

HLAVNÍ KREVNÍ 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 genotypů**¹.

Genotyp	ii	I ^A i nebo I ^A I ^A	I ^B i nebo I ^B I ^B	I ^A I ^B
Fenotyp	0	A	B	AB

Mnohotná alelie je ještě v další úrovni - v rámci skupiny A se rozlišuje 5 podskupin A₁ - A₅ (A₁ 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:

Krevní skupina	Erythrocyty skupiny	Agglutinogen (na krvinkách)	Agglutinin (v krevní plazmě)	% zastoupení v naší populaci
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 (králík) příslušným antigenem. Pro transfúzi nemají význam, protože nepřítomnost aglutininů zaručuje kompatibilitu jakýchkoliv dvou kreví, 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. *erythroblastóza*. 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)

$2pq$ - frekvence heterozygota

Pouze u jedinců recesivního fenotypu známe genotyp, jedince homozygotně dominantní a heterozygotní nelze podle fenotypu odlišit, výpočtem však můžeme stanovit hodnotu jejich zastoupení. Ze zastoupení recesivních homozygotů v populaci lze tedy podle HW zákona vypočítat zastoupení jedinců homozygotně dominantních a heterozygotních.

PROVEDENÍ

Určení krevní skupiny systému AB0 a Rh faktoru

Pomůcky

diagnostická souprava AB0 na určení základních krevních skupin, diagnostikum Pelikloon anti-D (IgM) monoclonal, sterilní jehla na jedno použití (!), vyhřívací deska, desinfekční roztok, náplast, filtrační papír, nádoba na nebezpečný odpad

Pracovní postup určení krevní skupiny AB0 systému

1. Na určená políčka papírku diagnostické soupravy si kápněte po kapce příslušná antiséra (anti-A a anti-B).
2. Povrchově dezinfikujte hmatový polštářek vybraného prstu (nejlépe malíček nebo prsteníček).
3. Pomocí jednorázové sterilní jehly proveďte povrchový vpich do hmatového polštářku.
4. Do políček s jednotlivými antiséry (na papírku diagnostické soupravy) přeneste pomocí tyčinek malé kapky krve z prstu a elipsovými pohyby je jemně rozmíchejte v séru (na každé sérum použijte jiný konec tyčinky, aby nedošlo ke smíchání rozdílných antisér)
5. Výsledky odečítejte **do dvou minut** po promíchání. Podle typu srážení určete, o jakou krevní skupinu se jedná. Vysvětlete, proč se v jednotlivých atisérech krev srážela či nesrážela.
6. Ve vaší skupině vyhodnoťte procentuální zastoupení krevních skupin (tabulka!) a výsledek porovnejte s literárními údaji pro naši populaci.

Pracovní postup určení Určení Rh faktoru typu D (provádí jen studenti odborného studia)

7. Na očištěné krycí sklíčko nakápněte kapku specifického antiséra a temperujte ji na teplotu 37°C.
8. Přidejte malou kapku krve, a nechte inkubovat při pokojové teplotě.
9. Do jedné minuty odečtěte aglutinační reakci.

! Veškerý materiál kontaminovaný krví umístěte do nádoby na biologický odpad !

ÚLOHY s problematikou dědičnosti krevních skupin u člověka

1. Doplňte tabulku k vyloučení otcovství:

<i>Krevní skupina dítěte</i>	<i>Možný genotyp dítěte</i>	<i>Krevní skupina matky</i>	<i>Možný genotyp matky</i>	<i>Možná krevní skupina otce</i>	<i>Vyloučen otec s krevní skupinou</i>
0		0			
0		A			
0		B			
A		0			
A		A			
A		B			
A		AB			
B		0			
B		B			
B		A			
B		AB			
AB		A			
AB		B			
AB		AB			

2. Matka má krevní skupinu 0 a otec krevní skupinu B.

Může mít některé z jejich dětí krevní skupinu shodnou s matkou?

3. Matka má krevní skupinu 0 a otec AB.

Může mít některé z jejich dětí krevní skupinu shodnou s jedním z rodičů?

4. Rodiče mají krevní skupiny A a B.

Jaké krevní skupiny mohou mít jejich děti?

5. V porodnici zaměnili dva chlapce. Rodiče jednoho z nich měli krevní skupiny A a 0, rodiče druhého A a AB. Rozbor krve ukázal, že jeden z chlapců má krevní skupinu 0, zatímco druhý má krevní skupinu A.

a) Který z chlapců patří k jednomu a který k druhému rodičovskému páru?

b) V jakých případech by stačilo znát pouze krevní skupinu matky a nebylo by nutné znát krevní skupinu otce?

6. Chlapec má krevní skupinu 0 a jeho sestra AB.

Jaké krevní skupiny mají jejich rodiče?

7. Dědičnost krevních faktorů MN. Doplňte tabulku.

(Tyto aglutinogeny mohou být v krvi současně nebo jednotlivě. Jde o jeden vlohový pár bez vztaku dominance a recesivity.)

<i>Rodiče</i>	<i>Děti možné</i>	<i>Děti vyloučeny</i>
M x M		
M x MN		
M x N		
N x N		
N x MN		
MN x MN		

8. **Dědičnost Rh faktoru.**

(Rozlišujeme 2 typy fenotypů – Rh⁺ a Rh⁻. Znak je dědičně řízen 3 geny (ve velmi silné vazbě) - C,D,E. Je-li v genotypu přítomna alespoň jedna alela D, je fenotyp jednoznačně Rh⁺ bez ohledu na ostatní alely. Rh⁺ je úplně dominantní nad Rh⁻.)

Jaké děti, co se týče Rh-faktoru, se mohou narodit rodičům, kde otec má genotyp

- CcDDEe a žena ccddee ?
- CcDdEe a žena CcddEe ?

9. Podle **Hardyho-Weinbergerova zákona** vypočítejte procentuální zastoupení homozygotně dominantních a heterozygotních jedinců v naší populaci pro albinismus, který se vyskytuje v poměru 1 : 20 000?