

HLAVNÍ KREVŇÍ SKUPINY (AB0 SYSTÉM A RH FAKTOR) A JEJICH DĚDIČNOST

(Určení krevních skupin systému AB0 a Rh faktoru pomocí antisér. Frekvence fenotypů a genotypů v dané skupině. Hardyho-Weinbergův zákon. Dědičnosti krevních skupin u člověka.)

ÚVOD

Existenci čtyř základních krevních skupin objevil Karl Landsteiner v r. 1900 (na něm nezávisle v roce 1907 český psychiatr Jan Janský) a nazval je pomocí písmen A, B a 0, celý systém se proto označuje jako AB0 systém. Mechanismus dědičnosti krevních skupin byl navržen v roce 1908.

Základní krevní skupiny - **A, B, AB, 0** - jsou určeny řadou alel (*mnohotná alelie*), které jsou děděny *jednoduše autozomálně* podle Mendelových zákonů. Gen, alely jako jeho konkrétní formy, je lokalizován na krátkém (q) raménku 9. chromozómu.

Základní typy jsou tři alely: I^A , I^B a i . I^A a I^B jsou *dominantní* a navzájem *kodominantní*, i je vůči oběma *recesivní*. Protože každá osoba nese dvě alely (jednu alelu zděděnou od otce, druhou od matky), je možných celkem 6 genotypů¹.

<i>Genotyp</i>	ii	$I^A i$ nebo $I^A I^A$	$I^B i$ nebo $I^B I^B$	$I^A I^B$
<i>Fenotyp</i>	0	A	B	AB

Mnohotná alelie je ještě v další úrovni - v rámci skupiny A se rozlišuje 5 podskupin $A_1 - A_5$ (A_1 je nejčastější a dominantní nad ostatními podskupinami), u skupiny B dvě podskupiny.

Fenotypový projev jednotlivých krevních skupin je dán přítomností aglutinogenů a aglutininů v krvi jedince. V membránách červených krvinek jsou přítomny *antigeny*, tzv. *aglutinogeny*, pro krevní skupiny AB0 systému jsou určující A a B, respektive H. Pokud je přítomen aglutinogen A, hovoříme o erythrocytech skupiny A, při přítomnosti aglutinogenu B o erythrocytech skupiny B, při přítomnosti obou aglutinogenů o erythrocytech skupiny AB, a při nepřítomnosti aglutinogenů A a B, respektive přítomnosti tzv. aglutinogenu H, o erythrocytech skupiny 0. V krevní plazmě jsou přítomny *protilátky* bílkovinné povahy, *aglutininy* (anti-A a anti-B). Následující tabulka ukazuje typ krevní skupiny, typ erythrocytů a zastoupení aglutinogenů a odpovídajících aglutininů:

<i>Krevní skupina</i>	<i>Erythrocyty skupiny</i>	<i>Aglutinogen (na krvinkách)</i>	<i>Aglutinin (v krevní plazmě)</i>	<i>% zastoupení v naší populaci</i>
A	A	A	anti-B	42
B	B	B	anti-A	12
AB	AB	A i B	-	8
0	0	H	anti-A, anti-B	38

¹ Stanovení počtu genotypů u mnohotné alelie podle vzorce: $n \cdot (n+1) / 2$, kde n = počet alel

Při setkání se odpovídajících se aglutinogenů a aglutininů dochází k aglutinační (srážecí) reakci, tj. sejde-li se aglutinogen A s aglutininem anti-A nebo aglutinogen B s aglutininem anti-B. Při transfúzi krve lze použít jen krev stejné skupiny. Dříve zvažovaná možnost o využití jedince s krevní skupinou 0 jako univerzálního dárce a s krevní skupinou AB jako univerzálního příjemce se dnes nepoužívá, teorie je neplatná. Příčinou je zejména přítomnost vysoké hladiny aglutininů antiA a antiB v krvi skupiny 0, stejně jako přítomnost další potenciálních aglutinogenů. Před každou transfúzí se provádí i tzv. křížová zkouška, ověření zda sérum příjemce neshlukuje krvinky dárce a naopak.

Aglutinační reakce se v praxi využívá k rychlému určení krevních skupin. Jednoduchých zákonitostí dědičnosti krevních skupin se využívá i v paternitních a maternitních sporech a při identifikaci monozygotických a dizygotických dvojčat.

Možnosti vyloučení otcovství se dále prohlubují stanovením krevních skupin ostatních systémů a dalších somatických znaků. Příslušnost k určité krevní skupině lze zjistit i ze zaschlých krevních skvrn, z jiných tkání a i ze sekretů (spermatu, slin...), proto je její identifikace standardně využívána i v soudním lékařství.

Další krevně skupinové systémy

Proti nim neexistují v lidské krvi antiséra (nebo jen velice zřídka); vytvářejí se imunizací vhodného objektu (králik) příslušným antigenem. Pro transfúzi nemají význam, protože nepřítomnost aglutininů zaručuje kompatibilitu jakýchkoliv dvou krví, ale mají velký význam v genetice a v paternitních sporech.

Krevní faktory M a N - jde o jediný alelický pár bez vzájemné dominance a recesivity → kodominance, umístěný na 4. chromozómu - genotypy MM, MN nebo NN, fenotypy: M, MN a N (M - asi 28 % , MN - asi 50 % , N - 22 %) (s antigeny M a N je spojena dvojice antigenů S a s - systém je někdy označován rovněž jako MNSs krevní systém).

Krevní faktor P - podmíněn jedním alelickým párem - Pp, je jednoduše dominantní (genotypy: PP, Pp a pp, fenotypy: P⁺ a P⁻)

Krevní faktor Q - podobný P

Systém Xg - zajímavý svou lokalizací na X-chromozómu (vazba na pohlaví)

Rh faktor

Druhým nejvýznamnější krevním systémem je tzv. Rh faktor, který je genotypově a fenotypově nezávislý na ostatních známých krevních systémech. Do současnosti bylo rozlišeno více než 30 variant pěti hlavních Rh antigenů, které jsou determinovány genovým komplexem lokalizovaným na krátkém (p) raménku chromozomu 1. Jedná se o tři těsně sdružené lokusy D-C-E (geny vykazují silnou vazbu). Sérologicky lze prokázat antigeny kódované alelami D, C, c, E, e; antigenní produkt alely d nebyl zjištěn, jedná se o recesivní, tzv. ztrátovou, alelu.

Z pohledu evropské populace je nejvýznamnějším Rh genem gen D. Jedinci, nositelé dominantní výbavy v genu D (nejčastěji genotypu CDe/CDe) jsou označováni jako Rh⁺ (Rh pozitivní) a na svých červených krvinkách nesou specifický antigen. Jedinci s homozygotní výbavou dd jsou tzv. Rh⁻ (Rh negativní) a na svých krvinkách specifický antigen postrádají. Tento projev není ovlivněn přítomností dalších dominantních alel C a E; i když nejčastěji jsou Rh⁻ jedinci nositeli recesivního genotypu

(cde/cde). V bělošské populaci je obvyklé zastoupení 85% jedinců Rh⁺ (*Rh-pozitivní*) a 15% Rh⁻.

Krevní skupina jedince se určuje na základě reakce červených krvinek s protilátkou vzniklou imunizací králíka krvinkami opice makaka - *Macacus rhesus* (odtud Rh-faktor). Za přítomnosti Rh pozitivních krvinek dochází k charakteristické aglutinační reakci.

Praktický význam Rh faktoru souvisí s hemolytickou nemocí novorozenců - fetální erythroblastózou. Toto onemocnění může být vyvoláno za situace, že se Rh+ plod (genotyp D-) vyvíjí v těle Rh⁻ matky (genotyp dd). Otcem takového dítěte a dárcem dominantní alely je Rh⁺ muž. Za této situace se mohou jednotlivé krvinky z plodu dostat placentou do krevního oběhu matky (asi 15 % případů), kde vyprovokují zvýšenou tvorbu aglutininu (IgG protilátky) proti Rh-D antigenu. Aglutinin se pak může vracet zpět placentou do plodu a zde vyvolávat aglutinační reakci, srážení krve, a vzniká tzv. *erythroblastosa*. Při prvním těhotenství obvykle není imunizace matky silná a těhotenství je bezproblémové, při dalším těhotenství stejného typu se nebezpečí srážení krve plodu zvyšuje, protože je plod již od počátku vývoje zaplavován anti-Rh⁺ aglutininem z matčiny krve. V extrémních případech může dojít závažnému poškození až smrti plodu před porodem nebo brzy po narození, není-li mu včas vyměněna všechna krev.

V současné době je možná prevence podáváním preparátů snižujících imunitní odezvu matky.

Frekvence krevních skupin se v jednotlivých populacích liší:

Evropa: **A**- 40%, **B**- 10%, **0**- 45%, **AB**- 5%

(klesání četnosti lidí s krevní skupinou B a stoupání s A od Dálného východu na západ Evropy - důsledek tatarsko-mongolských vpádů 500 - 1000 let př.n.l., Romové: větší četnost genu B - nedávná imigrace z Indie)

Asie: vyšší zastoupení **B** skupiny

(stř.Asie 37,4%, stř. Evropa - 15%, Anglie - 8,9%, Baskové na Pyrenejském poloostrově - 2% ; směrem na západ se % zastoupení B skupiny snižuje)

Severní Amerika : Indiáni : **0**- až 100%, **B**- 0 až 1%, **A**- 12 až 83%

Hardy - Weinbergův zákon genetické rovnováhy

Populace - soubor jedinců téhož druhu, kteří žijí na určitém stanovišti a kteří jsou prostorově oddělení od jiných souborů téhož druhu. Z genetického hlediska je populace soubor jedinců spojených příbuzenskými vztahy.

V **panmiktické** populaci (vzájemné křížení členů populace mezi sebou) se udržuje konstantní poměr mezi jedinci jednotlivých genotypů. Tato rovnováha mezi homozygotně dominantními, heterozygotními a homozygotně recesivními jedinci v dostatečně velké populaci se označuje jako **Hardyův-Weinbergův zákon**. Rovnici lze tuto rovnováhu vyjádřit takto:

$$p^2 (AA) + 2pq (Aa) + q^2 (aa) = 1$$

p - frekvence (poměrné zastoupení) dominantní alely, $p = 1 - q$

q - frekvence recesivní alely, $q = 1 - p$

p^2 - podíl jedinců dominantního genotypu (AA), $p^2 = (1 - q)^2$

q^2 - podíl jedinců recesivního genotypu (aa)

2 pq - frekvence heterozygota

Zásady odběru krve do odběrové zkumavky

- žádná speciální příprava není nutná
- při odběru pracujeme v rukavicích a dodržujeme zásady aseptického režimu
- řádně vyplníme žádanku a označíme zkumavku před vlastním odběrem
- odběr provádíme do firemně určeného typu zkumavek s doporučeným protisrážlivým roztokem nebo naopak s aktivátorem krevního srážení (zásadně nepoužívat gelové zkumavky)
- odebíráme 5 ml nesrážlivé žilní krve nebo 2-3ml nesrážlivé žilní krve (jen od dárců krve a plazmy)

Transport odebraného materiálu

- odebraný vzorek krve s řádně vyplněnou žádankou ihned zašleme do laboratoře potrubní poštou, přímou donáškou (pacient, sanitář) nebo nemocničním svozem

Zpracování odebraného materiálu na krevní skupinu

- *Vyšetření pomocí diagnostických sér se specifickou protilátkou anti-A, anti-B a anti-A,B*
Krevní skupina AB0 se stanoví na základě charakteru reakcí vyšetřovaných erytrocytů s rozdílnými antiséry pomocí následujících metod:
 - mikrotitrační destičková metoda - užívá se při stanovení velké série
 - zkumavková metoda – jako součást předtransfuzního vyšetření - je nejčastější
 - sloupcová metoda (gelový systém) – je kontrolní
- *Vyšetření s diagnostickými skupinovými erytrocyty A₁, B, 0*
Krevní skupina AB0 se stanoví na základě charakteru reakcí vyšetřovaného séra s rozdílnými diagnostickými erytrocyty krevních skupin A₁, B, 0 pomocí následujících metod:
 - mikrotitrační destičková metoda - užívá se při stanovení velké série
 - zkumavková metoda – jako součást předtransfuzního vyšetření - je nejčastější
 - sloupcová metoda (gelový systém) – je kontrolní, provádí se pouze v některých laboratořích

Zpracování odebraného materiálu na určení Rh (D)

- Rh faktor lze vyšetřit pomocí monoklonálních diagnostik *anti-D IgM a anti-D mix (IgG/IgM)* mikrotitrační destičkovou nebo zkumavkovou metodou a gelovým systémem na principu sloupcové aglutinace. Pozitivní reakce ukazuje na přítomnost Rh D antigenu na erytrocytech a negativní reakce ukazuje na chybění Rh D antigenu na erytrocytech.

doba trvání testů

- Krevní skupina + Rh(D) 2 hodiny od dodání vzorku do laboratoře jako sériové vyšetření
- 3 hodiny jako součást standardního předtransfuzního vyšetření
- 1 hodina jako součást statimového předtransfuzního vyšetření