



**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA**



Ústav hematologie a krevní transfuze

Zdeňka Frišová

**Výskyt nepravidelných erytrocytárních  
protilátek u těhotných vyšetřovaných na  
oddělení imunohematologie ÚHKT**

*Occurrence of irregular red blood cells antibodies in pregnant  
women examined on immunohematological laboratory of  
UHKT*

Diplomová práce

Praha 2008

Autor práce: **Zdeňka Frišová**

Studijní program: **Všeobecné lékařství s preventivním zaměřením**

Vedoucí práce: **MUDr. Martin Písačka**

Pracoviště vedoucího práce: **Ústav hematologie a krevní transfuze**

Datum a rok obhajoby: **11.11.2008**

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci zpracovala samostatně a použila jen uvedené prameny a literaturu. Současně dávám svolení k tomu, aby tato diplomová práce byla používána ke studijním účelům.

V Praze dne 1.11.2008

Zdeňka Frišová

## **Poděkování**

Velmi ráda bych poděkovala MUDr. Martinovi Písačkovi, vedoucímu oddělení imunohematologie ÚHKT, za pomoc, rady a vedení této práce. Dále bych chtěla poděkovat všem pracovníkům oddělení imunohematologie, především Haně Flídrové, kteří mi svým přístupem zajistili optimální podmínky při přípravě práce. Nesmím také zapomenout poděkovat Mgr. Adéle Vaňhalové, která mi ve svém volném čase poskytla důležitou konzultaci ohledně zpracování dat.

# OBSAH

I. ÚVOD .....	8
1. KREV .....	8
1.1 Složení a funkce krve .....	8
2. IMUNOCHEMIE .....	10
2.1 Antigen .....	10
2.1.1 Chemické složení .....	10
2.1.2 Specifita antigenů .....	11
2.1.3 Přirozené antigeny .....	11
2.2 Protilátky .....	12
2.2.1 Imunoglobuliny (Ig) .....	13
2.2.2 Reakce antigenů s protilátkou .....	16
2.2.3 Tvorba protilátek .....	16
2.2.4 Zneškodnění antigenu .....	17
2.3 Imunizace .....	17
3. SKUPINOVÉ SYSTÉMY .....	17
3.1 SKUPINOVÝ SYSTÉM AB0(H) .....	17
3.1.1 Krevní skupiny A, B, AB, 0 .....	17
3.1.2 Podskupiny a varianty ABH .....	18
3.2 Skupinový systém Rh .....	18
3.2.1 Slabé D antigeny .....	20
3.2.2 Rh <sub>null</sub> .....	20
3.2.3 LW antigen .....	20
3.2.4 Rh <sub>mod</sub> .....	21
3.2.5 C <sup>W</sup> alela .....	21
3.2.6 Variantní Rh antigeny .....	21
3.2.7 Rh protilátky .....	21
3.3 Skupinový systém MNSs .....	22
3.4 Skupinový systém P .....	23
3.5 Další skupinové systémy erytrocytů .....	23
3.5.1 Kell-Cellano systém .....	23
3.5.2 Duffy systém .....	24

3.5.3 Kidd systém .....	24
3.5.4 Lutheran systém .....	25
3.5.5 Lewis systém .....	25
3.5.6 Ii antigeny .....	26
3.5.7 Xg antigeny .....	26
3.5.8 Diego systém .....	27
3.5.9 Cartwright systém .....	27
3.5.10 Colton systém .....	27
3.5.11 Dombrock systém .....	27
3.5.12 Sciana systém .....	27
3.5.13 Antigeny s vysokou frekvencí .....	28
3.5.14 Antigeny s nízkou frekvencí .....	28
3.5.15 Chido a Rodgers antigeny .....	28
<b>4. VÝZNAM KREVNÍCH SKUPINOVÝCH VLASTNOSTÍ .....</b>	<b>28</b>
4.1 Význam pro erytrocytární aloimunizace .....	28
4.2 Význam pro transfuzi krve .....	29
4.3 Význam pro imunogenetiku .....	29
4.4 Význam pro získané hemolytické anémie a jiná onemocnění ....	30
<b>5. ERYTROCYTÁRNÍ ALOIMUNIZACE A TĚHOTENSTVÍ .....</b>	<b>30</b>
5.1 Monitorování těhotenství s rizikem aloimunizace .....	30
5.2 Hemolytické onemocnění plodu a novorozence .....	31
5.3 ABO inkompatibilita .....	32
5.4 Rh(D) inkompatibilita .....	33
5.5 Non-Rh(D) inkompatibilita .....	33
5.6 Diagnostika .....	33
5.6.1 Neinvazivní diagnostické metody .....	33
5.6.1.2 Mateřské protilátky .....	33
5.6.1.3 Ultrazvukové vyšetření .....	34
5.6.2 Invazivní diagnostické metody .....	34
5.6.2.1 Amniocentéza .....	34
5.6.2.2 Kordocentéza .....	34
5.7 Terapie anemického plodu .....	35
5.7.1 Intrauterinní transfuze (IUT) .....	35
5.7.2 Nepřímá léčba .....	35

5.7.2.1 Intravenózní sérový imunitní globulin .....	35
5.7.2.2 Intenzivní mateřská plazmaferéza .....	36
5.7.3 Poporodní neonatologická péče .....	36
5.8 Prevence aloimunizace .....	36
5.8.1 Imunoprolaxe anti-D .....	36
5.8.2 Indikace anti-D profylaxe.....	37
5.8.2.1 Těhotenství .....	37
5.8.2.2 Porod .....	38
5.8.2.3 Opomenutí podání IgG anti-D .....	38
<b>II. CÍL PRÁCE .....</b>	<b>39</b>
<b>III. MATERIÁL A METODIKA .....</b>	<b>40</b>
<b>IV. VÝSLEDKY .....</b>	<b>41</b>
<b>V. ZÁVĚR .....</b>	<b>45</b>
<b>VI. SOUHRN .....</b>	<b>47</b>
<b>VII. SUMMARY .....</b>	<b>48</b>
<b>VIII. POUŽITÁ LITERATURA .....</b>	<b>49</b>
<b>IX. PŘÍLOHY .....</b>	<b>51</b>

# I. ÚVOD

## 1. KREV

Krev je jednou z hlavních součástí vnitřního prostředí organismu. Svým složením a funkcemi představuje životně důležitou tekutinu, která jako pohyblivé médium spojuje všechny orgány a tkáně v těle a má rozhodující homeostatický význam.<sup>1</sup> Koluje v krevních cévách (tepších, kapilárách a žilách), skládá se z plazmy a krevních tělísek (buněk). Plasmu tvoří především voda, elektrolyty a krevní bílkoviny (albumin, globuliny, řada speciálních bílkovin). Ke krevním tělískům patří červené krvinky (erytrocyty), bílé krvinky (leukocyty) a krevní destičky (trombocyty).<sup>2</sup> Celkový objem cirkulující krve odpovídá přibližně 8 % tělesné hmotnosti. U dospělého člověka to je přibližně 4,5 – 6 litrů krve.

### 1.1 Složení a funkce krve<sup>1,2,3</sup>

Krevní plazma je tekutou složkou krve a tvoří asi 55% celkového objemu krve. Složení plazmy je za fyziologických podmínek relativně stálé a to i přesto, že stále probíhá výměna látek mezi krví a tkáněmi. Plazma je složená z velkého množství iontů, organických a anorganických molekul a vody. Do anorganické složky řadíme různé soli (chlorid draselný a uhličitan sodný) a ionty ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $(\text{PO}_4)^{3-}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ , atd.). Organickou složku krevní plazmy tvoří bílkoviny, které se dělí na frakci albuminovou, globulinovou a fibrinogenovou, z nichž nejvíce jsou zastoupeny albuminy (4,8 %).<sup>4</sup> Mezi globuliny, druhou významnou skupinou, patří především protilátky cirkulující v plazmě. K úkolům plazmatických bílkovin patří humorální imunita, zachování koloidně-osmotického tlaku, který zabezpečuje udržování konstantního objemu krve, transport ve vodě nerozpustných látek a ochrana některých substancí před odbouráním v krvi a vyloučením ledvinami.<sup>5</sup> Fibrinogen spolu s protrombinem má velký význam při hemokoagulaci. Dalšími organickými látkami, které se vyskytují v plazmě, jsou glukóza, tuky a tukům podobné látky, vitamíny, hormony, žlučová a jiná barviva a některé dusíkaté látky.

Erytrocyty jsou bezjaderné buňky, které při svém vyžívání pozbyly i ostatní cytoplazmatické orgány. Nejdůležitější složkou erytrocytů je



hemoglobin. Jde o červené krevní barvivo, které má schopnost přenášet kyslík z vnějšího prostředí do tkání, odstraňovat CO<sub>2</sub> z organismu a udržovat acidobazickou rovnováhu. Jejich jedinečný bikonkávní tvar zvětšuje povrch buňky a tím pomáhá co nejdokonaleji zajišťovat transport dýchacích plynů a je i důležitý pro tvarovou přizpůsobivost červených krvinek. Erytrocytární membrána je i přes svou značnou pružnost a deformovatelnost citlivá vůči nejrůznějším vlivům. Jev, kdy dojde k porušení membrány a obsah vyteče ven z buňky, je nazýván hemolýza. Podle způsobu porušení povrchové blány rozlišujeme hemolýzu na osmotickou, chemickou, toxickou, imunobiologickou, termickou a mechanickou. Počet erytrocytů v 1mm<sup>3</sup> krve je u muže asi 4,3 – 5,7 miliónů a u ženy asi 3,8 – 4,9 miliónů.

Leukocyty představují mobilní jednotky obranného systému. Rozeznáváme několik druhů leukocytů, které se liší jak funkcí, tak místem vzniku a délkou života. Základní dvě skupiny jsou granulocyty, které dále dělíme podle barvitelnosti jejich granul na neutrofilů, eozinofilů a bazofilů, a agranulocyty (lymfocyty, monocyty). Jejich funkce obecně souvisí s obranou organismu proti infekci a imunitou. Celkový počet leukocytů lze stanovit v rámci vyšetření krevního obrazu, zastoupení jednotlivých druhů pak z tzv. diferenciálního rozpočtu leukocytů. Průměrné množství leukocytů u dospělého člověka je 4 000-11 000 v 1 mm<sup>3</sup> krve, a to u obou pohlaví. Z toho 50 – 75% tvoří neutrofilů, 15 – 40% lymfocyty, 3 – 10% monocyty, 1 – 5% eozinofilů a 0 – 1% bazofilů. Množství bílých krvinek i zastoupení v jednotlivých složkách se během vývoje mění. Při jejich nedostatku dochází k poruchám imunity, při velkém nadbytku dojde k hyperviskóznímu syndromu (leukostáza).

Trombocyty jsou nejmenší formované elementy krve. Jsou to nepravidelné, bezjaderné útvary vznikající z megakaryocytu v kostní dřeni. Jejich počet kolísá mezi 150 000 - 400 000 v 1 mm<sup>3</sup> krve. Při nedostatku trombocytů dochází k poruchám srážení krve.

Funkce krve jsou dány jejím složením. Jde o funkci respirační, nutriční, exkretční, homeostatickou (udržení acidobazické rovnováhy, osmotického tlaku a vodního a minerálního hospodářství), regulační (regulace metabolismu a tělesné teploty) a obranou.

## 2. IMUNOCHEMIE

Imunochemie se zabývá chemickou podstatou imunity.

Imunita je odolnost organismu proti cizorodým látkám, především vysokomolekulárním. Mezi vysokomolekulární cizorodé látky patří např. bílkoviny, viry, tkáňové extrakty a bakterie. Dostanou-li se tyto látky do organismu parenterálně vyvolávají během několika dnů vznik bílkovin - protilátek. Cizorodé látky, které vyvolávají tvorbu protilátek, nazýváme antigeny. Organismus, který vytvořil protilátky proti antigenu, je aktivně imunizován. Jsou-li protilátky přeneseny do organismu přímo, jde o pasivní imunizaci. Transplantuje-li se tkáň vytvářející protilátky, vzniká u příjemce transplantátu adoptivní imunita. Imunita provázená tvorbou protilátek se nazývá specifická imunita. U všech živých organismů pozorujeme také nespecifickou odolnost vůči cizím škodlivinám, označovanou často jako nespecifická imunita. Imunochemie studuje především chemickou podstatu specifické imunity. Zabývá se chemickou povahou antigenů, chemickou povahou protilátek, fyzikálně-chemickou podstatou a kvantitativní stránkou reakcí antigenu s protilátkou, chemickými pochody v organismu spojenými se syntézou protilátek a chemickými pochody, které se uplatňují při imunitních tkáňových reakcích.

### 2.1 Antigen

Antigen je velká složitá cizorodá organická molekula, schopná vyvolat imunitní odpověď (tvorbu protilátky). Jsou to většinou vysokomolekulární látky (bílkoviny, polysacharidy i syntetické polymery). Antigen je dobře rozpustný v různých tělních tekutinách nebo se vyskytuje na povrchu buněk.

#### 2.1.1 Chemické složení

Pro schopnost vyvolávat tvorbu protilátek (imunogenicitu) je důležitá struktura antigenu (např. molekulová hmotnost částice, štěpitelnost antigenu v imunizovaném organismu apod.) a geneticky podmíněná schopnost tvořit určitý druh protilátek.

Na povrchu samotného antigenu je několik totožných nebo i odlišných chemických antigenních zakončení, tzv. antigenní determinanty (determinantní

skupiny). Determinantní skupinu tvoří nízkomolekulární látka navázaná na povrchu nosiče. Antigenní determinanty se ve většině případů skládají z aminokyselin spojených do polypeptidů. V imunohematologii známe v nejednom případě i příslušný jednoduchý sacharid bezprostředně zodpovědný např. za reakci s příslušnou specifickou protilátkou. Takto identifikovaný cukr označujeme jako cukr imunodominantní.

### 2.1.2 Specifita antigenů

Specifita umělých antigenů je určována obvykle více povahou navázané skupiny než nosiče. Proto mluvíme o determinantní, to jest určující skupině.

### 2.1.3 Přirozené antigeny

#### 1) B í l k o v i n y

Specifitu bílkovinných antigenů určuje jejich struktura, tedy sekvence aminokyselin a konformace peptidických řetězců. Uplatňují se zejména skupiny uložené na povrchu. Pomocí specifických protilátek se prokazuje identita nebo strukturní, a tedy i druhová příbuznost různých bílkovinných preparátů.

#### 2) S a c h a r i d y

Poly - a oligosacharidy tvoří determinantní skupiny mnohých přirozených antigenů. I polysacharidy obsahující jediný monosacharid jsou imunogenní. Např. dextran, jehož roztoky se používají jako náhražka krevní plazmy, může senzibilizovat pacienty, přestože obsahuje v molekule jen glykosilové zbytky.

Polysacharidy tvoří determinantní skupinu buněčných antigenů i pouzder mikrobů. Například specifita A a B antigenů krevních skupin je podmíněná oligosacharidy na povrchu erytrocytů.

#### 3) N u k l e o v é k y s e l i n y

Pokusy připravit specifické protilátky proti DNA byly neúspěšné.

#### 4) L i p i d y

Čisté neutrální tuky a mastné kyseliny nevyvolávají tvorbu protilátek, ale zvyšují imunogenicitu jiných antigenů.

## 2.2 Protilátky

Protilátka je jednou z mnoha bílkovin krevní plazmy nebo krevního séra. V krevním séru se vyskytuje nesčetné množství specifických protilátek namířených proti nesčetnému množství různých antigenů.

Soubor všech protilátek séra se svými biochemickými vlastnostmi se řadí mezi globuliny. Protože jejich úlohou je zajišťovat tzv. *humorální obranu*, tj. obranu pomocí rozpustných látek, nazýváme celou tuto skupinu globulinů zapojených do obrany organismu jako *imunoglobuliny*.

V séru jsou imunoglobuliny, které se v organismu tvoří přirozeným způsobem v průběhu života, např. přirozeným kontaktem s mikroorganismy nebo jinými živočišnými strukturami životního prostředí. Nazýváme je *přirozené imunoglobuliny*. Mohou také vznikat procesem imunizace.

Protilátky, které vytváří člověk při překonání nemocí nebo po umělém styku s antigenem a které by bez styku s antigenem nevytvářel, bývají nazývány *imunní protilátky*. Séra, která takové protilátky obsahují, bývají označovány *imunní séra*.

Je-li antigen rozpustný, může ho protilátka z roztoku vysrážet, vyvločkovat, někdy jen neutralizovat, vytvářením komplexů antigenu s protilátkou. Pokud jsou antigeny navázané na povrchu buňky, mohou způsobit shlukování těchto buněk nebo dokonce jejich smrt.

Vyvločkování antigenu z roztoku se nazývá *precipitace*. Protilátku způsobující precipitaci označujeme jako *precipitin* a antigen jako *precipitogen*.

Shlukování buněk zvláště však krvinek, nazýváme *aglutinace*. Protilátku, způsobující aglutinaci, označujeme jako *aglutinin*, případně aglutinující protilátku, a příslušný specifický antigen jako *aglutinogen*. Jde-li při aglutinaci o krvinky, hovoříme o hemaglutinaci, popř. o hemaglutinační reakci.

Jde-li o aglutinaci tělu vlastních krvinek, hovoříme o *autoaglutinaci* a příslušná protilátka se nazývá *autoprotlátka*. Tento jev se vyskytuje jen za chorobných stavů, např. AIHA (autoimunní hemolytická anémie). Jde-li o shlukování krvinek jiného člověka, hovoříme o *aloaglutinaci*. Příslušná protilátka se označuje jako *aloprotlátka*. Antigeny jiného živočišného druhu se nazývají *xenoantigeny* a jejich shlukování protilátkami jiného živočišného druhu *xenoaglutinace* (heteroaglutinace).

Termín *heterogenost* se používá k označení různorodosti, např. některého antigenu stejné specifčnosti, ale různé intenzity při jeho působení nebo různorodosti chemického složení. Antigeny úplně totožné se nazývají *syngenní*. Antigeny odlišné, ale patřící stejnému živočišnému druhu, se označují jako *aloantigeny*.

Reakce mezi protilátkou a antigenem (navázaným na povrchu buňky) způsobující poškození membrány a následný rozpad této buňky je označována jako *lýza*. Jestliže protilátky způsobují rozpad erytrocytů, hovoříme o *hemolýze*.

Protilátka schopná vyvolat lýzu buněk se nazývá *lyzin* a příslušný antigen *lyzinogen*. Jestliže protilátka rozrušuje erytrocyt, nazývá se *hemolysin*, v případě buněk vůbec *cytolysin*.

Některé protilátky vazbou na antigen povrchu buňky nezpůsobují její rozpad, ale poškozují ji natolik, že ta se dříve či později stává životaneschopnou, anebo ji během krátké doby usmrcují. Takové protilátky se nazývají *cytotoxické*.

Většina protilátek, poškozujících povrch buněk, např. krvinek, ať už jde o hemoliziny nebo cytotoxiny, potřebuje k dovršení svého účinku látku bílkovinné povahy, přirozeně přítomnou v každé zdravé krvi nebo v každém normálním čerstvém séru. Jde o komplement, který doplňuje a pomáhá dokončit reakci protilátky s antigenem, přičemž se složitým způsobem mění z neaktivního stavu na aktivní.

Ne každý antigen musí být současně imunogen. Nemusí jím být zvláště ta část velké molekuly antigenu, která je bezprostředně zodpovědná za vazbu se specifickou protilátkou. Antigeny nebo jejich části, které mají schopnost vázat příslušnou protilátku, ale nemají už imunizační schopnost, se označují jako *hapteny*.

### **2.2.1 Imunoglobuliny (Ig)**

Každý imunoglobulin se skládá ze 4 bílkovinných řetězců, z nichž jsou vždy 2 a 2 stejné. Dva jsou kratší a mají menší molekulovou hmotnost, proto se označují jako lehké (L). Druhé dva jsou delší a mají větší molekulovou hmotnost, proto se označují jako těžké (H). Základní složení molekuly Ig je tedy vždy stejné a dá se vyjádřit vzorcem  $L_2H_2$ . Vzájemnou soudržnost lehkých

a těžkých řetězců v jedné společné molekule Ig zajišťují disulfidové vazby (vazby mezi dvěma atomy síry) dvou protilehlých aminokyselin obsahujících síru.

Molekula Ig má dvě významná funkční zakončení a jedno místo zajišťující rozevření a nasměrování funkčních míst na příslušný cíl. Místo ohybu a rozevření protilátky se označuje jako pantová oblast. Díky ohebnosti protilátky v tomto místě se může jedna část protilátky rozevřít až o úhel  $90^\circ$ , celá molekula o  $180^\circ$ . Na tomto místě ohybu se může protilátka enzymově rozštěpit na částice, fragmenty, označující se písmenem F. Rozštěpení molekuly Ig na fragmenty umožnilo zjistit, která její část je zodpovědná za její příslušnou funkci. Ta část, ve které zůstanou spolu svázané lehké části a část těžkého řetězce, se označuje Fab. Tato část se váže s antigenem a každá molekula Ig má dvě takové části. Ta část, která přivede antigen na povrch buňky a aktivuje komplement, se označuje Fc. Fc se skládá ze dvou zbytků těžkých řetězců .

Lehké a těžké řetězce nejsou vždy stejné. Známe dva druhy lehkých řetězců. Označují se řeckými písmeny kappa ( $\kappa$ ) a lambda ( $\lambda$ ). Podstatou jejich rozdílnosti je jejich odlišné aminokyselinové složení. V molekule Ig se vyskytují vždy dva souhlasné řetězce, buď dva kappa nebo dva lambda, oba se najednou v jedné molekule nevyskytují. Větší pestrost je ve výskytu těžkých řetězců. Jsou větší a rozmanitější. Na základě odlišnosti aminokyselinového a cukerného složení známe pět druhů těžkých řetězců. Jednotlivé druhy těžkých řetězců Ig se označují řeckými písmeny: gama ( $\gamma$ ), mí ( $\mu$ ), alfa ( $\alpha$ ), delta ( $\sigma$ ) a epsilon ( $\epsilon$ ). V molekule Ig se opět mohou vyskytovat jen dva souhlasné těžké řetězce, které spolu se dvěma lehkými řetězci určují biologický, imunologický a fyzikálně-chemický charakter celé molekuly Ig. Přitom těžké řetězce mají určující úlohy. Jejich vlastnosti umožňují rozdělit protilátky do pěti základních tříd imunoglobulinů: IgM, IgG, IgA, IgD, IgE.

Rozdílnost složení molekul Ig přímo souvisí s rozdílností jejich vlastností.

### **1) IgM**

Jako první vznikají v těle velké molekuly IgM. Skládají se z pěti základních molekul navzájem propojených zvláštním spojovacím řetězcem označeným písmenem J. Řetězec J tak vytváří z pěti jednotlivých molekul jednu velkou pentamerní molekulu o poměrné molekulové hmotnosti 900000 až 1000000.

Každá z pěti molekul obsahuje dva těžké řetězce  $\mu$  a dva lehké řetězce  $\kappa$  nebo  $\lambda$ . Lehké řetězce jsou identické jako u IgG.

Takto sestavená velká molekula má velmi široký rozsah i dosah účinnosti i velkou pohotovost a kapacitu reagovat s antigenem, protože má až 10 zakončení Fab. Místem jejího účinku je hlavně krevní oběh, kde je její funkce nejpotřebnější. Velikost této molekuly nedovoluje pronikat do tkání. Proto, kromě jiných příčin, bývá i tvorba protilátek IgM omezena na určité množství. Během imunizace přechází tvorba protilátek IgM k tvorbě protilátek IgG. Podíl protilátek IgM na celkovém množství protilátek je 10-15%.

**2)** Molekula **IgG** se skládá ze dvou identických těžkých gama-řetězců a dvou identických lehkých řetězců kappa nebo lambda. Vzorec IgG je tedy buď  $\gamma_2\kappa_2$  nebo  $\gamma_2\lambda_2$ . U nejčastějšího typu IgG jsou L- a H-řetězce spojeny disulfidickou vazbou a dále nekovalentními slabšími vazbami. Oba H-řetězce jsou spojeny mezi sebou nekovalentními vazbami a dvěma disulfidickými vazbami ležícími přibližně uprostřed řetězců. V sousedství těchto disulfidických vazeb je molekula štěpitelná proteasami. Podle elektronové mikroskopie má molekula IgG tvar Y s proměnlivým úhlem mezi rameny. Zdá se, jakoby tři kompaktní globulární části molekuly, to jest dva Fab a jeden Fc fragment, byly pružně spojeny peptidickým řetězcem. Místo pro vazbu antigenu leží u bivalentní protilátky na konci ramen. Vazby s antigenem se účastní oba řetězce H i L.

Na rozdíl od protilátek IgM molekuly IgG vytváří polymery, ale zůstávají monomerní. Proto jsou nejmenší, mají poměrnou molekulovou hmotnost 150000-160000 a lehkou se dostanou z krevního oběhu do tkání. Jejich až desateronásobně více než protilátek třídy IgM. V krvi mají 70-80% podíl na všech protilátkách.

**3)** Dalším druhem protilátek, které vznikají v průběhu imunizace, jsou protilátky třídy **IgA**. V krvi je jich dvakrát tolik než protilátek IgM, protože většinou rychle opouštějí místo své tvorby (plazmocyty) a organismus je vylučuje na svůj povrch, zvláště na povrch svých sliznic. Pro tuto funkci jsou zvláště uzpůsobené. I když jsou také pospojované řetězci F do dimerů a trimerů, čímž dosahují poměrné molekulové hmotnosti 360000-600000, jsou prostorově uspořádané tak, že lehkou pronikají membránami těla. Přispívá k tomu i zvláštní, tzv. sekreční částice, připojená k molekule IgA.

Protilátky IgM, IgG a částečně IgA mají význam pro určování krevních skupin.

- 4) Protilátky třídy **IgE** mají význam při přecitlivělosti.
- 5) Funkce protilátek třídy **IgD** zatím není objasněna.

### 2.2.2 Reakce antigenů s protilátkou

Podstatou všech imunologických reakcí je vazba antigenu s protilátkami. Reakce se účastní jen poměrně malé části molekul protilátek, tzv. vazebná místa. Také determinantní skupiny tvoří jen malou část celé molekuly nebo částice antigenu. Zda při reakci antigenů a protilátek dojde k precipitaci, závisí na počtu valencí antigenu a protilátky. Aby došlo k precipitaci, musí být možnost tvorby vícenásobných vazeb mezi částicemi antigenů a protilátek. To znamená, že protilátka i antigen musí být nejméně bivalentní. Reagují-li polyvalentní antigeny s bivalentními protilátkami, vytvářejí prostorovou síť. Vznikají tak částice dostatečně těžké, které „vypadávají“ z roztoku. To se jeví jako precipitace. Monovalentní protilátky blokují determinantní skupiny antigenů a brání tak bivalentním protilátkám vytvářet s polyvalentními antigeny prostorovou mřížku a precipitovat nebo aglutinovat je. Monovalentní protilátky tedy vytvářejí s antigeny menší rozpustné antigeny nebo hapteny bivalentní protilátky.

Antigen nereaguje s protilátkou ve stechiometrickém poměru. Jestliže srážíme protilátku, pak se stoupajícím množstvím antigenu stoupá zpočátku množství precipitátu, později klesá. Při tom se poměr antigenu a protilátek v precipitátu posunuje ve prospěch antigenu. Nejúspěšnější je vysrážení antigenů i protilátek v *zóně ekvivalence*, která je u různých systémů antigenů a protilátek různě široká.

### 2.2.3 Tvorba protilátek

Tvorba protilátek je kooperativní pochod, kterého se účastní několik typů buněk. Jsou to zejména makrofágy, lymfocyty a plasmatické buňky. Buňky, které se účastní tvorby protilátek, se nazývají *imunokompletní buňky*.



## 2.2.4 Zneškodnění antigenu

Protilátky, včetně krevních skupinových protilátek, vazbou na antigen tento antigen neutralizují, vytváří s ním komplex antigen-protilátka, který potom organismus odstraňuje fagocytózou. Když je antigen součástí buněčné membrány, protilátka vazbou na antigen membránu poškozuje, čímž poškozuje i buňku samu. Tu může zahubit přímo, způsobit její rozpad nebo zánik. K této reakci protilátka potřebuje pomocnou bílkovinu, komplement. Protilátky, které se při poškození buňky s komplementem nespojí, přivádějí buňky k fagocytům a fagocyty je pak zneškodňují.

## 2.3 Imunizace

Při obranné reakci proti antigenu reaguje organismus jednak buněčnou, jednak protilátkovou obrannou odpovědí. Jako první se dostává do styku s antigenem buňka. Až po tomto střetnutí a rozpoznání cizosti antigenu, proběhne složitý proces tvorby a odevzdání specifické protilátky do krevního oběhu, do tkání a na povrch sliznic. Když jsou již protilátky vytvořeny, jsou to ony, které jako první reagují s cizím antigenem, když se s ním znovu dostanou do styku. Celý složitý proces od prvního kontaktu s antigenem až po vytvoření aktivní buněčné nebo protilátkové obrany nazýváme imunizace.

## 3. SKUPINOVÉ SYSTÉMY

### 3.1 Skupinový systém AB0(H)<sup>4,6,7,8</sup>

Skupinový systém AB0 a k němu patřící krevní skupiny jsou ze všech systémů nejstarší. Proto jsou také označovány jako základní. Rozlišujeme čtyři základní skupiny: A, B, 0, AB.

Systém krevních skupin AB0 je jediným erytrocytárním systémem, v němž protilátky anti-A, anti-B popř. anti-A i anti-B jsou trvale přítomny v séru zdravých osob, jimž chybí odpovídající aglutinogen.

#### 3.1.1 Krevní skupiny A, B, AB, 0

Skupinový systém AB0(H) je zajišťován třemi genovými systémy a to AB0, Hh a Sese pro sekretorství.

Tři alely A, B a 0 se nacházejí na 9. chromosomu a odpovídají za čtyři hlavní krevní skupiny A, B, AB a 0. Geny pro A a B patří mezi tzv. dominantní geny, proto genotyp AA a A0 se projevuje jako fenotyp A, genotyp BB a B0 dává vznik fenotypu B a kombinace alel AB odpovídá fenotypu AB. Gen 0 je němý gen, jde o recesivní typ dědičnosti a proto se může prosadit pouze v homozygotní formě 00.

H gen je lokalizován na 19. chromosomu. Pro vývoj krevních skupin je antigen H nebo-li prekurzor nezbytný. Teprve pod vlivem genů A a B je konvertován. Konverze probíhá navázáním jednoduchých cukrů na prekurzor. Ve skupině A jde o N-acetylgalaktosim a u skupiny B jde o cukr D-galaktóza. Pakliže ke konverzi nedojde, zůstává pouze antigen H a vzniká tak skupina 0. Existuje také inaktivní alela H genu, tzv. amorfa nebo h gen. Zcela vzácně se mohou sejít u jednoho jedince dva amorfní geny hh. V takovém případě na erytrocytu nemůže vzniknout ani H antigen a sérum proto může obsahovat protilátky anti-A, anti-B i anti-H. Takový vzácný fenotyp je označován jako *Bombayský*. Tito jedinci nesmí při transfúzi dostat ani krev skupiny 0, nýbrž opět jen krev bombayského fenotypu.

Skupinové vlastnosti A, B a H jsou v krvi přítomny nejen na erytrocytech, ale v menším množství na leukocytech a trombocytech, podle příslušné krevní skupiny i v krevní plazmě a mohou se vyskytovat i v tělních tekutinách.

### 3.1.2 Podskupiny a varianty ABH

Krevní skupiny A, B i AB mají více podskupin a variant. Ve skupině A rozeznáváme, dle kvantitativních a kvalitativních rozdílů mezi antigeny A a dle jejich kvalitativních poměrů k antigenu H, podskupiny A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub> a jiné slabé skupiny. Nejdůležitější jsou podskupiny A<sub>1</sub> a A<sub>2</sub>. Odlišnost podskupin dokazuje jejich rozdílná reakce s aglutininem anti-A, anti-A<sub>1</sub> a anti-H. Podskupiny A se pochopitelně vyskytují i ve skupině AB, kde také rozeznáváme podskupiny A<sub>1</sub>B, A<sub>2</sub>B, A<sub>3</sub>B a A<sub>x</sub>B. U skupiny B se varianty a podskupiny vyskytují ojediněle.

## 3.2 Skupinový systém Rh

Další systém, který hraje v lidské imunohematologii závažnou úlohu, je systém Rh. Ještě v nepříliš dávné minulosti byla většina případů hemolytického

onemocnění novorozenců i většina potransfúzních reakcí důsledkem reakce antigen-protilátka právě tohoto systému.

Prvně byly protilátky tohoto systému objeveny v roce 1940 Landsteinerem a Wienerem. Povedlo se jim to, když imunizovali králíky krvinkami opice Macaca Rhesus, od toho pojmenování Rh systém.

Rh faktor je komplikovaný antigenní systém tvořící tzv. Rh komplex, řízený větším počtem alelických genů, které jsou umístěny na třech těsně spojených lokusech.

U bílé populace se vyskytují na zmíněných třech lokusech alternující dvojice alel, označené stejně jako odpovídající receptory červených krvinek písmeny Dd, Cc, Ee. Vzhledem k tomu, že alela D je nejrozšířenější a že aglutinogen D je z Rh antigenů nejimunogennější, musí se na něj při vyšetřování dbát stejně, jako na určování krevní skupiny. Protilátky proti D antigenu jsou nejčastější příčinou sérologických konfliktů. Označení krve jako Rh<sup>+</sup> (pozitivní) nebo Rh<sup>-</sup> (negativní) tedy znamená, že na erythrocytech je nebo není Rh<sub>0</sub> (D) aglutinogen.

Proti antigenům C,c,E,e,D existuje specifická protilátka, pouze proti antigenu d nebyla dosud nalezena, protože tento antigen neexistuje. D<sup>+</sup> jedinci mají D gen a D protein, u D<sup>neg</sup> chybí celý gen a tudíž není tvořen žádný produkt.

Antigeny Rh se obvykle projevují jednotlivě, ale také jako antigenní komplex, hlavně při určitých kombinacích v cis poloze, tj. v sousedství na jednom autozomu. Tak např. komplex antigenů ce v cis poloze může být antigenní u osob, u kterých jsou c a e v trans poloze, tj. na protilehlém autozomu (CDe/cDE). Původně se myslelo, že protilátka, která při tom vzniká, je namířena proti novému Rh antigenu f, ve skutečnosti však anti-f je anti-cis-ce (v genotypech Dce, D<sup>u</sup>ce a dce). Podobně se mohou antigenně uplatnit komplexy cis-Ce a cis-CE. Také antigen označovaný jako G je pravděpodobně zvláštní komplex cis-DC. Jde o případy, které dávají negativní reakci se séry anti-D a anti-C, ale pozitivní reakci se séry anti-DC.

Důležitým druhem jsou tzv. *vymazané druhy Rh*. Jde o chromozomy, ve kterých jsou jedno, dvě nebo všechna tři genová místa afunkční. Známé jsou genotypy Dc<sup>-</sup>, DC<sup>W-</sup>, D<sup>-</sup>, d<sup>-</sup>. Laboratorně se odhalují velmi těžce, neboť jsou

obyčejně maskované protilehlými normálními alelami (např. Dce/--- se jeví jako homozygot D<sub>Ce</sub>/D<sub>Ce</sub>). Bezpečně můžeme dokázat jen ve vzácných homozygotních kombinacích. Vyskytují se nejčastěji v potomstvu příbuzenských sňatků. Mají význam pro zvýšenou možnost tvořit imunní protilátky.

### 3.2.1 Slabé D antigeny

Erytrocyty, které nejsou shlukovány anti-D sérem, nemohou být ještě označeny jako Rh<sub>0</sub> (D) negativní. Některé Rh pozitivní erytrocyty nereagují totiž přímou aglutinací. Tyto slabé D varianty jsou označovány termínem D<sup>U</sup>. Reagují dobře s běžnými inkompletními anti-Rh<sub>0</sub> (D) séry v NAT, ale reakce je slabá, velmi slabá až zcela negativní. Při použití moderních monoklonálních sér je reakce prokazatelná.

Původ D<sup>U</sup> antigenu je dvojitý: 1) dědičně

2) tzv. efekt polohy.

1) Geneticky determinované slabé D antigeny se označují jako *low-grade D<sup>U</sup>*.

2) D antigeny, určené efektem pozic se označují jako *high-grade D<sup>U</sup>*. U těchto antigenů hraje roli poloha C alely. Je-li v trans poloze, tj. např. Cde/cDe typ, je D oslabeno. Důležité je, že dárce, jehož erytrocyty nesou D<sup>U</sup> antigen, může být chybně označen jako Rh<sub>0</sub> (D) negativní. Je-li pak krev podána Rh negativnímu jedinci, může dojít k senzibilizaci. Proto je nutné přešetřit všechny Rh<sub>0</sub> (D) negativní osoby sérem anti-D+D<sup>U</sup>, a to v NAT.

### 3.2.2 Rh<sub>null</sub>

Erytrocyty značené Rh<sub>null</sub> jsou charakterizovány chyběním všech Rh antigenů, včetně C<sup>W</sup>,D<sup>U</sup> a faktoru LW. Nositelé vlastností Rh<sub>null</sub> jeví slabou hemolytickou anémii provázenou sférocytózou. Proto se hovoří o Rh<sub>null</sub> chorobě.

### 3.2.3 LW antigen

LW antigen může u člověka vyvolat tvorbu anti-LW protilátek, jestliže na jeho erythrocytech chybí. To je však velmi vzácné. Alely LW<sup>a</sup> a LW<sup>b</sup> jsou nezávislé na Rh komplexu.

### 3.2.4 Rh<sub>mod</sub>

Antigen Rh<sub>mod</sub> fenotypu mají silně sníženou a u různých jedinců značně proměnlivou aglutinabilitu anti-Rh<sub>0</sub> (D) sérem. Je dosti pravděpodobné, že Rh<sub>null</sub> a Rh<sub>mod</sub> je tatáž vlastnost, lišící se jen ve stupni exprese.

### 3.2.5 C<sup>W</sup> alela

Je přítomen přibližně u 20% příslušníků bílé rasy, bývá většinou rutině určován. Protilátka může způsobit potransfúzní reakci.

### 3.2.6 Variantní Rh antigeny

Ve výjimečných případech může osoba Rh<sub>0</sub> (D) vytvořit protilátku, reagující s Rh<sub>0</sub> (D) pozitivní erythrocyty. Je to způsobeno tím, že Rh<sub>0</sub> (D) antigen je mozaikou, tvořenou více než 30 epitopy. U většiny D pozitivních osob jsou v mozaice přítomny všechny determinanty. Vzácně některá z nich může chybět. Taková osoba pak může při chybění např. epitopu 1 determinanty vytvořit protilátku anti-ep1, ač je sama Rh<sub>0</sub> (D) pozitivní. Na rozdíl od D<sup>u</sup> jevu jsou tyto defekty D antigenu kvalitativní a bývají značeny jako RhDvarianty. Zajímavé je, že asi 50% D<sup>u</sup> pozitivních vzorků krve postrádá jednu nebo více z těchto determinantů.

### 3.2.7 Rh protilátky

Jsou to protilátky imunní, náleží do třídy IgG imunoglobulinů. Sérologicky se nejčastěji projevují jako tzv. *imunokompletní protilátky*, neschopné aglutinovat erythrocyty suspendované v solném prostředí, méně často jako aglutininy. Pronikají placentou a jsou nejčastější příčinou hemolytické choroby plodu a novorozence (HON).

Z hlediska genové frekvence, ale i antigenní síly se nejčastěji vyskytují protilátky anti-D, méně často anti-C, anti-CD, anti-DE, anti-E, zřídka samostatné anti-C<sup>W</sup>, nejvzácněji anti-e.

### 3.3 Skupinový systém MNSs

Skupiny M a N byly objeveny pomocí králíčích sér, která byla získána imunizací králíků lidskými erytrocyty.

Anti-M či anti-N protilátky byly zachyceny u člověka: 1) přirozeně s optimem reakce mezi +4 a +18 °C a charakteru IgM, 2) imunně po imunokompatibilních transfúzí nebo heterospecifických těhotenstvích charakteru IgG. Reagují dobře při +37°C i v nepřímém antiglobulinovém testu. Často jde o směs protilátek IgM a IgG.

Na krvinkách se může vyskytovat buď jeden nebo druhý aglutinogen, popř. oba najednou.

Antigeny M a N nejsou jednoduché, jako např. A a B, ale jsou sdružené ještě s jedním párem antigenů, označených S a s. Antigeny S a s souvisejí se znaky MN pravděpodobně stejně jako znaky Cc a Ee s antigenem D. Antigen S se vyskytuje častěji s antigenem M (S/M) a antigen s s antigenem N (s/N). Protilátky anti-S a anti-s jsou nalézány po opakovaných transfuzích a při těhotenských imunizacích.

Skupinový systém MNSs a jeho antigeny se v mnohém liší od skupinového systému AB0. Jeho antigeny jsou v malém množství přítomny také v jiných tělových buňkách, ale nevylučují se do slin ani jiných tělesných tekutin, a to přesto, že mají povahu glykoproteinů. V krevní plazmě, popř. séru, se zpravidla proti nim nevyskytují pravidelné protilátky. Úplně výjimečně se v séru vyskytuje nepravidelná, přirozená protilátka anti-M nebo anti-N, většinou velmi slabé a chladové povahy, jako imunní se nevyskytují. Antigeny MNSs jsou velmi slabé. Za normálních okolností skupiny MN překrývá antigen T, pouze při některých nádorových nemocech nejsou překryty úplně. V systému MNSs se vyskytují čtyři antigeny v 10 alelických párech, ale bez výskytu obdoby skupiny 0.

Na místech genů MNSs se mohou vyskytovat ještě další vzácné alely, jako M<sub>1</sub>, N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub>, dále velmi vzácná vlastnost M<sub>G</sub> a méně objasněné vlastnosti

$M^e$ ,  $M^k$  a  $M^v$ . Ve spojitosti s antigeny Ss se vyskytuje vlastnost U a  $S^u$  (chybění antigenu S nebo s).

### 3.4 Skupinový systém P

Dlouho byla známá pouze alela, určující P faktor a k ní přidaná hypotetická recesivní alela p. P antigen se vyskytuje na erythrocytech různých lidí v různé síle. Tento systém je též složitý, je v něm třeba rozeznávat antigeny  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $p^k$ . Větší část bílé rasy je  $P_1$  pozitivní, naše obyvatelstvo asi v 75%, zbylých 25% je  $P_2$  pozitivní. Fenotypy  $p^k$  jsou asociovány k P systému, rodinné studie naznačují, že jde o recesivní vlastnost. Vyskytuje se nepravidelně jako přirozená protilátka typu IgM.

$P_1$  substance se nachází nejen u člověka, byla nalezena v echinokokových cystách, u červů *Lambricus terrestris* a *Ascaris suum*. Osoby infikované těmito červy mohou vyvinout anti- $P_1$  protilátky.

$P_2$  jedinci mívají někdy v séru anti- $P_1$ , tj. chladový aglutinin. Osoby s fenotypem p mívají v séru protilátku anti- $PP_1p^k$ , která byla původně označována anti-Tj<sup>a</sup>. Jen málokterá anti-P protilátka reaguje s ery aglutinací při +25°C a jen velmi vzácné případy reagují při +37°C. Ty pak mohou fixovat komplement.

### 3.5 Další skupinové systémy erythrocytů

#### 3.5.1 Kell-Cellano systém

Základem jsou dvě alely, jejichž působením se vytváří antigen K (Kell) a k (Cellano). Spolu s alelami K a k jsou děděny další dvojice antitetických alel,  $Kp^a$  a  $Kp^b$  a  $Js^a$  a  $Js^b$ , které jsou se znaky Kk vázány. Lokusy, na nichž se nachází jsou lokalizovány na tomtéž chromozomu těsně vedle sebe. Na lokusu Kk alternuje ještě další alela  $K_0$ , jejíž funkce se vyznačuje chyběním antigenů Kell na erythrocytech. Místo nich je na krvince prokazatelná prekursorová substance, řízená alelou  $K_x$ .

Erythrocyty, kterým  $K_x$  chybí, mají zkrácenou dobu přežívání, výrazně sníženou expresi antigenů Kell systému a jeví akantocytózu. Tyto abnormality

jsou souhrnně označovány jako McLeod fenotyp. Na lokusu Kp se nachází ještě třetí alelický gen,  $Kp^C$ , který byl původně označován jako Levey. V naší populaci se Kell pozitivní homozygoti vyskytují přibližně s četností 0,2%. Možnost K-senzibilizace je tedy značná, po Rh senzibilizacích skoro nejčastější. Přírozená anti-K protilátka je vzácná, byla však již několikrát odhalena, reaguje ve fyziologickém roztoku a to nejsilněji při  $+4^{\circ}\text{C}$ . Zpravidla patří do skupiny IgM. Mnohem častější je výskyt imunních protilátek anti-K. U několika nemocných s těžkými sepsemi byly popsány též autoprottilátky anti-K.

Druhým znakem tohoto systému je znak Cellano-k. Prottilátky anti-k jsou nalézány jen zřídka, protože k antigen je jen slabě imunní. Pouze 0,2% jedinců kavkazského plemene jsou KK, tj. k negativní. Při k-imunokompatibilní transfúzi jsou následky mírné.

### 3.5.2 Duffy systém

Alelické geny se nalézají na prvním chromozomu. Základ systému tvoří alely  $Fy^a$  a  $Fy^b$ , které mají kodominantní charakter. Nejčastěji se tvoří genotypy  $Fy^a Fy^a$ ,  $Fy^a Fy^b$ ,  $Fy^b Fy^b$ . U černé populace je relativně častý fenotyp  $Fy(a-b-)$ , jde o homozygotní kombinaci  $Fy Fy$ . Existuje i alela  $Fy^c$  neboli F3. Dále byly odkryty antigeny F4 a F5. Poslední ze známých alel tohoto systému, označená  $F^X$ , dává vznik slabě vyvinutému  $Fy^b$  antigenu.

Antigeny Duffy se nevylučují do tělesných tekutin.

Přírozené prottilátky proti antigenům Duffy se nevyskytují. Známé jsou jen imunní prottilátky. Z nich jsou prottilátky anti- $Fy^a$  častější než anti- $Fy^b$ . I když se Duffyho prottilátky vyskytují někdy jako aglutininy, většinou mají charakter IgG a reagují jako prottilátky inkompletní.

### 3.5.3 Kidd systém

Základ tvoří dvě kodominantní alely  $Jk^a$  a  $Jk^b$  dávající vznik třem běžným genotypům  $Jk^a Jk^a$ ,  $Jk^a Jk^b$ ,  $Jk^b Jk^b$ . Ojediněle se vyskytuje genotyp  $Jk(a-b-)$ , což dokazuje, že v některých populacích se vyskytuje také alela  $Jk$  bez antigenního produktu. Antigeny Kidd se vyskytují jen v erech, nevylučují se slinami ani do krevní plazmy. Prottilátky jsou jen málokdy globulinové třídy IgM, nejčastěji náleží k třídě IgG. Mají většinou nízký titr. Zřetelně reagují především



s erytrocyty Jk homozygotů. Anti-Kidd protilátky jsou komplementdependentní. K jejich průkazu je vhodnější komplexní antiglobulinové sérum.

### 3.5.4 Lutheran systém

Skládá se nejméně ze tří antigenů:  $Lu^a$ ,  $Lu^b$  a  $Lu$ . Tvoří genotypy  $Lu^aLu^a$ ,  $Lu^bLu^b$ , zřídka  $LuLu$ . Antigen  $Lu^a$  je nepoměrně méně častý než  $Lu^b$ . Alelické geny  $Lu^a$  a  $Lu^b$  se dědí kodominantně, ale existuje několik modifikujících genů, které ovlivňují jejich expresi. V řadě dalších antigenů, označených  $Lu$  4,5,6,7,8,9,11,12,13 a 14 není dosud bezpečně jasné, zda všechny skutečně k  $Lu$  systému náležejí.

Lutheran protilátky jsou třídy IgM, reagují většinou ve fyziologickém roztoku při nižší teplotě. Jde hlavně o imunní protilátky, ale velmi zřídka se vyskytují i přirozeně. Tvoří je hlavně lidé se skupinou  $Lu$  (a-b-). Lutheran protilátky bývají kompletní povahy. Anti-  $Lu^a$  většinou nezpůsobí HON. U anti-  $Lu^b$  je známo, že může způsobit zkrácení přežívání erytrocytů. Pro anti- $Lu$  reakce je typická smíšená aglutinace (malý počet drobných shluků na pozadí mnoha volných krvinek).

### 3.5.5 Lewis systém

Skupinový systém Lewis se liší od jiných krvinkových systémů tím, že antigeny nejsou přirozenou součástí membrány červených krvinek, ale které získávají svůj  $Le$  fenotyp naabsorbováním  $Le$  substancí z plazmy. Asi 30%  $Le$  substance se naabsorbuje, zbytek zůstává v plazmě.

Tento systém není pravým krevním skupinovým systémem, přestože má glykoproteinovou a glykolipidní povahu. Dále je tento systém výjimečný tím, že geny  $Le$  se sice dědí nezávisle na genech pro sekretorství ABH a  $Le$  substancí (alely  $S$  a  $s$ ), avšak že s nimi při sekretorství spolupracují. Jedinci  $Le$  (a-b+) se vyznačují spoluprací genu  $Le^b$  s geny  $SeSe$  a  $Sese$ , podmiňující sekretorství. Osoby  $Le$  (a+b-) jsou nonsekretoři s geny  $sese$ .  $Le$  protilátky jsou vzácné, naleznou se prakticky jen u osob s fenotypem  $Le$  (a-b-). Protilátky anti-  $Le^b$  je možné rozdělit do dvou kategorií. Častěji se vyskytující protilátka reagující dobře s  $Le^b$  antigenem krvinek skupiny 0 a  $A_2$  byla označena jako anti- $Le^{bH}$ .

Méně častá protilátka, reagující stejně dobře s antigeny Le<sup>b</sup> bez ohledu na příslušnost krvinek ke skupině AB0, byla označena jako anti-Le<sup>bL</sup>. Anti- Le<sup>bH</sup> protilátka je neutralizována slinami osob skupinami 0 Le (a-b-) sekretující H substanci, anti- Le<sup>bL</sup> nikoli. K protilátkám tohoto systému byly nomenklaturně přidány protilátky anti-Le<sup>c</sup> a anti-Le<sup>d</sup>, ačkoli odpovídající antigeny nejsou určovány Le geny. Anti- Le<sup>c</sup> séra reagují pozitivně s erytrocyty osob Le (a-b-) sese, tedy nonsekretorů H substance. Anti- Le<sup>d</sup> reaguje s erytrocyty osob Le (a-b-) sekretorů.

Protilátky anti-Le<sup>a</sup> i anti- Le<sup>b</sup> jsou IgM globuliny, jen zcela výjimečně IgG. Antigeny Le jsou u novorozenců jen slabě vyvinuty, proto nedochází k hemolytickému onemocnění novorozenců. Mohou však vázat komplement a způsobit hemolýzu inkompatibilních červených krvinek in vitro. Aglutinace u tohoto systému jsou velice labilní. Transfundované erytrocyty přijmou příjemcův Le fenotyp během několika dní.

### 3.5.6 Ii antigeny

Ii antigeny reagují s mimořádně se vyskytujícími protilátkami při nižších teplotách. Antigen i se nachází u novorozenců, během prvních dvou let života se mění v důsledku větvení původně lineárního oligosacharidového řetězce na antigen I.

Někteří dospělí výjimečně nemají I vyvinuto, jejich antigen zůstává v neonatální formě, a pak se označuje jako i<sub>adult</sub>. Tito dospělí mají v séru aloanti-I protilátku, většinou slabou. Autoanti-i je příčinou chladové hemolytické anémie častěji, než autoanti-I. Existují také komplexní protilátky anti-IH nebo anti-IP<sub>1</sub>.

Protilátky anti-I a anti-i jsou chladové aglutininy třídy IgM a jsou tedy schopné vázat komplement. Častěji se setkáváme s chladovým aglutininem anti-I. Přechodně prokazatelné anti-i mohou mít v séru pacienti s infekční mononukleózou. Důležitou úlohu při chladové autoimunní hemolytické anémii hraje anti-I.

### 3.5.7 Xg antigeny

Xg lokus byl prvním lokusem, jehož poloha byla zcela bezpečně určena a to na X chromozomu. Xg<sup>a</sup> antigen je prokazatelný asi u 98% žen a 67% mužů. Všechny ženy mohou být homo- nebo heterozygoti, nebo negativní. Muži mohou být jen pozitivní hemizygoti nebo negativní. Všechny dcery Xg (a+) mužů musí být rovněž Xg (a+).

### 3.5.8 Diego systém

Znak Diego<sup>a</sup> (Di<sup>a</sup>) je považován za rasový znak. Především se vyskytuje u populace mongolského původu.

Di<sup>b</sup> antigen je přítomen u všech osob bílé rasy, u ostatních ras není jeho frekvence známá. Antigeny Di<sup>a</sup> a Di<sup>b</sup> většinou nejlépe reagují v NAT prostředí nebo v solném prostředí enzymem zpracovanými erytrocyty. Di antigeny mají význam pro genetické populační studie, ale i pro kliniku, neboť v souvislosti s nimi byly už popsány několikrát hemolytické potransfúzní reakce. Diego systém, lokalizovaný na bílkovině pásu 3, nese kromě Di<sup>a</sup> a Di<sup>b</sup> několik dalších vzácných antigenů.

### 3.5.9 Cartwright systém

Yt<sup>a</sup> je obecný antigen nacházející se u více než 99% kavkazské rasy. Yt<sup>b</sup> má u bělochů frekvenci pouze okolo 8%. Obě protilátky se mohou podílet jak na potransfúzních reakcích, tak mohou být příčinnou hemolytického onemocnění novorozenců (HON).

### 3.5.10 Colton systém

Znaky tohoto systému jsou ovládány dvěma alelickými geny, Co<sup>a</sup> a Co<sup>b</sup>. Přes 99% osob bílého plemene nese antigen Co<sup>a</sup> a pouze asi 10% znak Co<sup>b</sup>.

Protilátky obou znaků mají charakter IgG. Byly prokázány v průběhu několika Co inkompatibilních těhotenství, způsobily již také potransfúzní reakce.

### 3.5.11 Dombrock systém

Znaky Do<sup>a</sup> a Do<sup>b</sup> jsou ovládány kodominantními alelickými geny. Výskyt Do<sup>a</sup> a Do<sup>b</sup> u kavkazského plemene je přibližně 67%-83%. Protilátky se mohou podílet na potransfúzních reakcích.

### 3.5.12 Sciana systém

Sc lokus se nachází na chromozomu 1. Nejčastějším fenotypem je Sc1,-2. Protilátky obou antigenů jsou vzácné. V posledních letech byl objeven čtvrtý fenotyp. Předpokládá se proto, že existuje alela Sc<sub>Null</sub> (podobně jako v Rh systému).

### 3.5.13 Antigeny s vysokou frekvencí

Nejznámější jsou Aglutinine (At<sup>a</sup>), Milton (JHM), En<sup>a</sup>, Cromer (Cr<sup>a</sup>), Gerbich (Ge), Gregory (Gy<sup>a</sup>), Holey (Hy), Junior (Jr<sup>a</sup>), Joseph (Jo<sup>a</sup>), Sid (Sd<sup>a</sup>), a další.

U většiny z nich je četnost výskytu vyšší než 99%, proto jsou protilátky příslušných specifit vzácné. Jestliže se však vyskytnou, je neobyčejně obtížné najít kompatibilní krev.

Protilátky jsou většinou charakteru IgM. Nepodílí se na HON, ale způsobí potransfúzní reakce.

### 3.5.14 Antigeny s nízkou frekvencí

Nejznámější jsou antigeny Swann (Sw<sup>a</sup>) a Wright (Wr<sup>a</sup>), ale existuje jich ještě nejméně 30. Výskyt antigenů s nízkou frekvencí je natolik vzácný, že nejsou klinicky významné.

### 3.5.15 Chido a Rodgers antigeny

Antigeny Chi<sup>a</sup> a Ro<sup>a</sup> jsou prokazovány na erytrocytech, nejsou však erytrocytárními antigeny, neboť jsou integrální součástí jejich membrány. Ve skutečnosti se nachází na molekulách komplementové složky C4, resp. na jejím degeneračním produktu C4d. Ten vzniká při inaktivaci C4b štěpu sérovým inaktivátorem I, a je schopen vázat se na membránu erytrocytu.

Protilátky obou antigenů jsou neutralizovány plazmou.

## **4. VÝZNAM KREVNÍCH SKUPINOVÝCH VLASTNOSTÍ**

### **4.1 Význam pro erythrocytární aloimunizaci**

Pokud povrchové erythrocytární antigeny nejsou shodné s některými znaky tělu nevlastních erythrocytů, může antigen nestejné skupiny vyvolat aloimunizaci s tvorbou protilátek proti takovému skupinovému antigenu.

Mezi příčiny aloimunizace patří podání nekompatibilní krevní transfuze a komplikace v těhotenství, kdy se do oběhu matky dostávají erythrocyty plodu. V případě, že se během aloimunizace vytvořily protilátky proti fetálním erythrocytům typu IgG, může dojít k prostupu těchto protilátek přes placentu a rozvoji hemolitického onemocnění plodu a novorozence. Více viz Kapitola 5. erythrocytární aloimunizace a těhotenství.

### **4.2 Význam pro transfuze krve**

V první řadě se musí dbát na systém AB0 a Rh faktor, to jsou nejsilnější antigeny. Ostatní antigeny hlavně K, Fy<sup>a</sup>, S/s, Lu<sup>a</sup> a Jk<sup>a</sup>, jsou již o něco slabší, ale ještě dost účinné. Protilátky proti zbývajícím antigenům se tvoří vzácněji, protože tyto samotné antigeny se vyskytují vzácně.

Tvorba protilátek závisí i na četosti kontaktu s antigenem. Každý člověk nemá stejnou pohotovost k aloimunizaci a k tvorbě protilátek. Tuto pohotovost mohou ovlivnit některé choroby. Některá onemocnění jsou doprovázena až chorobně zvýšenou pohotovostí k tvorbě protilátek, ale jsou i choroby, při kterých je schopnost tvořit protilátky značně snížena.

Každý antigen je schopen vyvolat aloimunizaci, ale neuplatňuje se tato schopnost v každém případě antigeně neslučitelné transfúze. Při transfúzi se bere ohled jen na nejnebezpečnější antigeny. Pouze ve zvláštních případech se dává důraz i na ostatní antigeny a to buď:

- 1) při vyvinuté protilátce nebo při podezření na aloimunizaci
- 2) při opakované transfúzi.

### **4.3 Význam pro imunogenetiku**

Dítě nemůže mít ve svém skupinovém genotypu takový antigen, který nemá ani jeden z rodičů dítěte. Tento poznatek je důležitý při sporech o otcovství.

Pro soudní lékařství má význam fakt, že skupinové vlastnosti jsou během života neměnné. Proto se podle skupinového genotypu dá usuzovat totožnost člověka.

Pro biologii a antropologii má značný význam i poznatek, že krevní skupiny se nevyskytují ve stejném poměrném zastoupení u všech lidí.

#### **4.4 Význam pro získané hemolytické anémie a jiná onemocnění**

Antigeny, které jsou přítomné na krvinkách prakticky všech lidí, se nazývají skupinově nespecifické. Jejich hlavním představitelem byl antigen I, ukázalo se však, že ani tento antigen není úplně jednotný a všeobecný. Dopomohlo k tomu bližší zjištění tzv. *chladových nespecifických protilátek*. Tyto protilátky jsou schopny shlukovat při nižší teplotě všechny krvinky, včetně vlastních. Mají význam při diagnostice některých chorob, např. při infekční mononukleóze.

### **5. ERYTROCYTÁRNÍ ALOIMUNIZACE A TĚHOTENSTVÍ** <sup>9,10,11,12</sup>

#### **5.1 Monitorování těhotenství s rizikem aloimunizace**

Dojde-li u těhotné ženy k aloimunizaci ještě to neznamena, že musí dojít k poškození plodu. Riziko tu však je a abychom mohli, co nejlépe odhadnout velikost rizika, včasné detekovat fetální anémii, a v případě nutnosti, co nejdříve zahájili adekvátní léčbu, je nutná pečlivá monitorace těhotenství.

Při posuzování možného rizika pro plod se zaměřujeme na pečlivé odebrání anamnézy matky, genetickou výbavu otce, titr a typ protilátek, výsledky analýzy antigenní výbavy fetálních erytrocytů, ultrazvukové vyšetření plodu a případně i výsledky invazivních diagnostických metod.

##### *Anamnéza matky*

Základem je snaha nalézt možný zdroj aloimunizace. Ptáme se na předchozí průběh gravidit, stav plodu po porodu, transfuze v minulosti, předchozí invazivní vyšetření plodu (amniocentéza, biopsie choriových klků), imunoprolaxe IgG anti-D.

### *Otcovský genotyp*

Toto vyšetření lze využít pouze pokud se jedná o biologického otce plodu. Sleduje se Rh(D) negativita či pozitivita otce. A v případě Rh(D) positivity pak homozygocii pro D-alelu. V takovém případě je totiž plod vždy Rh(D) pozitivní.

## **5.2 Hemolytické onemocnění plodu a novorozence**

Hemolytické onemocnění novorozenců (HON) nastává v případě, že matka a plod nemají stejné složení skupinových fenotypů.

Za normálních okolností bezprostředně nesouvisí krevní oběh plodu s krevním oběhem matky. Oba jsou samostatné a nepřímo se navzájem stýkají v placentě.

Erytrocyty plodu přestoupí do krevního oběhu matky a naopak ve větším množství (více jak 0,1ml) výjimečně. Fetální erytrocyty jinak nacházíme v krevním oběhu matky až v 75% a to především v posledních 3 měsících těhotenství. Např. v období porodu nebo potratu (spontánního či indukovaného) může nastat významnější pronikání krvinek plodu přes placentu do krevního oběhu matky. Další příčinou senzibilizace může být podání nekompatibilní krevní transfuze, ektopické těhotenství, trauma, invazivní diagnostický a terapeutický výkon. Pokud povrchové erytrocytární antigeny matky nejsou shodné s některými znaky plodu, může antigen nestejně skupiny vyvolat aloimunizaci matky a tvorbu protilátek proti skupinovému antigenu plodu.

Pokud se při aloimunizaci tvoří v těle matky tzv. kompletní protilátka třídy IgM, není aloimunizace pro plod příliš nebezpečná, protože protilátka nepronikne přes placentu do krevního oběhu plodu. Jestliže se však tvoří tzv. inkompletní protilátky třídy IgG jejichž molekulová hmotnost je malá, mohou pronikat přes placentu do krevního oběhu plodu a vázat se na specifický antigen erytrocytů. Reakcí protilátky s antigenem nastává rozpad erytrocytů plodu a dochází k anemizaci. Důsledky pro plod pak závisí na závažnosti anemizace. Může jít o lehkou anémii s hyperbilirubinémií a postnatální žloutenkou, ale také intrauterinní hydrops a ascites plodu nebo dokonce až jeho intrauterinní odumření.

Nejtěžší případ, kdy dochází k výrazné hemolýze a anémii, je znám jako hemolytické onemocnění plodu a novorozence (HON). V důsledku rozvoje

extramedulární hematopoezy a likvidace erytrocytů dochází k hepatosplenomegálii. Porucha jaterních funkcí vede k poklesu hladin bílkovin, tedy i onkotického tlaku a dochází k rozvoji ascitu až anasarce. Tento stav společně s tkáňovou hypoxií je označován jako hydroops fetalis. Takový stav je většinou fatální.

Hyperbilirubinémie s postnatální žloutenkou bývá považována za lehčí formu aloimunizace, ale i tento stav může končit velmi vážně a někdy také i fatálně. V tomto případě je bez léčby novorozenec ohrožen kumulací nekonjugovaného bilirubinu, který při vysokých hladinách proniká do centrálního nervového systému a poškozuje jej. Dochází k poruchám příjmu potravy, inaktivitě, vyklenuje se fontanela a dochází k rozvoji křeččí. Takový stav přežije pouze asi 10% novorozenců a ti většinou trpí spastickou choreoatetózou, hluchotou a mentální retardací.

HON se při prvním těhotenství vyskytuje málokdy. Objevuje se obvykle ve druhém a dalším těhotenství.

### **5.3 AB0 inkompatibilita**

Hemolytické onemocnění novorozence se může v souvislosti se skupinovým systémem AB0 objevit pouze v případě, že matka má krevní skupinu 0 a dítě krevní skupinu A nebo B. Nejčastěji se setkáváme s inkompatibilitou typu 0/A1 než 0/B. Při kombinaci A/B, A/AB, B/A1 a B/A1B je inkompatibilita vzácná a u 0/A2, B/A2 a B/A2B zatím nejsou známy. AB0 inkompatibilita je přítomna přibližně ve 30% všech gravidit a je tedy nejčastější formou. Tuto formu inkompatibility navíc lze očekávat již u prvního těhotenství. Nicméně v průběhu těhotenství ke klinicky závažné anémii plodu nedochází. Běžně jsou totiž protilátky anti-A a anti-B povahy IgM a tak nemohou prostupovat placentární bariérou. Množství protilátek, které jsou jiné povahy a přeci jen prostoupí a způsobí hemolýzu, je natolik malé, že plod je schopen tyto ztráty kompenzovat bez rozvoje extramedulární erythropoézy. Jiná situace tedy nastává po porodu, pakliže v oběhu plodu stále tyto protilátky perzistují. V takovém případě by mohla hyperbilirubinémie dosáhnout nebezpečných hladin.



AB0 inkompatibilita je považována za přirozený ochranný faktor proti anti-D aloimunizaci. V případě průniku Rh(D)-pozitivních erytrocytů plodu do oběhu Rh(D)-negativní matky, jsou totiž fetální krvinky zničeny dříve než dojde k Rh(D) aloimunizaci. Ochranný efekt platí dokud k Rh(D) aloimunizaci nedojde a netýká se non-Rh(D) aloimunizace.

## **5.4 Rh(D) inkompatibilita**

Protilátky Rh-systému jsou v séru přítomny přirozeně jen zřídka. Obvykle jsou získány imunizací. Většinou jde o protilátky povahy IgG, někdy IgM a zcela vzácně IgA. Tvorba těchto protilátek začne pouze, jsou-li erytrocyty odbourány za pomoci monocytů a makrofágů. Vzhledem k tomu, že D-antigen je velice silný, vyvolá reakci, tedy tvorbu protilátek už při parenterálním podání 0,1ml Rh(D)-pozitivní krve. Protilátky se tvoří v průběhu asi 3 měsíců po kontaktu, a to převážně v podobě IgM. Proto při prvním kontaktu dojde k rozvoji HON jen zřídka. Naopak těhotenství již po Rh(D) izoimunizaci jsou velmi vážně ohrožena.

## **5.5 Non-Rh(D) inkompatibilita**

Atypická aloimunizace zahrnuje inkompatibilitu dalšími skupinovými systémy než je AB0 a Rh(D) systém. Nejčastěji se jedná o protilátky E, e, c, C, S, K (Kell), Fy<sub>a</sub>(Duffy) a Jk<sub>a</sub> (Kidd), Kp<sub>a</sub>, Kp<sub>b</sub>, Wr<sub>a</sub> a další. Přičemž anti-K, anti-c a anti-E jsou nejnebezpečnější. Nepravidelné protilátky jsou dle klinické významnosti rozděleny v Příloze č.2.

## **5.6 Diagnostika**

### **5.6.1 Neinvazivní diagnostické metody**

#### **5.6.1.2 Mateřské protilátky**

U každé těhotné ženy by měla být v I. trimestru vyšetřena krevní skupina, Rh-faktor a protilátky – přímý i nepřímý Coombsův test. V případě, že je žena Rh-negativní je nutné vyšetření na anti-D opakovat ve II. a III. trimestru. U ženy Rh-positivní by správně ještě mělo být provedeno vyšetření ve 32. týdnu gravidity na případné jiné protilátky než anti-D.

V případě průkazu významných protilátek je důležitá porodnická anamnéza (předchozí těhotenství, stav plodu po porodu, krevní převod v minulosti, amniocentéza, podání anti-D globulinu), neboť pomáhá usuzovat na další vývoj aloimunizace. Mnohem významnější je stanovení titru protilátek v séru matky. Kritické hladiny bývají uváděny kolem 4 IU/ml a titr 16 pro anti-D a 8 pro anti-K. Další neinvazivní sledování titru protilátek by mělo být prováděno po cca 3 týdenních intervalech. Bohužel samotný titr protilátek nevyovídá nic o hemolytickém potenciálu. Ten je závislý na síle exprese cílového antigenu na krvinkách plodu, na gestačním stáří plodu, kdy hladina protilátek dosáhne kritických hodnot, na specificitě a koncentraci IgG apod. Nicméně ani tak, nemůžeme sledovat a vést těhotenství pouze podle těchto údajů spolehlivě.

### **5.6.1.3 Ultrazvukové vyšetření**

Díky ultrazvukovým přístrojům s vysokou rozlišovací schopností je možno sledovat známky rozvoje kompenzatorní reakce a zjištění iniciálního hydropsu. Mezi znaky kompenzatorní reakce patří: množství plodové vody, velikost fetálních jater, ztlustění placenty, zvýšení echogenity fetálních střev a biventrikulární průměr srdce. Někdy však dojde k rozvoji anémie tak rychle, že se známky kompenzatorní reakce ani nerozvinou a hydrops plodu se vyvine během jednoho týdne.

Velký význam mají změny v průtoku arteria cerebri media u plodu. Tento marker fetální anémie, označovaný jako peak systolic velocity arteria cerebri media (PSV MCA) má téměř 100% sensitivitu a nízkou falešnou pozitivitu.

## **5.6.2 Invazivní diagnostické metody**

### **5.6.2.1 Amniocentéza**

Odebrané amniocyty se dají využít k stanovení Rh-statusu plodu za pomoci PCR. Další možností je určení množství bilirubinu v plodové vodě. K tomuto účelu se využívají tzv. Lileyho grafy. Dle hladin bilirubinoidů se rozlišují 4 skupiny: 1. Rh-negativní bez rizika, 2. plody v nejisté zóně, 3. Rh-positivní anemické, 4. plody s rizikem intrauterinní smrti. Tato metoda je ale spíše metodou doplňkovou ke kordocentéze nebo při nemožnosti provedení kordocentézy.

### **5.6.2.2 Kordocentéza**

Kordocentéza je transabdominálním ultrazvukem kontrolovaná punkce pupečníku. Jde o jednu z nejpoužívanějších metod přístupu k fetální cirkulaci. Díky této metodě můžeme stanovit krevní skupinu, Rh-faktor plodu, přímý Coombsův test, krevní obraz včetně počtu retikulocytů, hladinu bilirubinu, acidobazickou rovnováhu a karyotyp plodu.

## **5.7 Terapie anemického plodu**

### **5.7.1 Intrauterinní transfuze (IUT)**

První antenatální léčba se zdařila v roce 1963 Lileymu a to technikou intraperitoneální transfuze. Následně se začali objevovat další možné způsoby a osmdesátá léta se stala dobou diskuzí o nejvhodnějším způsobu aplikace transfuze: intraperitoneálně, intraumbilikálně s kompletní výměnou fetální krve, intraumbilikálně bez výměny (doplňovací transfuze) nebo kombinace intraumbilikálního a intraperitoneálního přístupu. Nyní se dává přednost intraumbilikálnímu přístupu bez výměny fetální krve. Shoda ale neplatí ohledně hodnot cílového hematokritu (Hct). Cílové hodnoty Hct se pohybují kolem 0,40 – 0,45, při vyšších hodnotách se významně zvyšuje viskozita krve a mohlo by dojít k hypoxii v některých orgánech.

Intraumbilikální transfuze má mnohá rizika. Mezi nejčastější závažné komplikace patří: těžká bradykardie plodu na začátku výkonu, akutní zástava srdce plodu během výkonu, tamponáda pupečníku, trombóza pupečníku, tromboembolie plodu a novorozence, portrahované krvácení z pupečníku, chorioamniitida, vzduchová embolie apod.

Poslední transfuze se provádí nejpozději ve 35. týdnu těhotenství a obvykle se rodí kolem 37. a 38. týdne císařským řezem. Přesto, že je snaha prodloužit těhotenství co nejvíce, aby plod nebyl ohrožen prematuritou, je nutné počítat i s předčasným ukončením těhotenství. V takovém případě se musí myslet na vyšší nezralost novorozence (RDS), poporodní anemizaci, hyperbilirubinémii, leukopénii a koagulopatii. Někdy také přetrvává pro perzistující protilátky dřeňový útlum a je nutno zahájit dlouhodobou transfuzní léčbu novorozence.

## **5.7.2 Nepřímá léčba**

### **5.7.2.1 Intravenózní sérový imunitní globulin**

Je prokázáno, že podávání vysokých dávek nespecifického sérového imunoglobulinu může snížit závažnost průběhu hemolytické fetální anémie. Tato terapie nemůže zcela odstranit nutnost podávání intraumbilikální transfuze, ale může pomoci odložit začátek invazivní léčby a snížit celkový počet transfuzí.

### **5.7.2.2 Intenzivní mateřská plazmaferéza**

Plazmaferéza umožňuje přímé snížení množství cirkulujících protilátek v oběhu matky a tedy i plodu. Opakovanou výměnou plazmy je možné docílit snížení titru protilátek až o 80%, ale výsledek je jen dočasný. Navíc jde o dosti agresivní léčbu a je tu tedy i možné riziko úmrtí plodu. Z tohoto důvodu se nejedná o léčbu první volby.

## **5.7.3 Poporodní neonatologická péče**

Celkový stav novorozence a jeho následná adaptace závisí na gestačním stáří. Takový novorozenec je více ohrožen nedostatečným vyžíváním plic, intrakraniálním krvácením a infekčními komplikacemi při leukopenii ve srovnání se stejně starým novorozencem z neimunizovaného těhotenství. Anémie novorozence po opakovaných IUT bývá jen mírná až střední, ikterus lze většinou zvládnout fototerapií. Pozdní anémie se léčí opakovanými převody resuspendovaného, ozářeného a filtrovaného erytrocytového transfuzního přípravku.

## **5.8 Prevence aloimunizace** <sup>11,13,14,15</sup>

### **5.8.1 Imunoprolaxe anti-D**

Imunoprolaxe anti-D globulinem (IgG anti-D) po porodu, potratu nebo invazivních výkonech v těhotenství znamenala významný pokles výskytu erytrocytární izoimunizace. Injikování preparátu IgG-anti-D se týká Rh-negativních žen, které ještě nemají vytvořeny anti-D protilátky (mají tedy negativní Coombsův test). Podobná protilátka anti-D se váže s Rh pozitivními krvinkami plodu a poškodí je dříve, než by mohly vyvolat aloimunizaci.

Teoreticky by tedy podaný IgG-anti-D mohl projít skrz fetoplacentární bariéru a vyvolat fetální hemolytickou anémii, ale terapeutická dávka je tak nízká, že riziko iatrogenního poškození je nízké.

V I. trimestru těhotenství by každá těhotná měla mít vyšetřenu krevní skupinu v systému ABO, Rh-faktor a screening protilátek (Coombsův test). Česká gynekologická a porodnická společnost (ČGPS) doporučuje provádět základní laboratorní vyšetření a screening přítomnosti protilátek kolem 10.-12. týdne těhotenství (erytrocytární antigeny Rh jsou na krvinkách plodu detekovatelné asi od 6. týdnů). V případě, že je žena Rh(D) negativní je indikováno vyšetření ve 24. týdnu a další pak ve 32. týdnu těhotenství. Rutinní aplikace IgG anti-D ve 28. týdnu, tak jak ji doporučuje Americká asociace krevních bank (AABB), u nás není standardem.

### **5.8.2 Indikace anti-D profylaxe**

Ochrana proti Rh(D) aloimunizaci se řídí dle metodického návodu Ministerstva zdravotnictví a sociálních věcí ČR č.j. LP/2 – 252-5.4.89 (viz Příloha č.1).

#### **5.8.2.1 Těhotenství**

IgG anti-D je indikováno u ektopické gravidity, interupce či spontánního potratu. Do 12. týdne gravidity se aplikuje 50 mikrogramů ( $\mu\text{g}$ ) IgG anti-D, u těhotenství starších 12. týdne se aplikuje 300  $\mu\text{g}$  IgG anti-D. Mezi další indikace patří biopsie choria, amniocentéza, obrat plodu zevními hmaty a často opomíjený tupý úraz břicha (včetně dopravní nehody). Ostatní indikace jsou vyjmenovány v Tabulce č.1.

U těhotných s krvácením před porodem či nitroděložním odumřením plodu ve III. trimestru by měl být proveden Kleinhauer-Betke test, který kvantifikuje fetomaternální krvácení. Pokud by krvácení bylo větší než 30 ml a standardní dávka IgG anti-D by tedy nestačila, aplikuje se 10  $\mu\text{g}$  na 1 odhadnutý mililitr fetomaternální transfuze.

Tabulka č.1: Další indikace pro podání IgG anti-D <sup>11,14</sup>

<b>Další indikace</b>
<b>spontánní potrat (<i>riziko aloimunizace 1,5-2 %</i>)</b>
<b>hrozící (léčený) potrat</b>
<b>potrat z medicínské indikace (<i>riziko aloimunizace 1,5-2%</i>)</b>
<b>mimoděložní těhotenství</b>
<b>mola hydatidosa</b>
<b>amniocentéza (<i>riziko aloimunizace 7-15 %</i>)</b>
<b>biopsie choriových klků (<i>riziko aloimunizace 7-12 %</i>)</b>
<b>placenta preavia s krvácením</b>
<b>suspektní abrubce placenty</b>
<b>intrauterinní úmrtí plodu</b>
<b>tupý úraz břicha (včetně dopravní nehody)</b>
<b>obrat plodu zevními hmaty (<i>riziko aloimunizace 2-6 %</i>)</b>

### 5.8.2.2 Porod

Pokud Rh(D) negativní žena porodí Rh(D) pozitivní dítě, obvykle se podá 300µg IgG anti-D do 72 hodin po porodu. Pokud je novorozenec Rh(D) negativní, profylaxe není indikována.

Po císařském řezu a komplikovaných porodech se doporučuje podat dvojnásobek standardní dávky. Stále častěji se ale objevují doporučení o provedení screeningu velikosti fetomaternálního krvácení pomocí např. Kleinhauerova-Betkeho testu. Tímto vyšetřením si totiž lékař může být jist, zda podaná dávka byla dostačující.

### 5.8.2.3 Opomenutí podání IgG anti-D

V případě neúmyslného opomenutí podání IgG anti-D po porodu může jeho podání během následujících 13 dnů vést ještě stále k částečné protekci.

## II. CÍL PRÁCE

Cílem této práce je sledovat výskyt non-Rh(D) erytrocytárních protilátek u těhotných v souvislosti s možnou erytrocytární aloimunizací.

Při sběru dat na oddělení imunohematologie Ústavu hematologie a krevní transfuze (ÚHKT) mě zaujalo množství těhotných žen s non-Rh(D) specifickými protilátkami, o kterých se v učebnicích a během studia příliš nemluvílo.

Přestože již existují studie, které zmiňují stále větší uplatnění atypických protilátek na patogenezi hemolytického onemocnění plodu a novorozence, stále ještě je omezena pozornost gynekologů a porodníků pouze na jeden typ erytrocytárních protilátek, a to anti-D.<sup>17</sup> Avšak i nepravidelné erytrocytární protilátky (protilátky E, e, C, c, S, K (Kell), Fy<sub>a</sub>(Duffy) a Jk<sub>a</sub> (Kidd), Kp<sub>a</sub>, Kp<sub>b</sub>, Wr<sub>a</sub> a další) mohou být významné při možném rozvoji erytrocytární aloimunizace. Pokud by se výskyt a významnost těchto protilátek potvrdila, dalo by se lépe preventivně předcházet rozvoji a případně i vzniku HON, a to jak ve smyslu sekundární, tak v určitém směru možná i primární prevence.

### III. MATERIÁL A METODIKA

Praktickou část jsem zpracovávala v ÚHKT, na oddělení imunohematologie, pod odborným vedením MUDr. Martina Písačky.

Zpracovávaný vzorek dat je tvořen pacientkami s diagnózami Z32- Z39 dle MKN. Vzhledem k tomu, že oddělení imunohematologie je referenční laboratoř, jsou zde převážně vyšetřovány komplikovanější případy. Z tohoto důvodu není vzorek reprezentativní pro celou společnost a výsledky mohou být částečně zkresleny. Pokud by se touto problematikou zabýval někdo v budoucnosti, bylo by třeba sledovat výskyt erytrocytárních protilátek na vzorku získaném z celé populace. Vzorek byl získán z kartotéky pacientů oddělení imunohematologie ÚHKT, jehož základní soubor byl tvořen 2244 pacienty. U pacientek byla sledována krevní skupina, pozitivita specifických i nespecifických erytrocytárních protilátek, typ specifických protilátek a datum narození. Z vybraného vzorku byly vyřazeny pacientky, u kterých nebyla data úplná. Nakonec se tato práce zabývala vzorkem čítajícím 908 těhotných pacientek.

Charakter výzkumného šetření žádné složitější statistické nástroje nevyžadoval, a proto byly použity kombinační tabulky a grafy k vyjádření četností výskytu.

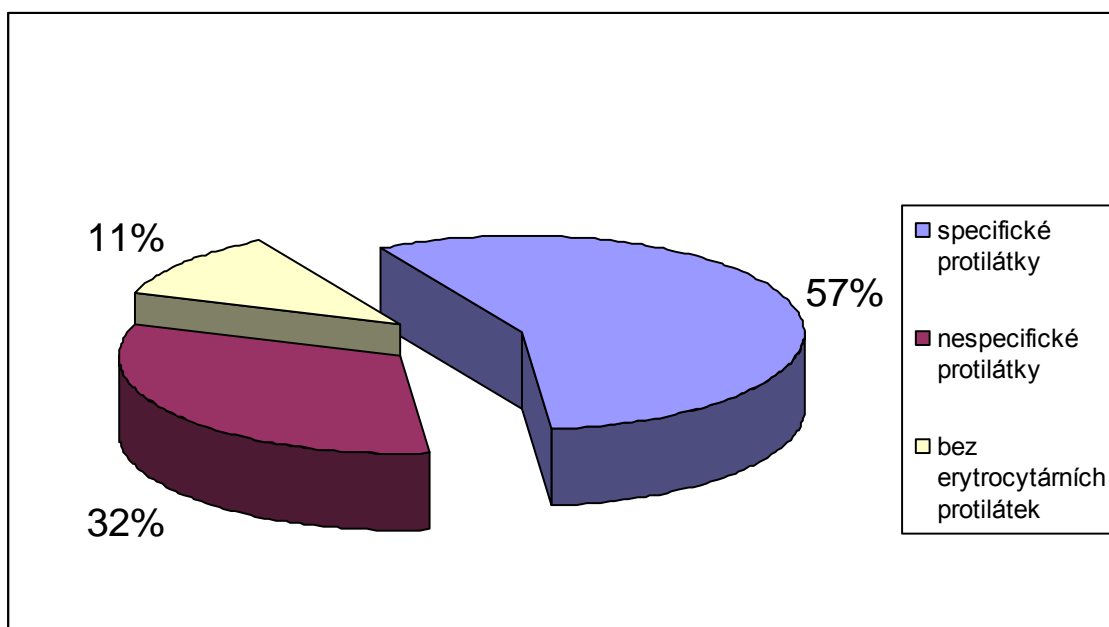


## IV. VÝSLEDKY

Od roku 1990 až do konce roku 2007 bylo v ÚHKT vyšetřeno 908 těhotných pacientek.

Vzorek byl rozdělen podle přítomnosti specifických (S), nespecifických (N) nebo žádných erytrocytárních (ery) protilátek (P) v krvi. Pacientek s S protilátkami bylo 57%, N protilátky se vyskytly u 32% pacientek a žádné erytrocytární protilátky v krvi nemělo 11% pacientek (viz Graf č. 1).

Graf č. 1: Základní rozdělení erytrocytárních protilátek v krvi u všech těhotných pacientek ÚHKT



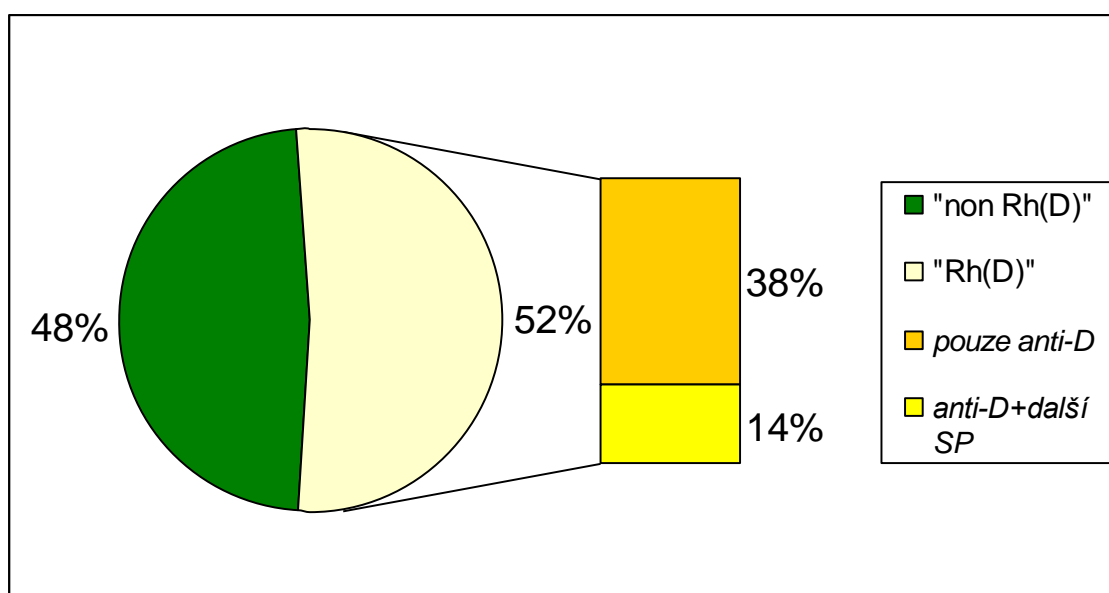
Celkový počet těhotných, které měly v krvi přítomny specifické erytrocytární protilátky, činil 515.

Vzhledem k tomu, že Rh(D) inkompatibilita je nejvýznamnější, je každé těhotenství s přítomností anti-D považováno za rizikové (možný rozvoj HON), a to bez ohledu na další specifické protilátky. Proto tato skupina byla dále rozdělena pouze na základě přítomnosti a nepřítomnosti anti-D, na tzv. „Rh(D)“ a „non-Rh(D)“ podskupiny. Jak vyplývá z Tabulky č.1 a Grafu č.2 mezi pacientkami se specifickými protilátkami se vyskytlo 267, resp. 52% Rh(D) a 248, resp. 48% non-Rh(D). Procentuální zastoupení těchto podskupin v celém vzorku je pak ukázáno v Grafu č.3.

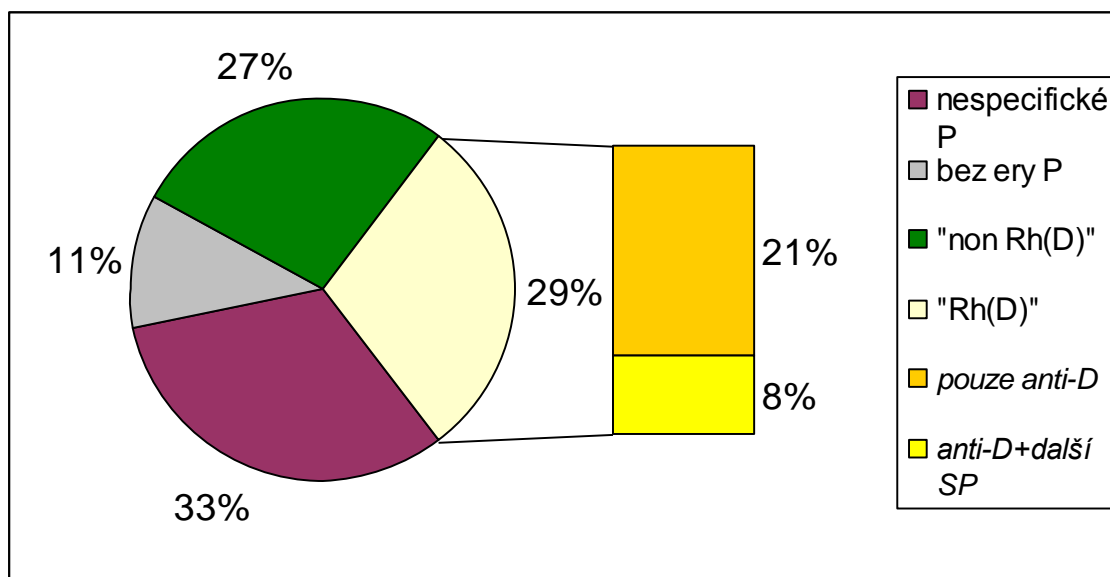
Tabulka č.1: Základní rozdělení specifických protilátek podle přítomnosti anti-D

„Rh(D)“		„non-Rh(D)“
<i>pouze anti-D</i>	<i>anti-D + další specifické protilátky</i>	
194	73	
<b>267</b>		<b>248</b>

Graf č.2: Procentuální vyjádření základního rozdělení specifických protilátek podle přítomnosti anti-D

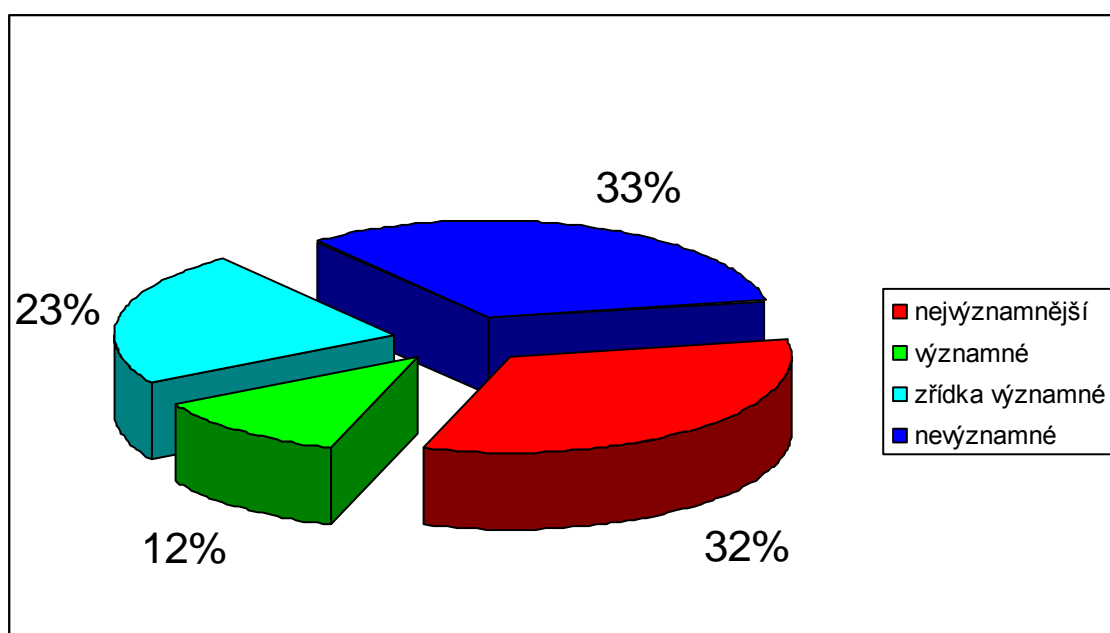


Graf č.3: Procentuální vyjádření základního rozdělení specifických i nespecifických protilátek u těhotných ÚHKT



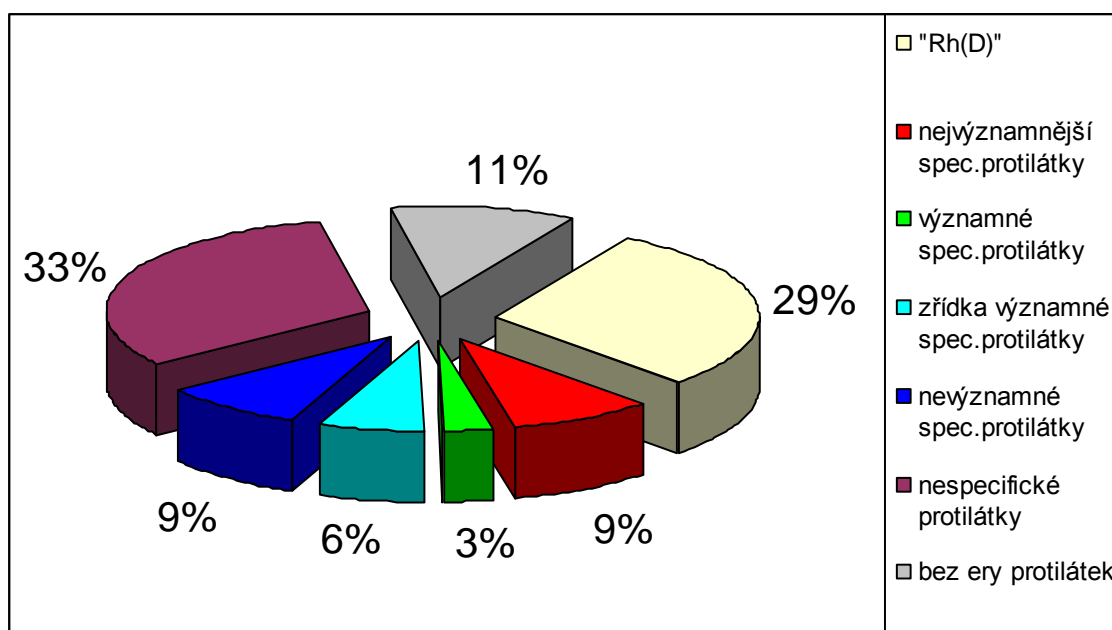
Nepravidelné („non-Rh(D)“) protilátky byly rozděleny podle klinické významnosti dle Přílohy č.2. Jak je vyjádřeno v Grafu č. 4, z celkového počtu 248 těhotných s nepravidelnými protilátkami tak vznikly 4 podskupiny. Podskupinu „nejvýznamnějších“ protilátek tvoří 81 pacientek, resp. 32%, podskupinu „významných“ protilátek 29 pacientek, resp. 12%, podskupinu „zřídka významných“ 57 pacientek, resp. 23% a podskupinu „nevýznamných“ protilátek 81 pacientek, resp. 33%.

Graf č. 4: Procentuální zastoupení nepravidelných protilátek dle klinické významnosti



Výskyt erytrocytárních protilátek u celého vzorku těhotných (908) na ÚHKT je zobrazen v Grafu č.5. Jak z tohoto grafu vyplývá, mezi pacientkami se vyskytlo 104, resp.11% pacientek bez erytrocytárních protilátek, 289, resp. 33% těhotných s nespecifickými protilátkami, 267, resp. 29% Rh(D) těhotných, dále **81, resp. 9% pacientek s nejvýznamnějšími**, **29, resp.3% pacientek s významnými**, 57, resp.6% pacientek se zřídka významnými a 81, resp.9% těhotných s nevýznamnými protilátkami.

Graf č.5: Procentuální zastoupení erytrocytárních protilátek u těhotných na ÚHKT



## V. ZÁVĚR

Výsledky této práce ukazují, že výskyt nepravidelných („non-Rh(D)“) erytrocytárních protilátek u těhotných rozhodně není zanedbatelný.

Výskyt všech nepravidelných („**non-Rh(D)**“) protilátek – **27%** - je skoro stejně častý jako pravidelných („**Rh(D)**“) protilátek – **29%**. Samozřejmě ne všechny nepravidelné protilátky se podílejí na možném rozvoji HON, a proto byl dále sledován výskyt „non-Rh(D)“ protilátek podle klinické významnosti. Výsledky ukazují, že až u **12%** těhotných jsou přítomny **nejvýznamnější a významné nepravidelné protilátky**, které by mohly být příčinou HON.

Je tedy až s podivem, jak málo pozornosti je právě nepravidelným erytrocytárním protilátkám věnováno. Zvláště pak, když tomuto typu erytrocytární aloimunizace nelze předcházet imunoprophylaxí tak, jako u Rh(D) aloimunizace.

A právě vzhledem k imunoprophylaxi Rh(D) aloimunizace jsem vytvořila hypotetickou situaci, kdy by tato prevence byla stoprocentně účinná (viz Příloha č. 3). V takovém případě by se totiž u některých těhotných mohly uplatnit i jiné specifické erytrocytární protilátky než právě anti-D. Ve skupině nejvýznamnějších a významných protilátek stoupá výskyt z 12% až na 20% těhotných. Je jasné, že prevence nemůže být stoprocentně účinná, ale tato hypotetická situace poukazuje na **trend poklesu významu anti-D** díky imunoprophylaxi a naopak **relativnímu růstu významu některých nepravidelných protilátek**.<sup>17</sup>

Proti vzniku pravidelných protilátek preventivní opatření, v podobě imunoprophylaxe, již existuje. U non-Rh(D) aloimunizace tomu tak není. Ale vzhledem k tomu, že nepravidelné protilátky nejčastěji vznikají v důsledku podané transfuze, naskytá se otázka, zda právě způsob podávání transfuzí není aspoň částečným preventivním opatřením. Před podáním transfuze prozatím nejsou standardně vyšetřovány antigeny pro všechny erytrocytární systémy, a proto u některých může dojít k non-Rh(D) aloimunizaci. Pokud by se ale už v dětství ženy fenotypicky hodnotily a následně by jim byly podávány pouze transfuze odpovídající jejich fenotypu, pravděpodobně by se tak snížilo

množství senzibilizovaných žen. Je už tedy věcí dalšího zkoumání, zda rizika převažují nad ekonomickou náročností apod.

Výsledky této práce také ukazují velký počet těhotných žen, které měly pouze nespecifické protilátky. Vzorek byl ale získán na oddělení imunohematologie ÚHKT, kde jsou převážně vyšetřovány komplikovanější případy, ale i přesto je tento vysoký počet zajímavým zjištěním. Může se jednat o problémy spojené dokonce i s nespecifickými erytrocytárními protilátkami, nebo o problémy vyplývající z nejednotných a nevhodných algoritmů imunohematologického vyšetřování v ČR.<sup>17</sup> Určitě by bylo zajímavé a vhodné se těmito otázkami více zabývat v budoucích studiích.

Na závěr bych vyjádřila své překvapení nad velkým počtem žen s anti-D protilátkami. Je zřejmé, že díky způsobu získání dat je počet těhotných s „problematickými“ protilátkami v tomto sledovaném vzorku vyšší. Přesto je počet 267 žen z celkového počtu 908 překvapivě vysokým číslem. Tento výsledek může hovořit o nedostatečně zajišťované profylaxi Rh(D). Dalším důvodem by mohla být i nedostatečná komunikace mezi klinickým pracovištěm a laboratoří, kdy klinické pracoviště nedodá informaci o již provedené imunoprofylaxi a laboratoř tak může zachytit iatrogeně podané protilátky anti-D.

## VI. SOUHRN

Hemolytické onemocnění plodu/novorozence (HON) patří mezi velmi závažné stavy. Jde o onemocnění, které je vyvoláno pravidelnými, ale i nepravidelnými specifickými erytrocytárními protilátkami. Mezi nejvýznamnější erytrocytární protilátky způsobující HON patří anti-D, -K, -c, -E. Tato práce se zabývá sledováním výskytu nepravidelných erytrocytárních protilátek u těhotných a upozorňuje na nedostatečnou pozornost věnovanou tomuto typu protilátek. Celý vzorek tvoří 908 těhotných vyšetřovaných na oddělení imunohematologie ÚHKT. Data byla vyhodnocena a zpracována za pomoci kombinačních tabulek a grafů s vyjádřením četností.

## **VII. SUMMARY**

Hemolytic disease of the fetus and newborn (HDN) represents a serious disease. It is caused by regular but also irregular specific red blood cells antibodies while the anti-D, -K, -c and -E represent the ones which are most often responsible for HDN. This study deals with observation of irregular specific red blood cells antibodies incidence among pregnant patients and refers to insufficient attention given to this type of antibodies in connection with HDN. The statistic sample consists from 908 patients examined on imunohematologic department of IHBT. The data were statistically evaluated using crosstabs and were processed as graphs of occurrence.



## VIII. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- 1) Trojan, S.; Langmeier, M. a kol.: *Lékařská fyziologie*, 3. vyd. Praha: Grada Publishing, 1999. 616s. ISBN 80-7169-788-5
- 2) *Velký lékařský slovník On-Line*, Maxdorf s. r. o. Praha, 2002. [cit. 10.9.2008] [www.maxdorf.cz](http://www.maxdorf.cz)
- 3) Rokyta, R. a kol.: *Fyziologie pro bakalářská studia v medicíně, přírodovědných a tělovýchovných oborech*. 1. vyd. Praha: ISV, 2000. 365s. ISBN 80-85866-45-5
- 4) Hrubíško, M. a kol.: *Hematologie a krevní transfúze II.*, 1. vyd. Praha: Avicenum, 1983. 274 s.
- 5) Silbernagl, S., Lang, F.: *Atlas Patofyziologie člověka*, 1. vyd. Praha: Grada Publishing 2001, 404s. ISBN 80-7169-968-3
- 6) G. Daniels: *Human Blood groups*, Oxford: Blackwell Science Ltd. 2002
- 7) K. Smetana a kolektiv: *Hematologie a transfuziologie I.*, 1. vyd. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1992
- 8) Schenkel-Brunner, H.: *Human Blood Groups - Chemical and Biochemical Basis of Antigen Specificity*, Wien: Springer-Verlag 2000, 637s. ISBN 3-211-83471-0, s. 55 - 155
- 9) Čech, E. a kol.: *Porodnictví*, 2. vyd. Praha: Grada Publishing 2006, 544s. ISBN 80-247-1313-9, s. 209
- 10) Hájek, Z. a kol.: *Rizikové a patologické těhotenství*, 1. vyd. Praha: Grada Publishing 2004, 444s. ISBN 80-247-0418-8, s.83
- 11) Roztočil, A.: *Moderní porodnictví*, 1. vyd. Praha: Grada Publishing 2008, 408 s. ISBN 978-80-247-1941-2
- 12) Zwinger, A. a kol.: *Porodnictví*, 1.vyd. Praha: Galén 2004, 532s. ISBN 80-7262-257-9, s.257
- 13) Vlk, R.: *Komentář k článku: "Rh inkompatibilita: stálý problém" ze str. 25-32*, Gynekologie po promoci, 2004, roč.4, č.4, s.32-34, ISSN 1213-2578
- 14) Moise, K. J.: *Rh inkompatibilita: stálý problém*, Gynekologie po promoci, 2004, roč. 4, č. 4, s. 25-32, ISSN 1213-2578

- 15) Gooch, A.; Parker, J.; Wray, J.; Qureshi, H.: *Guideline for blood grouping and antibody testing in pregnancy*. British Committee for Standards in Haematology, 2006.[on line]. London: Blackwell Publishing, 2007 [cit. 10.9.2008]. www.bcshguidelines.com
- 16) Wagle, S.; Deshpande, P.: *Hemolytic Disease of Newborn*, 2008. [on line]. [cit. 10.9.2008]. www.emedicine.com
- 17) Masopust J., Banzetová, H.; Dušková D.: *Prenatální a postnatální imunohematologická vyšetření*, *Tranfúze a hematologie*, roč. 14, č. 1, s. 7-18, ISSN 1213-5763
- 18) Ľubušký, M.; Procházka, M.; Krejčová, L.: *Prevence Rh(D) aloimunizace u Rh(D) negativních žen v těhotenství a po porodu Rh(D) negativního dítěte*, *Česká gynekologie*. 2006. roč. 71, č. 3, s.173-179. ISSN 1210-7832
- 19) Žižka, Z.: *Erytrocytární aloimunizace v těhotenství – aktuální problémy*, *Zdravotnické noviny*.2002. roč. 51, č. 32, s.8-12. ISSN 0044-1996
- 20) Kučerová, I.: *Hemolytická nemoc a hypoxie plodu*, *Moderní gynekologie a porodnictví*. 2005. roč. 14, č.3, s.407-415. ISSN 1214-1058
- 21) Žižka, Z.; Calda, P.; Zlatohlávková, B.: *Komplikace prevence a léčby erytrocytární aloimunizace*, *Sborník lékařský*. 1998. roč. 99, č. 2, s. 111-117. ISSN 0036-5327
- 22) Calda, P.; Žižka, Z.; Kvasnička, J.: *Výsledky 10 let léčby aloimunizace plodu intraumbilikální transfuzí*, *Časopis lékařů českých*. 2001. roč. 140, č. 10, s. 313. ISSN 0008-7335
- 23) Flídrová, V.: *Diplomová práce: Hematoonkologická onemocnění v závislosti na krevních skupinách*. Praha, 2008
- 24) WHO: *Klinické použití krve – příručka*, 1. vyd. Praha: Grada Publishing 2002. 232 s. ISBN 80-247-0268-1
- 25) Kubisz, P.; Staško, J.: *Hematológia a transfuziológia*, 1. vyd. Praha: Grada Publishing 2006. 324 s. ISBN 80-247-1779-4

## IX. PŘÍLOHY

### Příloha č.1<sup>18</sup>:

#### ***Metodický návod Ministerstva zdravotnictví a sociálních věcí ČR vydaný k ochraně proti Rh(D) aloimunizaci:***

1. Při dispenzární péči o těhotné ženy věnují lékaři zvláštní pozornost ženám, jestliže
  - a) mají krevní skupinu Rh(D)-negativní,
  - b) během těhotenství nebyla v jejich krevním séru prokázána přítomnost anti-Rh(D) protilátek.
  
2. Zjistí-li lékař uvedené skutečnosti, poučí ženu o nutnosti ochrany proti Rh(D) aloimunizaci, při tom vyzve ženu, aby předložila na ženském oddělení nemocnice s poliklinikou, kde bude přijata k porodu, průkazku pro těhotné.
  
3. Lékař poskytující péči při porodu provede popř. zajistí odběr pupečnickové krve novorozence na vyšetření ABO krevní skupiny, Rh(D) a stanovení přímého antiglobulinového (Coombsova) testu. Je-li
  - a) krevní skupina novorozence Rh(D) pozitivní popřípadě Du pozitivní,
  - b) přímý antiglobulínový test negativní,aplikuje lékař matce imunoglobulin anti-Rh(D) (dále jen „IgG anti-D“), a to nitrožilně (dále jen i.v.) v dávce 100 µg, nebo nitrosvalově (dále i.m.) v dávce 250 µg. Nejpozději do 72 hodin po porodu.
  
4. Je-li při porodu zvýšené nebezpečí prostupu červených krvinek plodu do krve matky (porod císařským řezem, porod s příznaky předčasného odlučování lůžka, porod s patologií v III. době porodní), podává se do stejné doby dvojnásobná dávka, tj. 200 µg IgG anti-D i.v. nebo 500 µg IgG anti-D i.m.

5. V I. trimestru u žen Rh(D) negativních se po samovolném potratu a nebo UPT (mimo tzv. miniinterupce) nebo po operaci mimoděložního těhotenství nebo při biopsii choria z genetické indikace podává 100 µg IgG anti-D i.m. a nebo 50 µg i.v.
6. Po indukovaných abortech ve II. trimestru a po amniocentéze ve II. a III. trimestru, proniká-li jehla placentární tkání, se u žen Rh(D) negativních podává 100 µg IgG anti-D i.v., nebo 250 µg IgG anti-D i.m.
7. Ženě, které bude aplikován IgG anti-D, vystaví lékař písemné potvrzení se základními údaji – jméno, adresa, důvod aplikace IgG anti-D, preparát, dávka, způsob aplikace.
8. IgG anti-D se nepodává ženám, ve jejichž krevním séru byla prokázána přítomnost anti-Rh(D) protilátek a ženám starším 37 let, pokud neplánují další těhotenství, po poučení ženy lékařem, která toto stvrdí svým podpisem do zdravotnické dokumentace.
9. Podle tohoto metodického návodu se postupuje od 15.4. 1989.
10. Směrnice č. 18/1971 Věst. MZ ČSR o ochraně proti Rh izoimunizaci byly zrušeny výnosem ze dne 2.3.1989, č.j.: LP/2-252-2.3.1989.

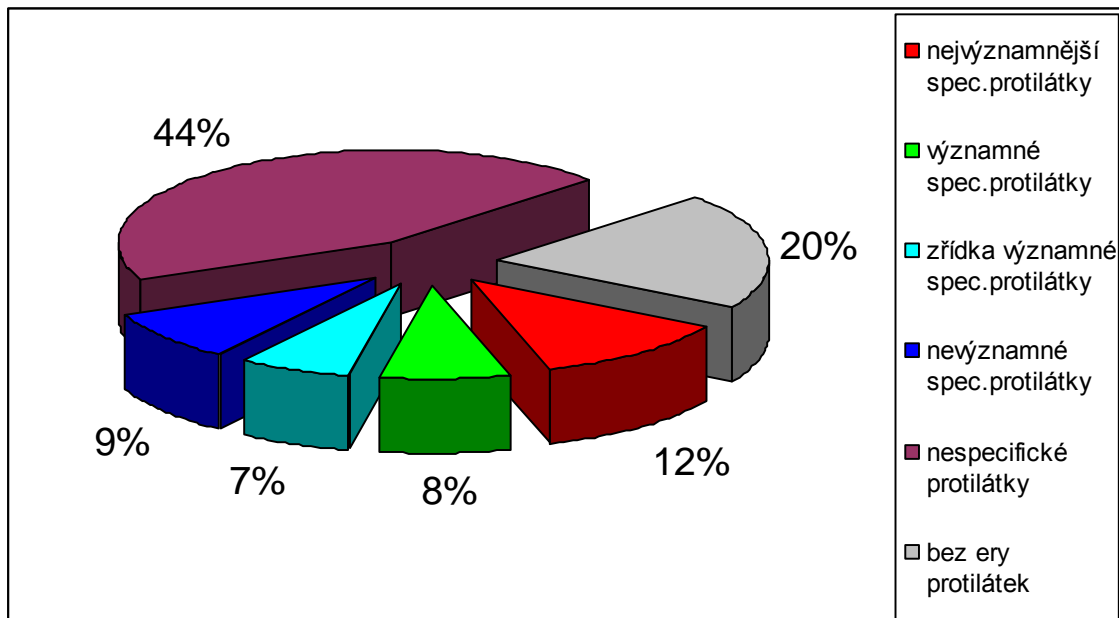
**Příloha č.2:**

***Klinická významnost nepravidelných erytrocytárních protilátek z hlediska možného rozvoje HON <sup>(11,17)</sup>***

<b>Klinická významnost</b>	<b>Typ protilátky</b>
<b><i>nejvýznamnější</i></b>	anti-K, -c, -E
<b><i>významné</i></b>	anti-e, -C, -Ce, -cE, -ce, -C <sup>w</sup> , -k, -S, -s, -Fy <sup>a</sup> , -Jk <sup>a</sup> , -Wr <sup>a</sup> , Kp <sup>a,b</sup> , -G
<b><i>zřídka významné</i></b>	anti-M, -Fy <sup>b</sup> , -Js <sup>a,b</sup> , -U, -Jk <sup>b</sup> , -Di, -En <sup>a</sup> , -Yt <sup>a</sup> , -N, -Lu <sup>a,b</sup>
<b><i>nevýznamné</i></b>	anti-P, - Le <sup>a,b</sup> , -H, -I, -HI

### Příloha č.3:

Procentuální zastoupení erytrocytárních protilátek u těhotných na ÚHKT při 100% prevenci Rh(D) aloimunizace



Porovnání zastoupení erytrocytárních protilátek u těhotných na ÚHKT nyní a při 100% prevenci Rh(D) aloimunizace

