na renálních endotelových buňkách. Nenajdeme ho na leukocytech ani trombocytech.

Tento krevní skupinový systém zahrnuje celkem 48 antigenů označených písmeny a číslicemi MNS1 – MNS48. Mezi základní antigeny řadíme prvních 5 antigenů *M*, *N*, *S*, *s*, *U*, které jsou většinou polymorfní. Tento vysoký počet je dán podobností genů podílejících se na vzniku antigenů MNS. Jedná se o geny GYPA a GYPB. (4)

Klinicky nejvýznamnější jsou antigeny MNS1 a MNS2. Vzájemně se liší pouze ve dvou aminokyselinách na glykoforinu A. Podobnou klinickou významnost má i párový antigen **S**, tvořený MNS3 a MNS4. Párové antigeny se liší pouze v jedné aminokyselině na glykoforinu B. Spolu s párovými antigeny S je rovněž exprimován i antigen U.

(5)

### **11.5.2 Protilátky MNS**

Obvykle se jedná o přirozené protilátky třídy IgM, mezi nejznámější patří anti-M a anti-N. Jejich reaktivita je nejvýraznější spíše při chladnějších teplotách <37 °C, přičemž anti-M protilátka může být reaktivní i při 37 °C, to má pak za následek akutní i pozdní hemolytické transfuzní reakce. (5)

Mezi zástupce třídy IgG patří protilátka anti-S a anti-s. Teplotní optimum je při 37 °C. Opět mohou způsobovat hemolytické potransfuzní reakce a HON. Příjemci s těmito protilátkami musí mít při hemoterapii zajištěny TP, které antigeny MNS neobsahují. (4)

## 12. ZÁVĚR

Většina antigenů vyskytujících se na erythrocytech je zařazena do krevních skupinových systémů, existují však i antigeny, které do žádného systému nepřísluší. V rámci jednoho skupinového systému popisujeme vždy antigeny a příslušné protilátky.

Informace o erythrocytárních antigenech, jejich biochemické struktuře a genetickém podkladu, stejně tak jako poznatky o protilátkách a jejich reaktivitě, hrají významnou úlohu v klinické transfuzní medicíně, zejména při inkompatibilních krevních transfuzích. Rovněž jsou tyto poznatky využívány v genetickém lékařství, kdy metody moderní medicíny umožňují nacházet asociace mezi genotypy krevních skupin a některými patologickými stavy.

Lze předpokládat, že v budoucnu se budou tyto poznatky nadále rozšiřovat, a umožní tak lepší identifikaci rizikových dárců, dřívější záchyt některých onemocnění, individuálnější přístup k pacientům a k jejich terapii.

## 13. SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka 1 - Typy a složení membránových antigenů .....</i>	<i>11</i>
<i>Tabulka 2 - Lidské krevní skupinové systémy .....</i>	<i>12</i>
<i>Tabulka 3 - Složení a vlastnosti imunoglobulinů .....</i>	<i>15</i>
<i>Tabulka 4 - Základní charakteristika krevních skupin systému ABO.....</i>	<i>18</i>
<i>Tabulka 5 - Fenotypy a genotypy ABO.....</i>	<i>20</i>
<i>Tabulka 6 - Zastoupení krevních skupin v populaci ČR.....</i>	<i>21</i>
<i>Tabulka 7 - Sekretoři a nonsekretoři .....</i>	<i>27</i>
<i>Tabulka 8 - Fischerova a Wienerova nomenklatura, zastoupení Rh haplotypů ve střední Evropě .....</i>	<i>34</i>
<i>Tabulka 9 - Vybrané variantní antigeny D .....</i>	<i>37</i>
<i>Tabulka 10 - Vybrané slabé formy antigeny D.....</i>	<i>38</i>
<i>Tabulka 11 - Vybrané antigeny Rh systému.....</i>	<i>40</i>
<i>Tabulka 12 - Faktory ovlivňující míru imunizace .....</i>	<i>43</i>
<i>Tabulka 13 - Rizikové stavy FMH (fetomaternálního krvácení) .....</i>	<i>44</i>
<i>Tabulka 14 - Klinické projevy HON .....</i>	<i>48</i>
<i>Tabulka 15 - Antigeny systému Kell .....</i>	<i>51</i>
<i>Tabulka 16 - Antigeny systému Duffy .....</i>	<i>54</i>
<i>Tabulka 17 - Antigeny systému Kidd .....</i>	<i>55</i>

## 14. SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek 1 - Struktura imunoglobulinu .....</i>	<i>14</i>
<i>Obrázek 2 - Antigeny a protilátky ABO systému .....</i>	<i>18</i>

## 15. SEZNAM ZKRATEK

AIHA	autoimunitní hemolytická anémie
AHTR	akutní hemolytická potransfuzní reakce
CP	mozková obrna
FMH	fetomaternální krvácení
FUT 1 (H)	fukosyltransferáza
GF	glomerulární filtrace
GPI	glykosylfosfatidylinositol
Hb	hemoglobin
Hct	hematokrit
HFA	high frequency antigens / antigeny s vysokou frekvencí výskytu
HON	hemolytické onemocnění novorozence
HTR	hemolytická transfuzní reakce
LFA	low frequency antigens / antigeny s nízkou frekvencí výskytu
NAT	nepřímý antiglobulinový test
NCGC	noncardia gastric cancer / nekardiogenní rakovina žaludku
OSMF	perorální submukózní fibróza
PCR	polymerázová řetězcová reakce
RAADP	rutinní antenatální anti-D profylaxe
SI	hladina železa v séru
SPRCA	solid phased red blood cells adherence / adherence erytrocytů na tuhou fázi
TIBC	celková vazebná kapacita transferinu
TP	transfuzní přípravek
TS	saturace feritinu
TSB	hladina celkového sérového bilirubinu
WNV	West Nile virus / virus západního Nilu

## 16. POUŽITÁ LITERATURA

- (1) HRUBIŠKO, M., DOBRÝ, E. **Základy hemoterapie**. Martin: Osveta, 1974, 507 s. Dérerova zbirka
- (2) KULICH, V. **Imunohematologie pro zdravotní sestry**. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1996. Učební text (Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví). ISBN 80-7013-213-2.
- (3) BIČÍK, V. **Základy hematologie a imunohematologie**. Olomouc: Univerzita Palackého, 1992. ISBN 8070671319.
- (4) MASOPUST, J., PÍSAČKA, M. **Praktická imunohematologie: erythrocyty**. Praha: Mladá fronta, 2016. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-3740-2.
- (5) ČERMÁKOVÁ, Z., KOŘÍSTKA M., MALUŠKOVÁ A. **Imunohematologie**. Ostrava: Ostravská univerzita v Ostravě, 2008. ISBN 978-80-7368-600-0.
- (6) MANDAL, A. **Antibody Function**. News Medical life sciences. 2012. [cit. 2018-03-01]  
Dostupné z: <https://www.news-medical.net/image.axd?picture=2012%2f11%2fparts+of+the+antibody.jpg>
- (7) KUBISZ, P., STAŠKO, J. ed. **Hematológia a transfuziológia: učebnica**. Bratislava: Grada Slovakia, 2006. ISBN 80-247-1779-4
- (8) PENKA, M., SLAVÍČKOVÁ, E. **Hematologie a transfuzní lékařství**. Praha: Grada, 2012. ISBN 978-80-247-3460-6.
- (9) FONTANA, J., TRNKA, J., IVÁK, P., et al. **Funkce buněk a lidského těla**. Praha: 3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze, [online] 2014, 1(1), [cit 2018-05-1]. Dostupné z: <http://fb.lt.cz/wp-content/uploads/2013/12/krevni-skuiny-01.jpg>
- (10) ESTALOTE, A. C., PALATNIK, M., CHESTER, M. A., et al. **A novel blood group B subgroup: serological and genetic studies**. *Transfusion Medicine* [online]. 2004, 14(2), 173-180 [cit. 2018-02-27]. DOI: 10.1111/j.0958-7578.2004.00494.x. ISSN 0958-7578. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.0958-7578.2004.00494.x>
- (11) CAI, X., QIAN Ch., WU, W., et al. **An exonic missense mutation c.28G>A is associated with weak B blood group by affecting RNA splicing of the ABO gene**. *Transfusion* [online]. 2017, 57(9), 2140-2149 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.1111/trf.14209. ISSN 00411132. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/trf.14209>
- (12) EWALD, D. R., SUMNER, S. C. J. **Blood type biochemistry and human disease**. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine* [online]. 2016, 8(6), 517-535 [cit. 2018-05-15]. DOI: 10.1002/wsbm.1355. ISSN 19395094. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/wsbm.1355>

- (13) POLITIS, C., PARARA, M., KREMASTINOVA J., et al. **Associations of ABO, D, and Lewis blood groups and HLA Class I and Class II alleles with West Nile virus Lineage 2 disease outcome in Greece, 2010 to 2013.** *Transfusion* [online]. 2016, 56(8), 2115-2121 [cit. 2018-03-03]. DOI: 10.1111/trf.13667. ISSN 00411132. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/trf.13667>
- (14) OH, S., KIM, N., KWON, J-V., et al., **Effect of Helicobacter pylori Eradication and ABO Genotype on Gastric Cancer Development.** *Helicobacter* [online]. 2016, 21(6), 596-605 [cit. 2018-03-03]. DOI: 10.1111/hel.12317. ISSN 10834389. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/hel.12317>
- (15) GOPAL REDDY, V. K., MOON N. J., SHARVA V., et al., **Is there an association between oral submucous fibrosis and ABO blood grouping?.** *Journal of Cancer Research and Therapeutics* [online]. 2016, 12(1), 126 [cit. 2018-03-03]. DOI: 10.4103/0973-1482.151857. ISSN 0973-1482. Dostupné z: <http://www.cancerjournal.net/text.asp?2016/12/1/126/151857>
- (16) MEO, S.A., ROUQ, F.A., Suraya F., et al. **Association of ABO and Rh blood groups with type 2 diabetes mellitus.** *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016, 20 (2), 237-242 [cit. 2018-03-04]. Dostupné z: <https://www.europeanreview.org/wp/wp-content/uploads/237-242.pdf>
- (17) FRANCHINI, M., COPPOLA, A., MENGOLI, C., et al. **Blood Group O Protects against Inhibitor Development in Severe Hemophilia A Patients.** *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* [online]. 2017, 43(01), 069-074 [cit. 2018-03-19]. DOI: 10.1055/s-0036-1592166. ISSN 0094-6176. Dostupné z: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0036-1592166>
- (18) ASTARCIOĞLU, M. A. **ABO blood types: impact on development of prosthetic mechanical valve thrombosis.** *The Anatolian Journal of Cardiology* [online]. 2016, [cit. 2018-03-19]. DOI: 10.14744/AnatolJCardiol.2016.6544. ISSN 21492263. Dostupné z: [http://www.journalagent.com/z4/download\\_fulltext.asp?pdire=anatoljcardiol&plng=en&un=AJC-39260](http://www.journalagent.com/z4/download_fulltext.asp?pdire=anatoljcardiol&plng=en&un=AJC-39260)
- (19) DAVENPORT, E. R., GOODRICH, J. K., BELL, J. T., et al. **ABO antigen and secretor statuses are not associated with gut microbiota composition in 1,500 twins.** *BMC Genomics* [online]. 2016, 17(1), [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.1186/s12864-016-3290-1. ISSN 1471-2164. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5117602/>
- (20) PORTER, R. **Největší dobrodiní lidstva: historie medicíny od starověku po současnost.** Praha: Prostor, 2001. Obzor (Prostor). ISBN 80-7260-052-4
- (21) HOQUE, M. M., ADNAN, S., KARIM, S., et al. **Relationship between Serum Iron Profile and Blood Groups among the Voluntary Blood Donors of Bangladesh.** *Mymensingh Med J* [online]. 2016, 25(2), 340-8 [cit.2018-03-17]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Relationship+between+Serum+Iron+Profile+and+Blood+Groups+among+the+Voluntary+Blood+Donors+of+Bangladesh>

- (22) NORDEN, G., BRIGGS D., COCKWELL P., et al. **ABO-incompatible live donor renal transplantation using blood group A/B carbohydrate antigen immunoabsorption and anti-CD20 antibody treatment.** *Xenotransplantation* [online]. 2006, 13(2), 148-153 [cit. 2018-03-06]. DOI: 10.1111/j.1399-3089.2006.00280.x. ISSN 0908-665X. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1399-3089.2006.00280.x>
- (23) BLECHOVÁ, D. **Prevence hemolytické nemoci novorozenců. Naše předběžné poznatky o exsanguinovaných dětech.** *Lékařské zprávy Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové.* 1971, 16(1), 21-24.
- (24) FASANO, R. M. **Hemolytic disease of the fetus and newborn in the molecular era.** *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* [online]. 2016, 21(1), 28-34 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.1016/j.siny.2015.10.006. ISSN 1744165X. Dostupné z: [https://www.sfnjournal.com/article/S1744-165X\(15\)00127-4/fulltext](https://www.sfnjournal.com/article/S1744-165X(15)00127-4/fulltext)
- (25) ROZTOČIL, A. **Moderní porodnictví.** Praha: Grada, 2008. ISBN 978-80-247-1941-2.
- (26) LEBL, J. **Klinická pediatrie.** 2. vyd. Praha: Galén, c2014. ISBN 978-80-246-2697-0.
- (27) WU, Y. W., KUZNIEWICZ, M. W., WICKREMASINGHE, A. C., et al. **Risk for Cerebral Palsy in Infants With Total Serum Bilirubin Levels at or Above the Exchange Transfusion Threshold.** *JAMA Pediatrics* [online]. 2015, 169(3), 239 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.1001/jamapediatrics.2014.3036. ISSN 2168-6203. Dostupné z: <http://archpedi.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jamapediatrics.2014.3036>
- (28) HRUBIŠKO, M. **Hematologie a krevní transfúze.** Praha: Avicenum, zdravotnické nakladatelství, 1983
- (29) BERNARDO, C. R., CAMARGO, A. V. S., RONCHI, L. S., et al. **ABO, Secretor and Lewis histo-blood group systems influence the digestive form of Chagas disease.** *Infection, Genetics and Evolution* [online]. 2016, 45, 170-175 [cit. 2018-03-19]. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.08.027. ISSN 15671348. Dostupné z: [https://ac.els-cdn.com/S1567134816303653/1-s2.0-S1567134816303653-main.pdf?\\_tid=e385d564-9f07-4eed-8510-181cbf095a9a&acdnat=1527792769\\_28e8dda39f47d2d929dbf547f4dc9c43](https://ac.els-cdn.com/S1567134816303653/1-s2.0-S1567134816303653-main.pdf?_tid=e385d564-9f07-4eed-8510-181cbf095a9a&acdnat=1527792769_28e8dda39f47d2d929dbf547f4dc9c43)
- (30) HÖHER, G., FIEGENBAUM, M., ALMEIDA, S. **Molecular basis of the Duffy blood group system.** *Blood Transfus*[online]. 2018, 16(1), 93–100 [cit. 2018-05-01]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5770319/>
- (31) KAY, B., POISSON, J. L., TUMA, C. V., et al. **Anti-Jk a that are detected by solid-phase red blood cell adherence but missed by gel testing can cause hemolytic transfusion reactions.** *Transfusion* [online]. 2016, 56(12), 2973-2979 [cit. 2018-03-20]. DOI: 10.1111/trf.13782. ISSN 00411132. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/trf.13782>