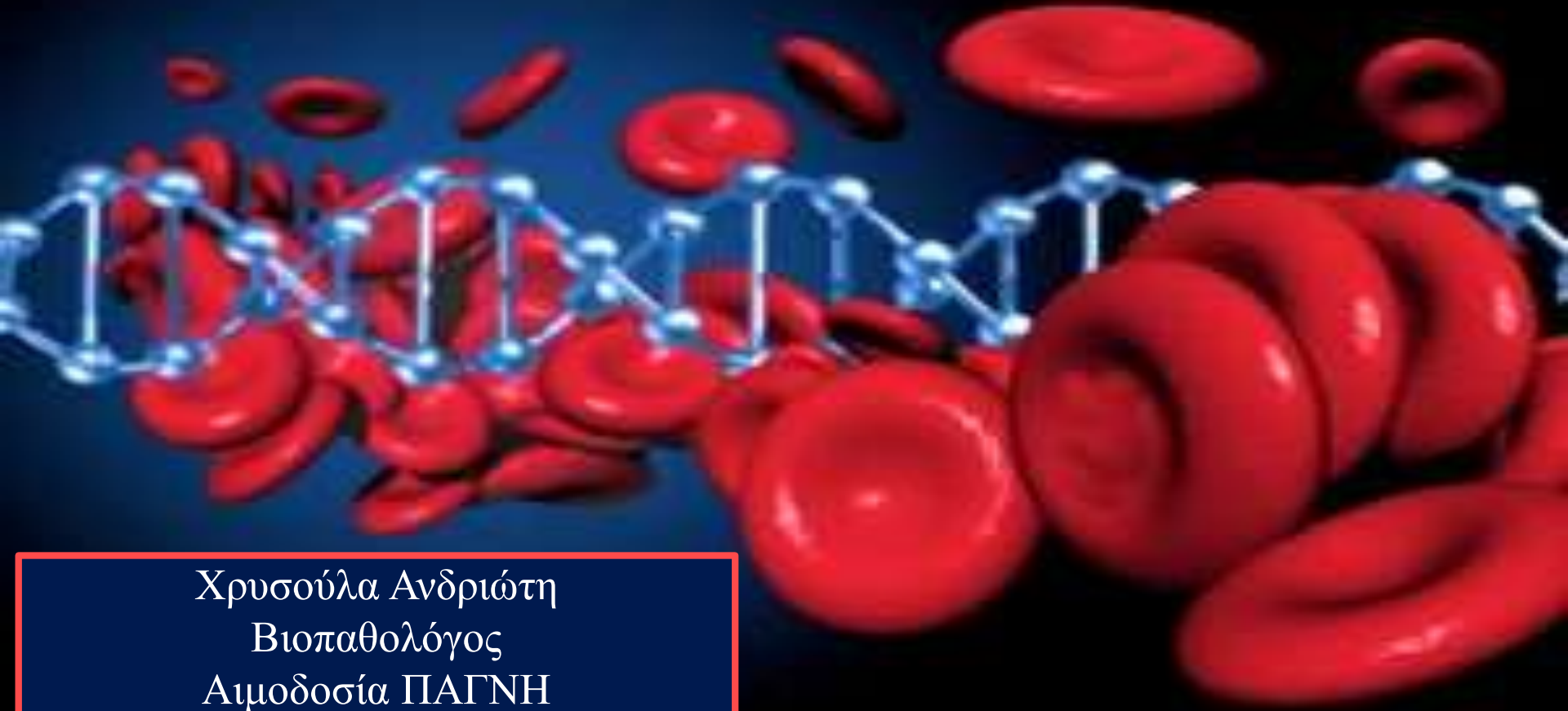


ΥΠΟΟΜΑΔΕΣ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ABO Η ΕΞΑΙΡΕΣΗ ΣΤΟΝ ΚΑΝΟΝΑ ΤΟΥ LANDSTEINER



Χρυσούλα Ανδριώτη
Βιοπαθολόγος
Αιμοδοσία ΠΑΓΝΗ

Υποομάδες ABO

1. 1^η ενότητα

- ⊙ Βιοχημεία και γενετική των αντιγόνων ABH
- ⊙ Τα αντισώματα του συστήματος ABO
- ⊙ Νόμος του Landsteiner
- ⊙ Η τυποποίηση των ομάδων ABO – ευθεία και ανάστροφη ομάδα

2. 2^η ενότητα

- ⊙ Ασυμφωνία ευθείας και ανάστροφης ομάδας
- ⊙ Υποψία παρουσίας υποομάδας ABO
- ⊙ Διερεύνηση παρουσίας υποομάδων ABO με βάση ορολογικές μεθόδους
- ⊙ Συμμετοχή της μοριακής βιολογίας στην επιβεβαίωση του αποτελέσματος των ορολογικών μεθόδων

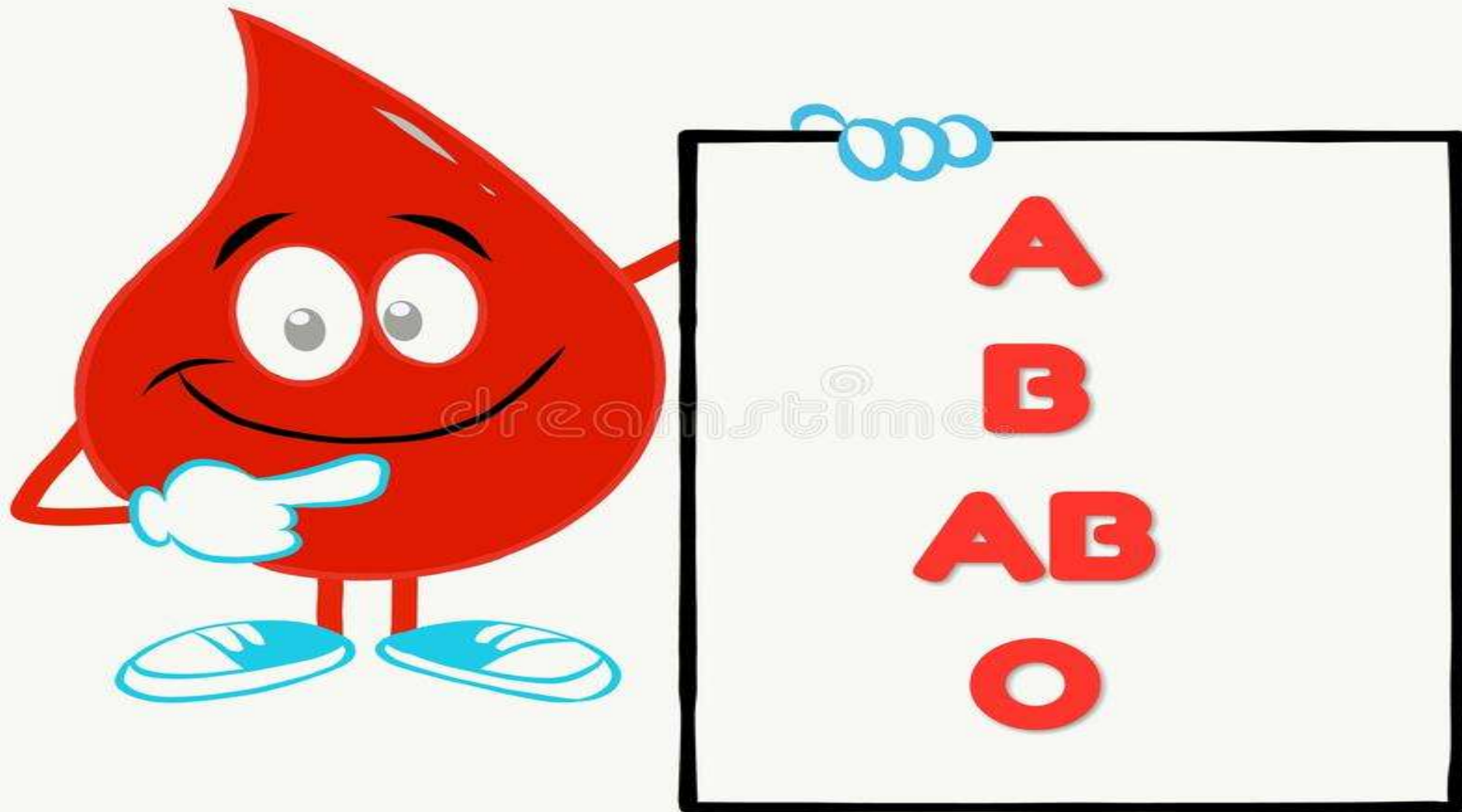


Blood Groups



- Μέχρι σήμερα 36 συστήματα ομάδων αίματος, που περιλαμβάνουν περισσότερα από 350 αντιγόνα , έχουν καταγραφεί από τη Διεθνή Εταιρεία Μεταγγισιοθεραπείας. Από αυτά δύο είναι τα κύρια , το ABO και το Rhesus.
- Για τα περισσότερα από αυτά τα αντιγόνα, έχουν κλωνοποιηθεί τα γονίδια που ελέγχουν την παραγωγή τους και έχει προσδιοριστεί η αλληλουχία των νουκλεοτιδίων τους, χάρη στις εξελίξεις των τεχνικών της μοριακής βιολογίας (1140 αλληλόμορφα γονίδια)
- Η εφαρμογή των αρχών της μοριακής γενετικής στα αντιγόνα των ομάδων αίματος παρέχει τη δυνατότητα επαναστατικών αλλαγών στην ιατρική των μεταγγίσεων αλλά και στην περίθαλψη των ασθενών.
- Το σύστημα ABO είναι το πιο σημαντικό στη μετάγγιση αίματος και στη μεταμόσχευση οργάνων.

ABO BLOOD GROUP SYSTEM



..... Μία σύντομη ιστορία

- Στις αρχές του 20ου αιώνα, το 1901, ο Karl Landsteiner, ανακάλυψε το σύστημα ομάδος αίματος ABO. Πήρε δείγματα αίματος από τους συναδέλφους του, χώρισε τον ορό από τα κύτταρα, και ανέμειξε τον ορό του καθενός με τα κύτταρα των υπολοίπων. Τότε παρατήρησε ότι τα ερυθρά αιμοσφαίρια ορισμένων ατόμων δημιούργησαν συγκολλήσεις και άλλα όχι. Με αυτή τη μέθοδο κατηγοριοποίησε τα δείγματα σε τρεις ομάδες A,B,O. ανάλογα με το αν φέρουν ή όχι τα αντιγόνα A ή B.
- Τον επόμενο χρόνο οι Sturle και Decastello ανακάλυψαν μία τέταρτη ομάδα την AB. Αυτές οι 4 ομάδες αποτελούν το σύστημα ομάδων ABO. Η ανακάλυψη του πρώτου συστήματος ομάδων αίματος, του ABO χάρισε στον Landsteiner το βραβείο Νόμπελ, το 1930
- Το 1904 ο Landsteiner παρουσίασε το νόμο που περιγράφει τη σχέση αντιγόνων και αντισωμάτων στο σύστημα ABO, γνωστός ως νόμος του Landsteiner
- Το 1911, οι von Dungern και Hirschfeld διαχώρισαν την ομάδα A σε A1 και A2.
- Το 1926 και το 1930 οι Yamakai et all, ανακάλυψαν ότι τα αντιγόνα του συστήματος ABO είναι παρόντα και σε εκκρίσεις γεγονός που επιτρέπει την διάκριση των ατόμων σε εκκριτικούς και μη εκκριτικούς τύπους.
- Το 1924 ο Bernstein περιέγραψε την θεωρία της κληρονομικότητας του συστήματος ABO, η οποία ισχύει μέχρι και σήμερα.
- Το 1990 ο Yamamoto και οι συνεργάτες του αποκωδικοποίησαν το DNA του γονιδίου που ελέγχει την σύνθεση της N-ακετυλο-τρανσφερασης A , ανοίγοντας έτσι τον δρόμο για τις γονιδιακές μελέτες του συστήματος ABO. Μέχρι σήμερα έχουν ανακαλυφθεί περισσότερα από 215 αλληλίες του γονιδίου του συστήματος ABO

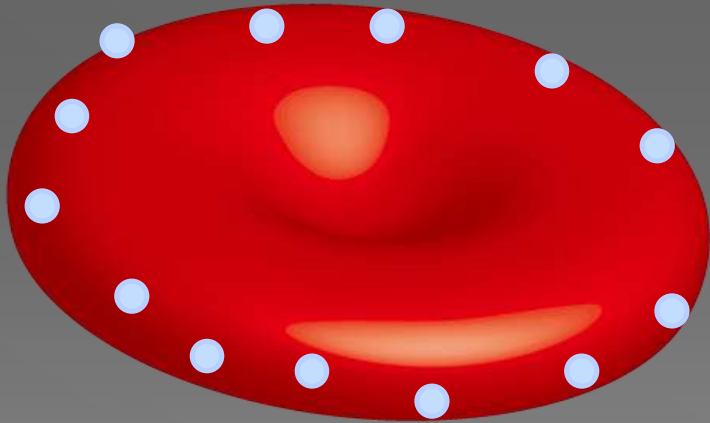
Το πείραμα του Landsteiner

	Plasma der Versuchsperson	Rote Blutzellen der Versuchsperson					
		1 Dr. Störck	2 Dr. Pletschnik	3 Dr. Sturli	4 Dr. Erdheim	5 Zaritsch	6 Dr. Landsteiner
 Plasma der Versuchsperson	1 Dr. Störck						
	2 Dr. Pletschnik						
	3 Dr. Sturli						
	4 Dr. Erdheim						
	5 Zaritsch						
	6 Dr. Landsteiner						

NΟΜΟΣ ΤΟΥ LANDSTEINER

- Το 1900 ο Landsteiner περιέγραψε ένα νόμο που περιγράφει τη σχέση των αντιγόνων του συστήματος ABO με τα αντίστοιχα αντισώματα που υπάρχουν στο πλάσμα
- Α. Σκέλος

Ομάδα Α



Τα αντιγόνα είναι παρόντα στην επιφάνεια των ερυθρών αιμοσφαιρίων

Αντι-Α



Τα αντίστοιχα αντισώματα είναι απόντα

NΟΜΟΣ ΤΟΥ LANDSTEINER

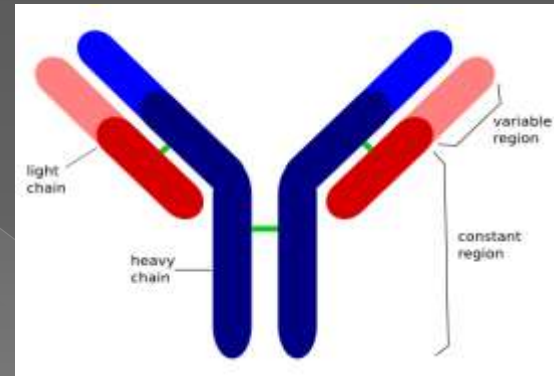
◉ Β σκέλος

Ομάδα Α



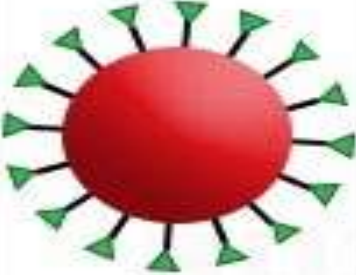
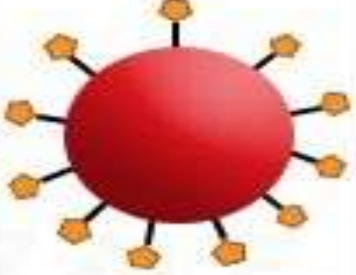
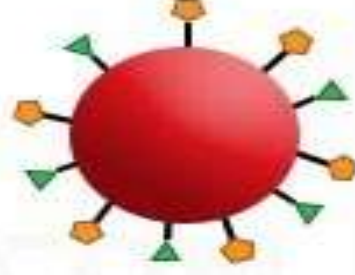
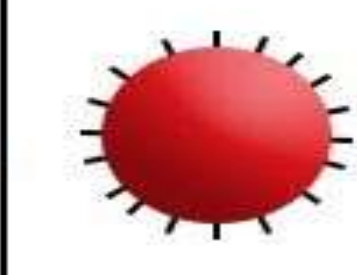
Τα αντίστοιχα αντιγόνα είναι
απόντα από την επιφάνεια
των ερυθρών αιμοσφαιρίων

Αντι-Β



Όταν τα αντισώματα είναι παρόντα
στον ορό

- ➡ Ο νόμος του Landsteiner έχει εφαρμογή μόνο στο σύστημα ABO
- ➡ Δεν υπάρχουν φυσικά αντισώματα κατά των αντιγόνων των υπολοίπων ομάδων αίματος

	Group A	Group B	Group AB	Group O
Red blood cell type				
Antibodies in Plasma	 Anti-B	 Anti-A	None	 Anti-B and Anti-A
Antigens in Red Blood Cell	 A antigen	 B antigen	 A and B antigens	None

Γιατί το σύστημα ABO είναι τόσο σημαντικό ;

Το ABO είναι το πιο σημαντικό σύστημα ομάδας αίματος στην ιατρική των μεταγγίσεων



Είναι το μόνο σύστημα με αναμενόμενα, φυσικά, αντισώματα τα οποία είναι κυρίως IgM και λιγότερο IgG και μπορούν να ενεργοποιήσουν εύκολα το συμπλήρωμα



Η μετάγγιση ασύμβατου κατά ABO αίματος σχετίζεται με οξεία ενδαγγειακή αιμόλυση και νεφρική ανεπάρκεια και μπορεί να οδηγήσει στο θάνατο. Αιμολυτική νόσο του νεογνού και του εμβρύου



Οι ασύμβατες κατά ABO μεταμοσχεύσεις μπορούν να οδηγήσουν σε υπεροξεία χυμική απόρριψη

Η τυποποίηση και η συμβατότητα μεταξύ των κυττάρων του δότη και του ορού του δέκτη, κατά ABO, είναι οι βασικές δοκιμές του προ-μεταγγισιακού ελέγχου.

Αντιγόνα και αντισώματα του συστήματος ΑΒΟ

Δύο αντιγόνα

A



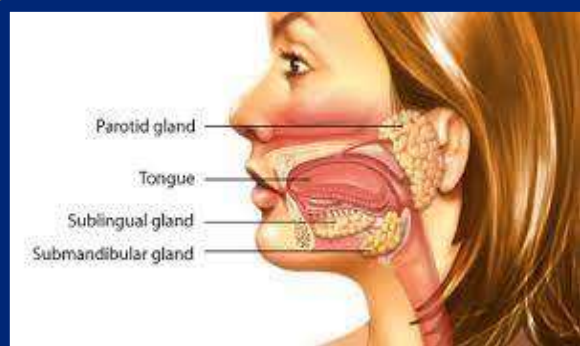
B



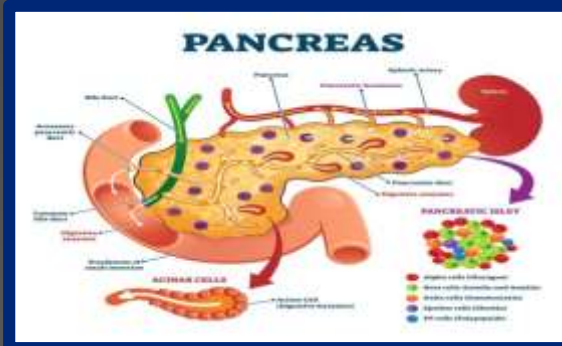
4 φαινότυποι



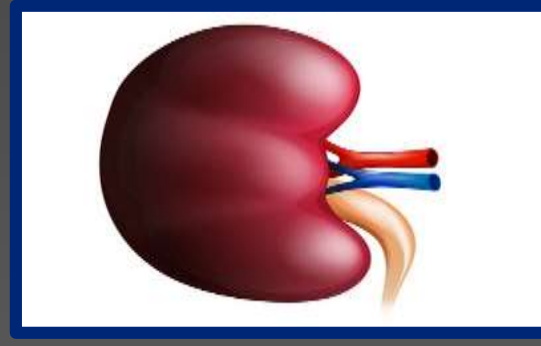
Τα Α και Β αντιγόνα επίσης είναι παρόντα :



Σιελογόνοι αδένες



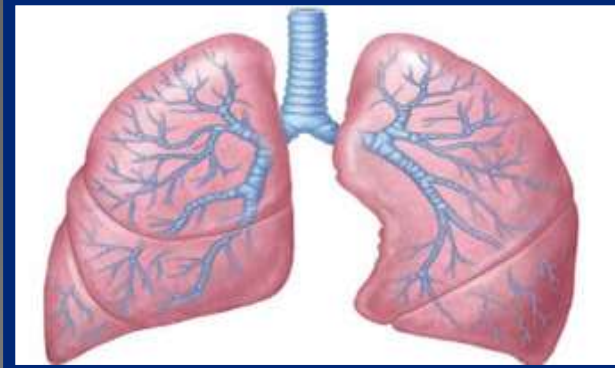
Πάγκρεας



Νεφρός



Ήπαρ



Πνεύμονες



Καρδιά

Τα αντιγόνα Α και Β αποτελούν εμπόδιο για την μεταμόσχευση ασύμβατων κατά ABO οργάνων

Επίσης τα αντιγόνα Α και Β είναι παρόντα στα σωματικά υγρά :

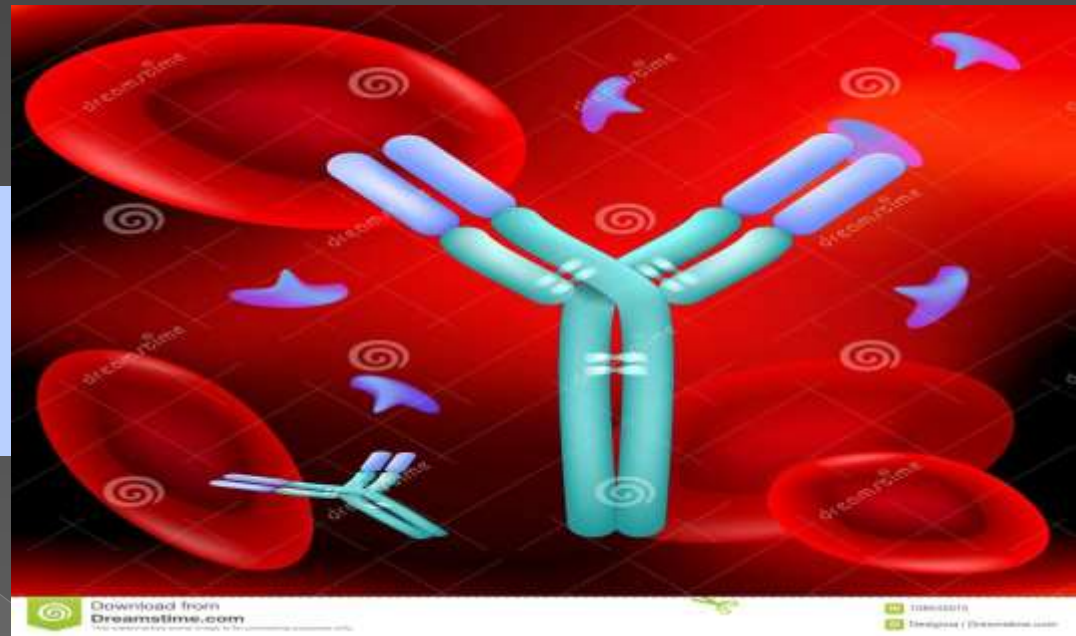
Σίελο

Σπέρμα

Αμνιακό υγρό

Τα αντιγόνα στα ερυθρά αιμοσφαίρια είναι συνδεδεμένα με την εξωτερική λιπιδική στοιβάδα της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης σχηματίζοντας γλυκολιπίδια, ενώ στα σωματικά υγρά υπάρχουν υπό την μορφή διαλυτών γλυκοπρωτεϊνών

Αντισώματα ABO



Αυτό που διαφοροποιεί το σύστημα ABO από τα υπόλοιπα συστήματα, όπως το Rhesus, είναι η παρουσία των φυσικώς αναμενόμενων αντισωμάτων αντι-A και αντι-B τα οποία είναι παρόντα στον ορό όταν το αντίστοιχο αντιγόνο απουσιάζει από τα ερυθρά αιμοσφαίρια

Ισοαιμοσυγκολλητίνες



IgM

IgG

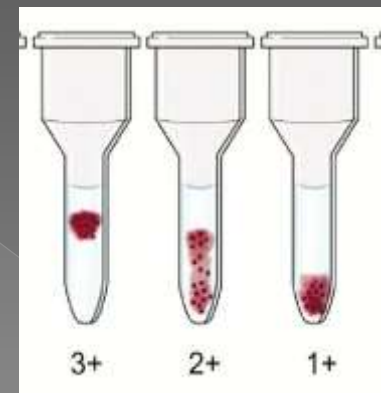
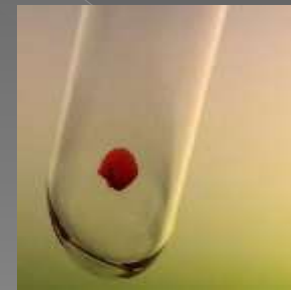
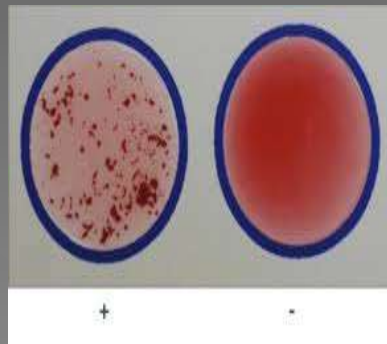
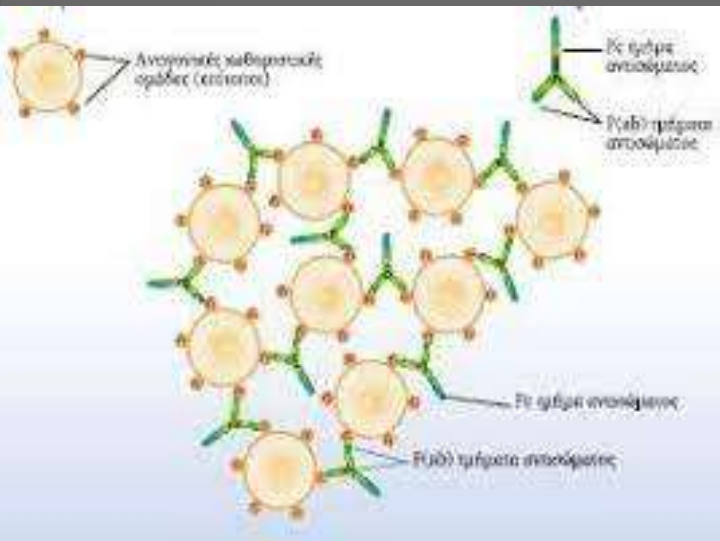
Αιμοσυγκόλληση

Όταν τα αντισώματα έρθουν σε επαφή με τα αντίστοιχα ερυθροκυτταρικά αντιγόνα, αντιδρούν με αυτά και προκαλούν συγκόλληση των ερυθρών αιμοσφαιρίων



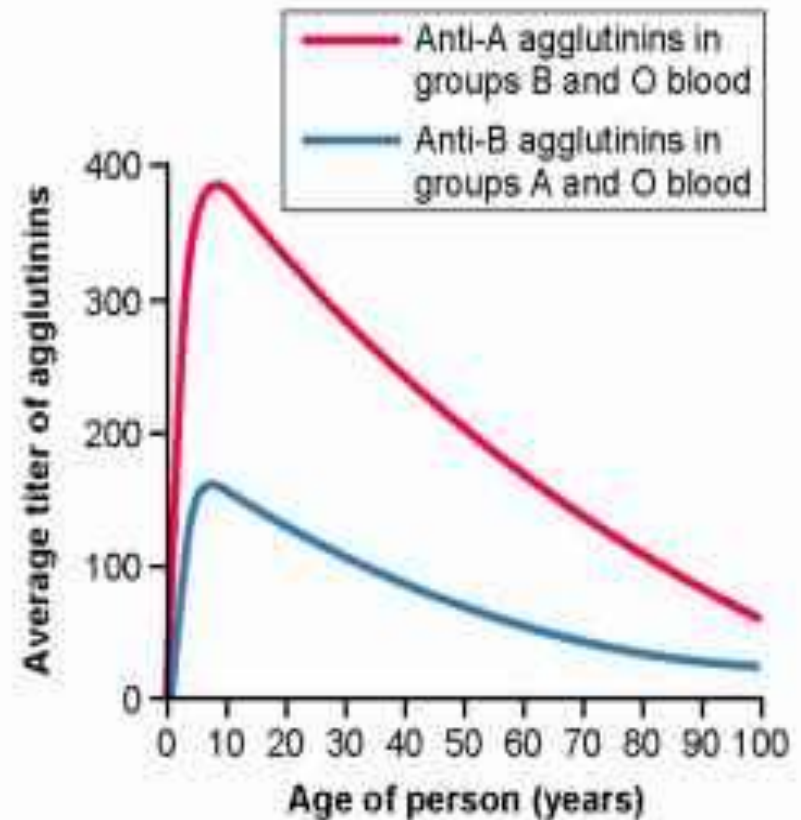
VectorStock®

VectorStock.com/26453643

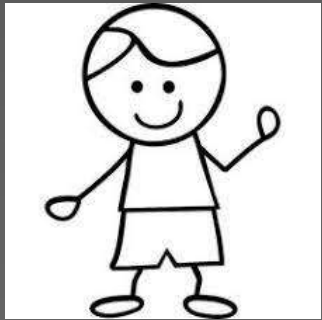


Η κινητική των αντισωμάτων ABO

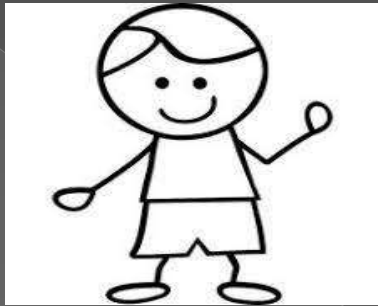
- Τα αντισώματα παράγονται ως αποτέλεσμα διέγερσης από το περιβάλλον, όπως έκθεση σε βακτήρια ή τρόφιμα που εκφράζουν δομές παρόμοιες με τα αντιγόνα A ή B (φυσικά αντισώματα)
- Κατά την γέννηση δεν υπάρχουν αντισώματα στο πλάσμα
- Σε ηλικία 2-8 μηνών ο τίτλος των αντισωμάτων αρχίζει να αυξάνεται
- Ο ανώτερος τίτλος αντισωμάτων εμφανίζεται στην ηλικία των 8-10 ετών
- Μετά την ηλικία των 10 ετών ο τίτλος ελαττώνεται προοδευτικά



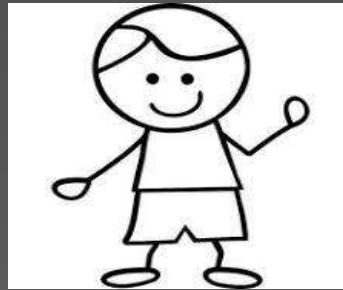
Τα αντισώματα Anti-A και Anti-B



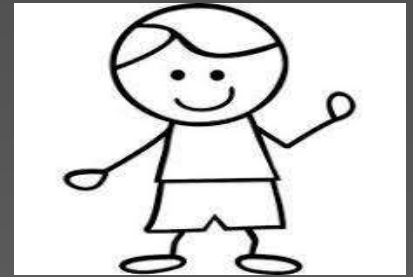
A



B



AB

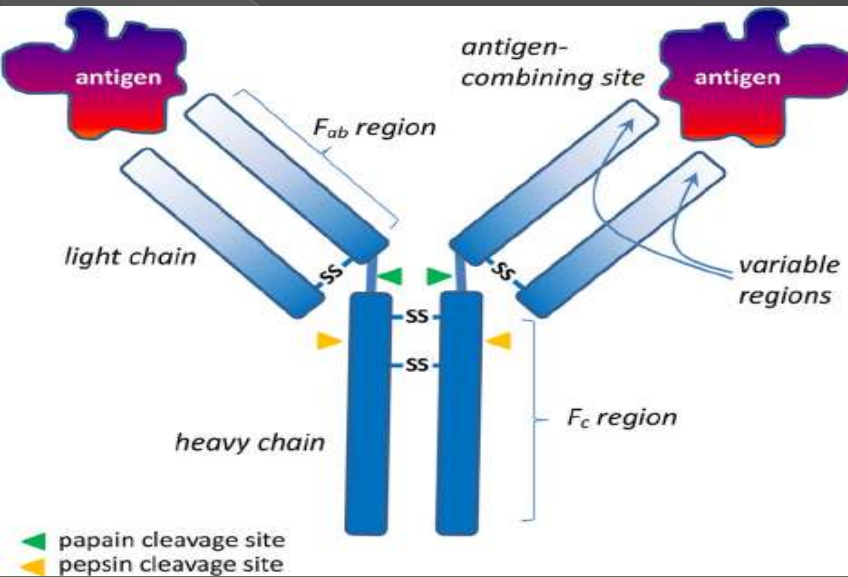


O

Ποιος τύπος ανοσοσφαιρίνης είναι τα αντισώματα Anti-A και Anti-B και πως διαφοροποιούνται ανάλογα με την ομάδα αίματος ;



Anti-A ,B



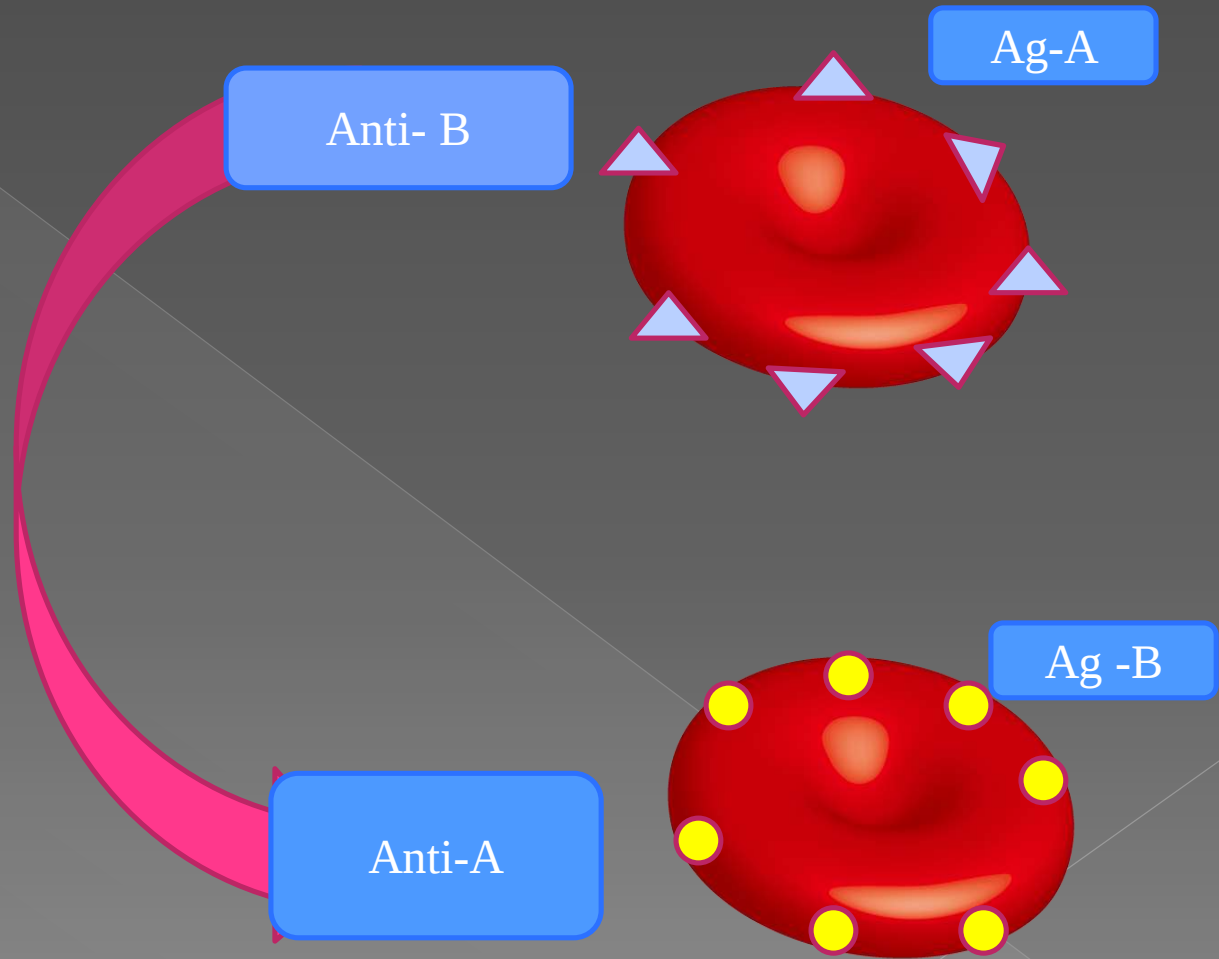
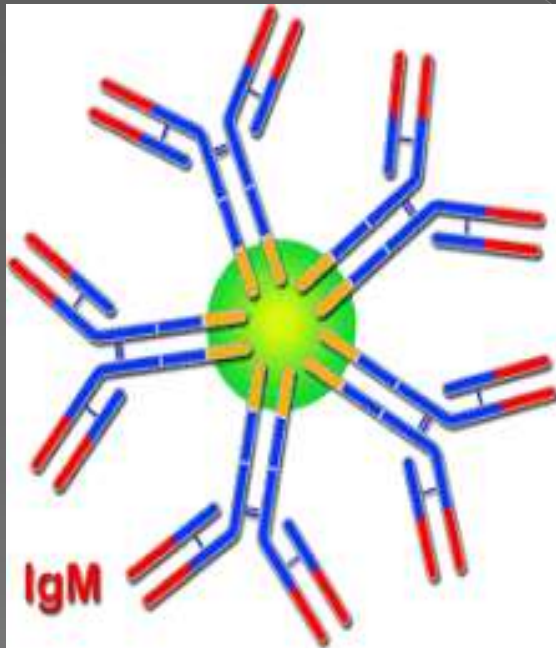
Ανοσοσφαιρίνη IgG



Ομάδα Ο

- Ο ορός ατόμων ομάδος Ο
- Περιέχει ένα αντίσωμα Anti-A,B (και όχι μίγμα αντι-A, αντι-B)
- Είναι τύπου IgG
- Είναι αποτέλεσμα διασταυρούμενης αντίδρασης και αναγνωρίζει ένα κοινό επίτοπο των αντιγόνων Α και Β.
- Δεν μπορεί να διαχωριστεί με προσρόφηση χρησιμοποιώντας κύτταρα Α είτε Β
- ABO HDFN είναι συχνότερη σε παιδιά από μητέρες ομάδος Ο, καθότι η IgG διαπερνά τον πλακούντα.

Anti-A και Anti-B



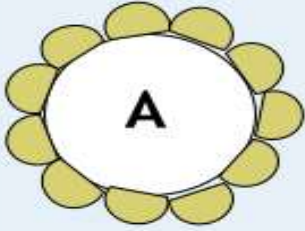
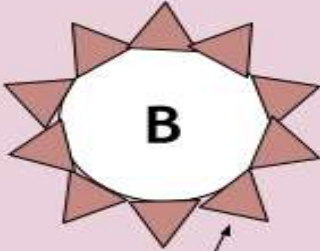
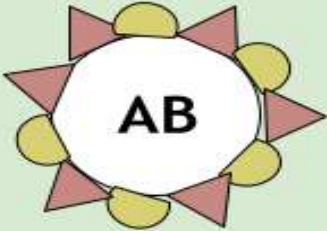
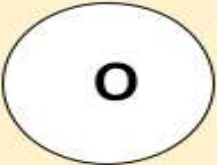
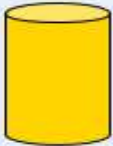
Συνοψίζοντας



- Τόσο τα IgM όσο και τα IgG anti-A και anti-B είναι φυσικά αντισώματα (δηλ. παράγονται χωρίς να προηγηθεί έκθεση στα ερυθροκυτταρικά αντιγόνα)
- Συγκολλούν ερυθρά αιμοσφαίρια σε θερμοκρασία δωματίου (20 έως 24°C)
- Ενεργοποιούν το συμπλήρωμα στους 37°C
- Προκαλούν οξεία αιμολυτική αντίδραση μετάγγισης (μετάγγιση ασύμβατου αίματος)
- Μπορούν να παραχθούν μετά από ευαισθητοποίηση (τύπου IgG) όπως συμβαίνει στην HDN και στην HDNF (είναι συνήθως ήπιες και δεν απαιτούν θεραπεία)

Αντιγόνα και αντισώματα του συστήματος ABO

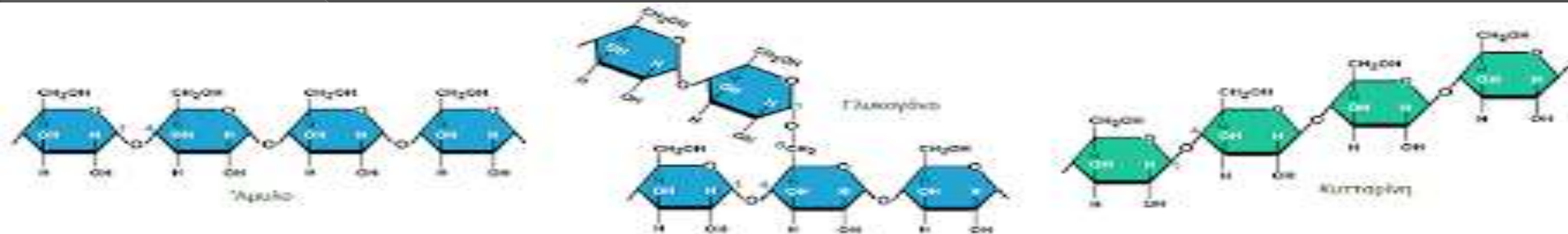
Red blood cell and antibodies

Human Blood Type	A	B	AB	O
Red Blood Cell with antigen	 A antigens	 B antigens	 A antigens B antigens	
Antibody Produced	 Anti-A	 Anti-B	None	 Anti-B Anti-A

Το σύστημα ABO

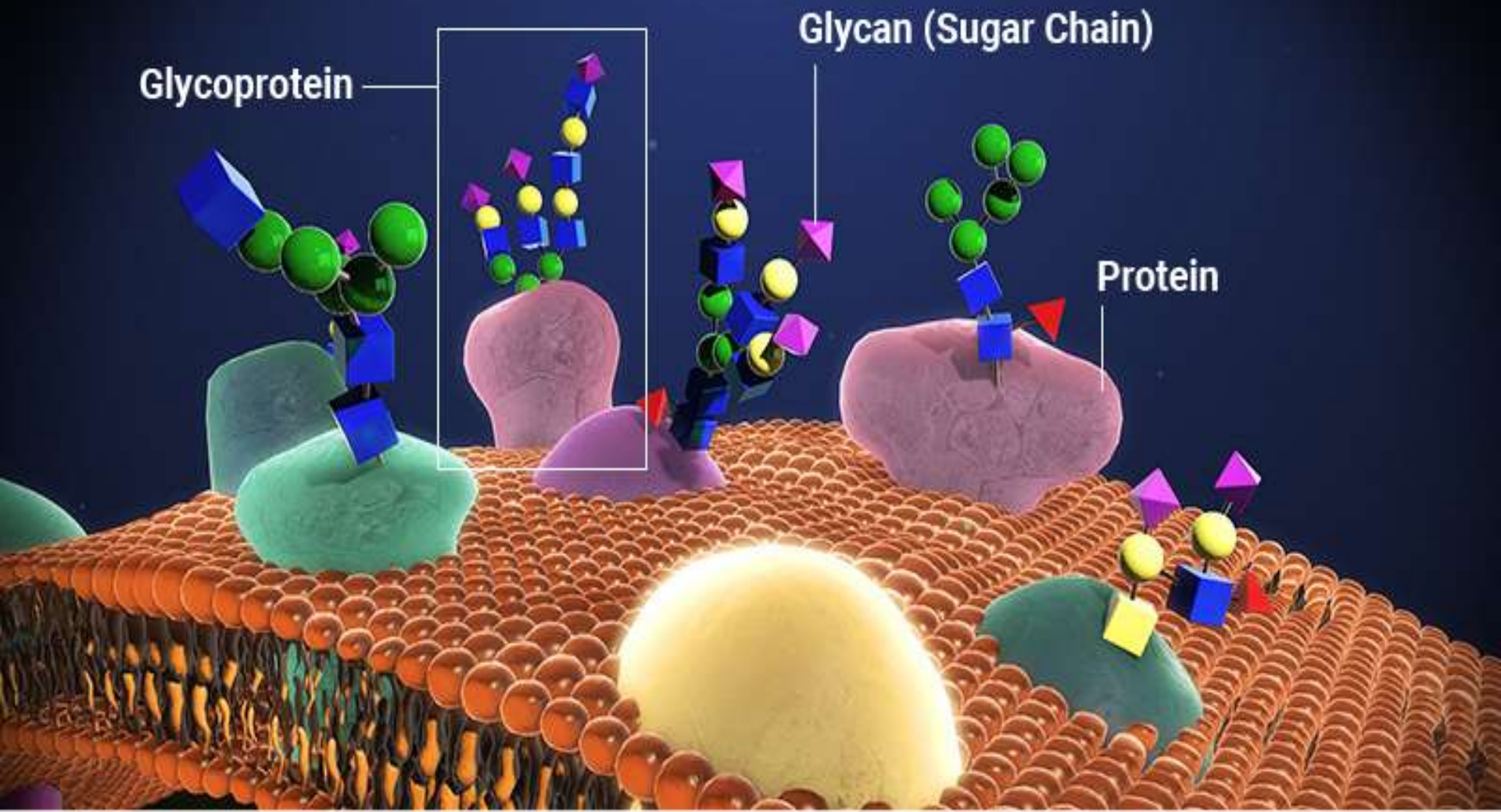
Blood group	Antigen(s) present on the red blood cells	Antibodies present in the serum	Genotype(s)
A	A antigen	Anti-B	AA or AO
B	B antigen	Anti-A	BB or BO
AB	A antigen and B antigen	None	AB
O	None	Anti-A and Anti-B	OO

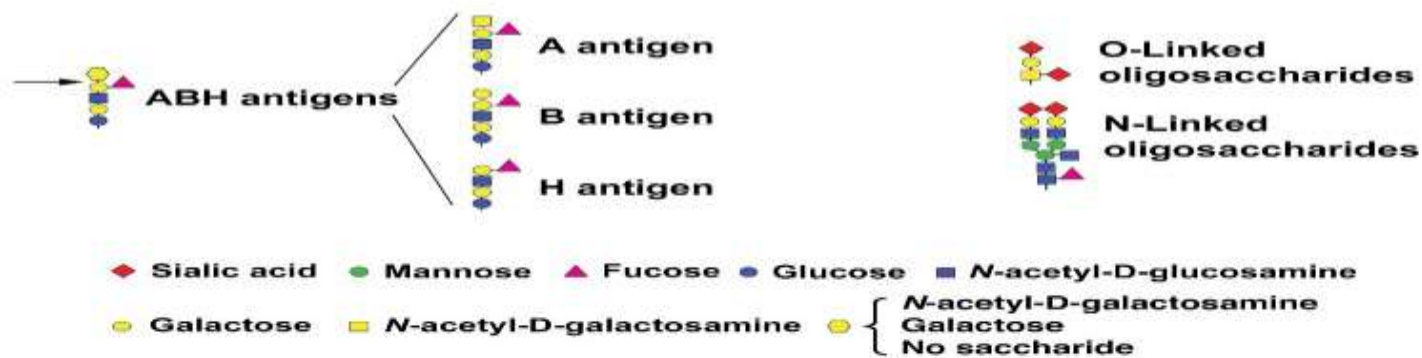
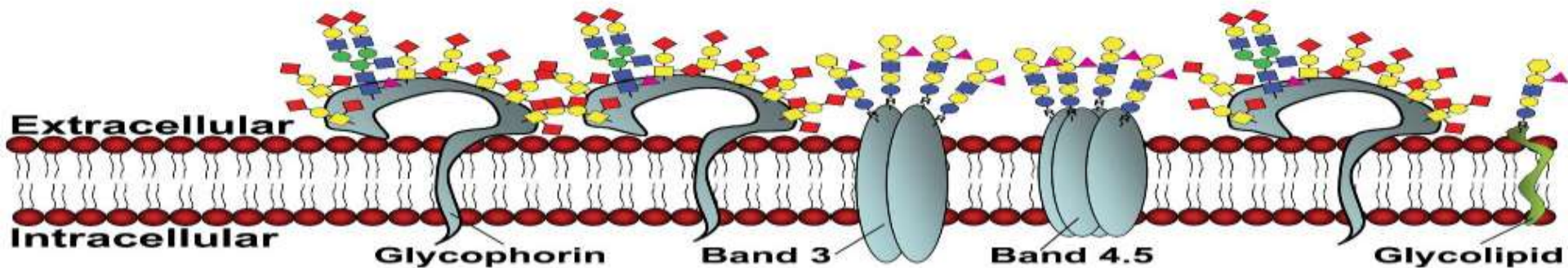
Τα αντιγόνα της ομάδος αίματος ΑΒΟ (H)



- Τα αντιγόνα Α και Β είναι αλυσοί υδατανθράκων (σακχάρων) που βρίσκονται στην εξωτερική επιφάνεια της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης
- Δεν είναι πλήρως ανεπτυγμένα κατά την γέννηση, δηλ. καταλαμβάνουν λίγες θέσεις στην κυτταρική επιφάνεια
- Τα ερυθρά του νεογνού εκφράζουν το 25-50% των αντιγονικών θέσεων των ενηλίκων
- Αρχίζουν να ανιχνεύονται την 5^η περίπου εβδομάδα της κύησης
- Η πλήρης έκφρασή τους ολοκληρώνεται στην ηλικία των 2-4 ετών

Τα αντιγόνα ABO είναι επιφανειακές αλυσίδες ολιγοσακχαριτών (2-10 μονοσακχαρίτες) στο εξωτερικό της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων συνδεδεμένες με πρωτεΐνες (γλυκοπρωτεΐνες) ή και με λιπίδια –σφυγγομυελίνη (γλυκολιπίδια)της κυτταρικής μεμβράνης



A**B**

Οι κύριες γλυκοπρωτεΐνες που σχετίζονται με την πλασματική μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι οι γλυκοφορίνες (A, B και C), οι πρωτεΐνες μεταφοράς ανιόντων (ζώνη 3) και οι πρωτεΐνες μεταφοράς γλυκόζης (ζώνη 4.5)

Από αυτές, οι πρωτεΐνες μεταφοράς, ζώνη 3 και ζώνη 4.5, είναι οι κύριοι φορείς των αντιγόνων ABO (H). – καθορίζουν την αντιγονική ταυτότητα του κυττάρου

Τα αντιγόνα στα ερυθρά αιμοσφαίρια είναι συνδεδεμένα με την εξωτερική λιπιδική στοιβάδα της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης σχηματίζοντας γλυκολιπίδια, ενώ στα σωματικά υγρά υπάρχουν υπό την μορφή διαλυτών γλυκοπρωτεϊνών

Βιοχημεία και γενετική των αντιγόνων του συστήματος ABO (H)

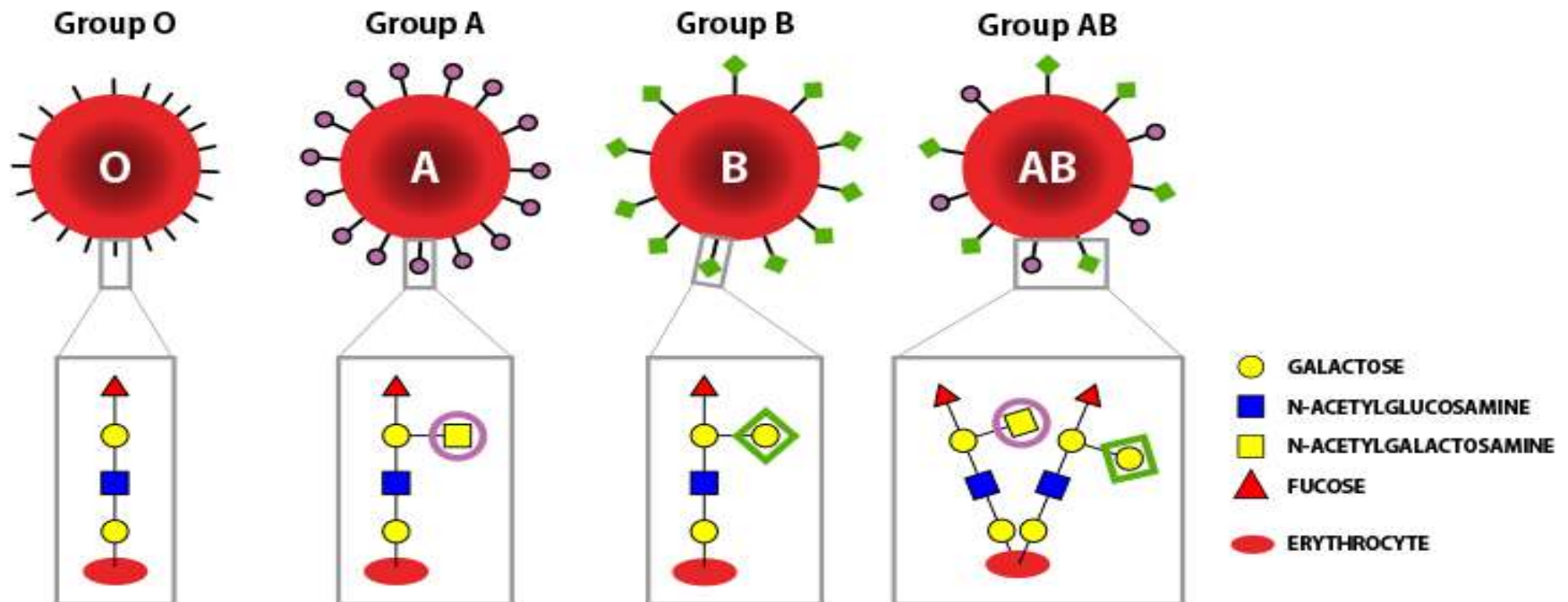
- ◉ Για τον σχηματισμό των αντιγόνων A και B απαραίτητη προϋπόθεση είναι ο σχηματισμός και επομένως η παρουσία του αντιγόνου H στην επιφάνεια των RBCs



- ◉ Το σύστημα ABO χαρακτηρίζεται από την παρουσία 3 αντιγόνων
- ◉ Αντιγόνο A
- ◉ Αντιγόνο B
- ◉ Αντιγόνο H

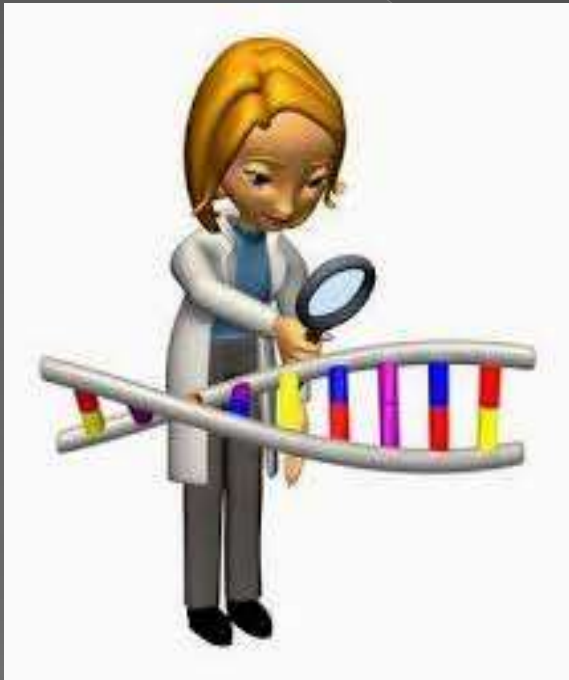
Τα ερυθρά αιμοσφαίρια κατατάσσονται σε 4 τύπους ομάδος αίματος ABO ανάλογα με την παρουσία ή την απουσία των αντιγόνων A και B

Red blood cell types



Τα υδατανθρακικά αντιγόνα ABO βρίσκονται σε αλυσίδες ολιγοσακχαριτών που συναρμολογούνται με την σταδιακή προσθήκη μονοσακχαριτών

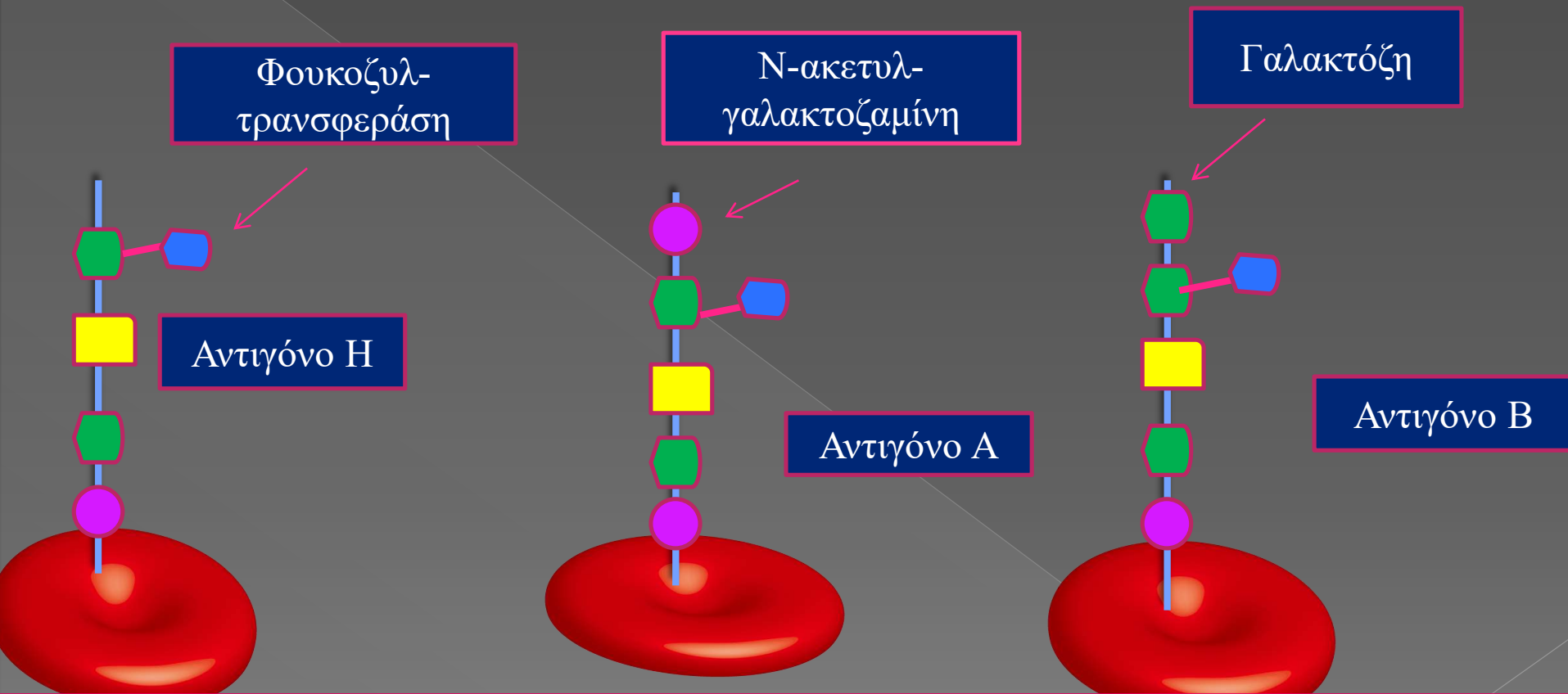
Τα αντιγόνα Α, Β και Η είναι oligo σακχαρίδια (μικρή αλληλουχία σακχάρων)



Ένζυμο
(τρανσφεράση)

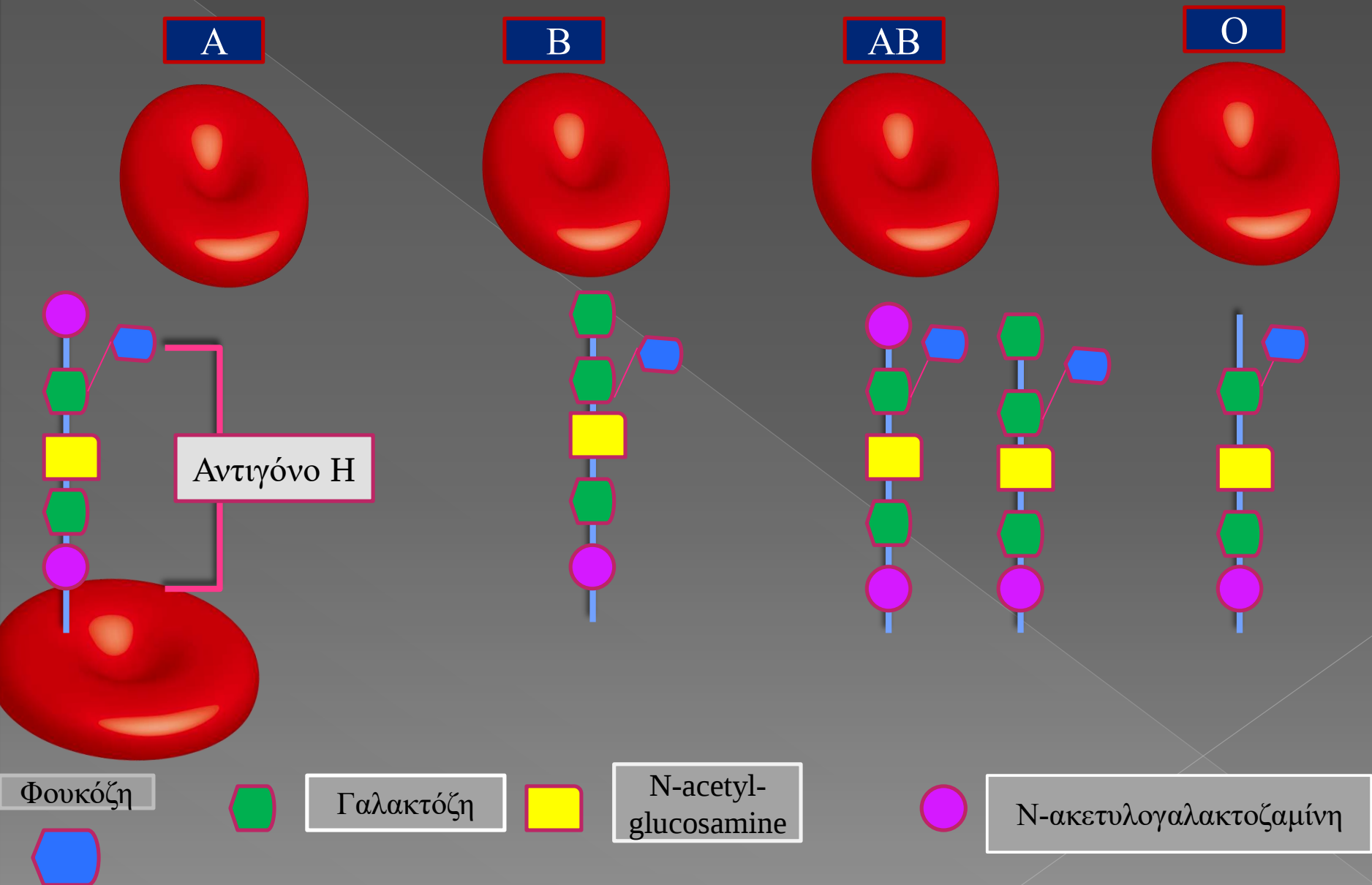
Τα υδατανθρακικά αντιγόνα Α και Β δεν αποτελούν άμεσα προϊόντα κωδικοποίησης γονιδίων. Το γονίδιο κωδικοποιεί την παραγωγή ενζύμων (γλυκοζυλοτρανσφεράσες) που καταλύουν την μεταφορά του κατάλληλου σακχάρου σε μία συγκεκριμένη πρόδρομη αλυσίδα oligosaccharitών.

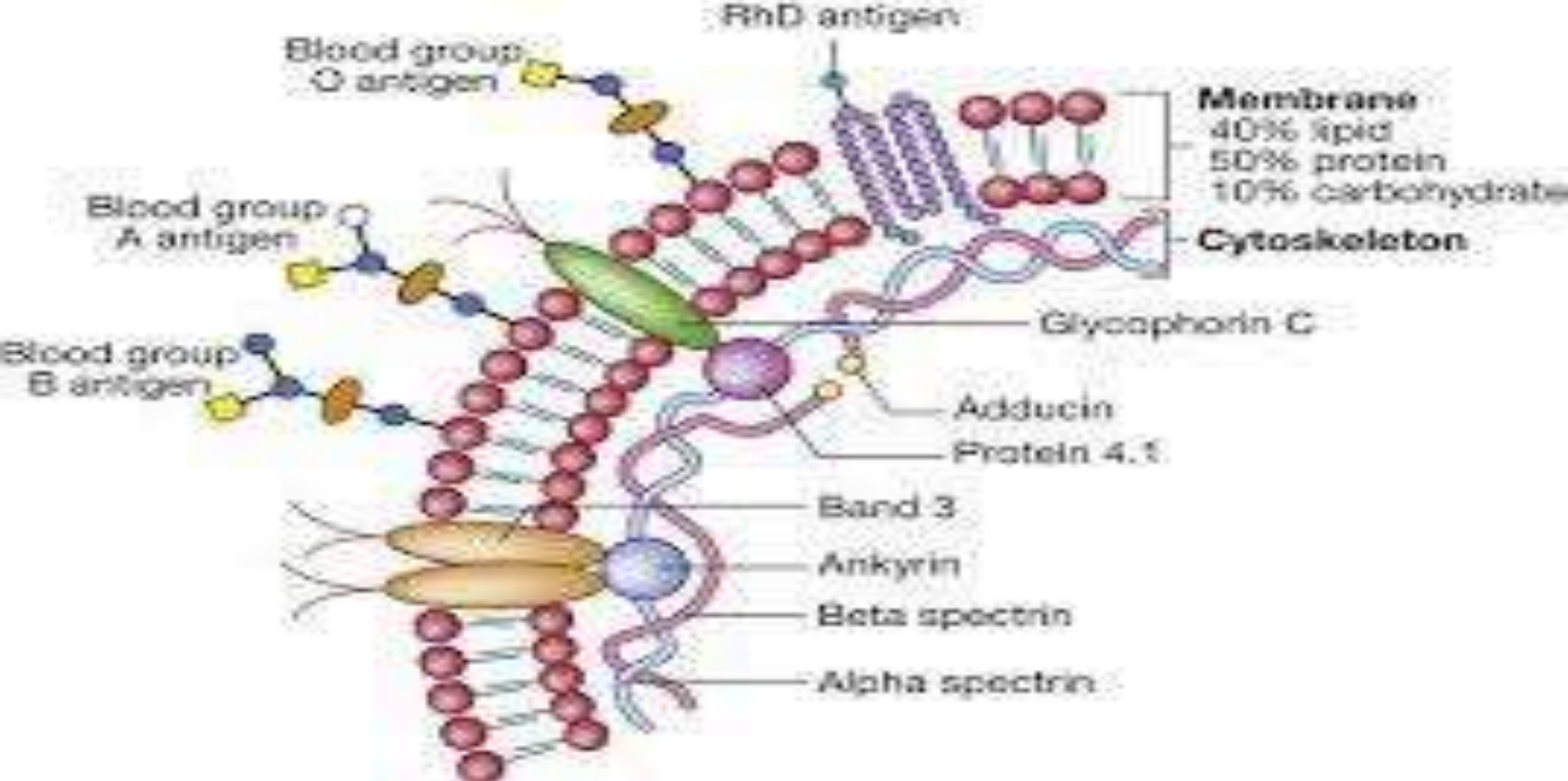
Η βιοχημεία των αντιγόνων A,B,H



Το αντιγόνο H είναι η απαραίτητη πρόδρομη ουσία για τον σχηματισμό του αντιγόνου A ή του αντιγόνου B. Η παρουσία της φουκόζης είναι απαραίτητη προκειμένου οι τρανσφεράσες A και B να μπορούν να χρησιμοποιήσουν την αλυσίδα ολιγοσακχαριτών ως δέκτη. Τα ανοσοεπικρατούντα σάκχαρα βρίσκονται στο τελικό άκρο της αλυσίδας και δίνουν την ειδικότητα στα αντιγόνα ABO

Βιοχημεία και γενετική των αντιγόνων ABH





Αλυσίδα υδατανθράκων

Γλυκοπρωτεΐνη

Γλυκολιπίδιο

Τελικό σάκχαρο

Αντιγόνο A,B,H

Αντιγονικός
επίτοπος

Το αντιγόνο H

- ➡ Το αντιγόνο H είναι μία μικρή αλληλουχία σακχάρων (ολιγοσακχαρίτης) που βρίσκεται σε πολλά κύτταρα του ανθρώπινου σώματος, αλλά κυρίως είναι προσκολλημένη στις μεμβράνες των ερυθρών αιμοσφαιρίων και επίσης βρίσκεται ελεύθερη στο πλάσμα και τις εκκρίσεις.
- ➡ Η σύνθεση του προηγείται της σύνθεσης των αντιγόνων A ,B (των δύο κύριων αντιγόνων της ομάδα αίματος ABO)
- ➡ Όταν συντεθεί κάποιο από αυτά τα αντιγόνα, η αλυσίδα παύει να έχει δραστηριότητα H, μ αποτέλεσμα να υπάρχει μια αμοιβαία σχέση μεταξύ της ποσότητας του H και της ποσότητας του A και/ή του B σε ένα ερυθρό αιμοσφαίριο.
- ➡ Το αντιγόνο H υπάρχει στο 99% των ερυθρών αιμοσφαιρίων σε όλους τους πληθυσμούς.
- ➡ Συχνότητα του αντιγόνου H είναι ανάλογη με την συχνότητα εμφάνισης της ομάδος O από σε αυτή το αντιγόνο H παραμένει ως έχει.

Συχνότητα του φαινοτύπου H έχει ως εξής :

Ομάδα αίματος O: 45% στους Καυκάσιους, 49% στους Μάυρους, 43% στους Ασιάτες και 55% στους Μεξικανούς

Amount of H Antigen according to ABO Blood Group

- Blood Group O people have red blood cells rich in H antigen. **Why?** Neither the A or B genes have converted the H antigens to A or B antigens - just a whole bunch of H!

Greatest Amount of H **O > A₂ > B > A₂B > A₁ > A₁B** **Least** Amount of H

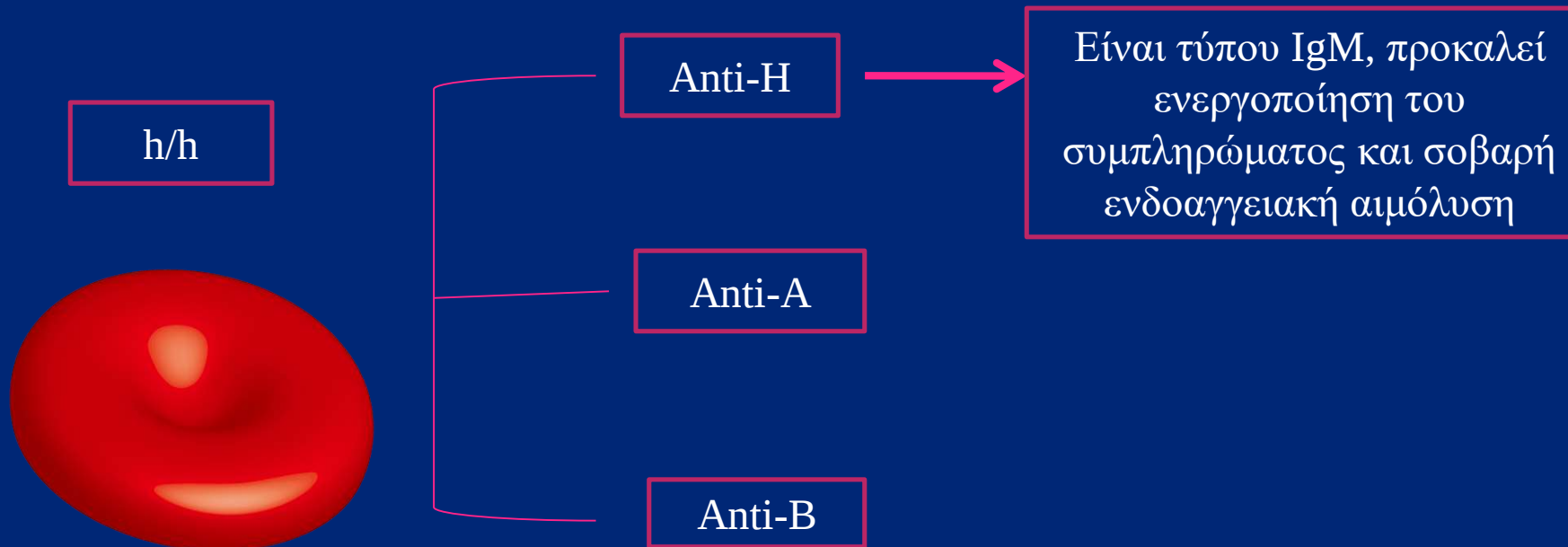
Lectin	O cells	A ₂ cells	A ₂ B cells	B cells	A ₁ cells	A ₁ B cells	Bombay cells
lectin-H	4+	3+	2-3+	2+	weak to negative	weak to negative	negative
Lectin-A ₁	negative	negative	negative	negative	positive	positive	negative

Φαινότυπος Bombay

Η ανεπάρκεια του αντιγόνου H είναι γνωστή ως «φαινότυπος της Βομβάης» (h/h, επίσης γνωστός ως Oh) και εντοπίζεται σε 1 στα 10.000 άτομα στην Ινδία και 1 στο ένα εκατομμύριο άτομα στην Ευρώπη.

Δεν υπάρχει καμία αρνητική επίδραση στο άτομο λόγω της έλλειψης του αντιγόνου H, εκτός από το ότι εάν αυτό το άτομο χρειαστεί μετάγγιση αίματος, θα πρέπει να λάβει αίμα μόνο από άλλους δότες που έχουν επίσης έλλειψη H.

Αν λόγω της έλλειψης του αντιγόνου H, λανθασμένα η ομάδα αίματος τυποποιηθεί ως O και το άτομο αυτό μεταγγιστεί με αίμα ομάδος O θα προκληθεί σοβαρή αιμολυτική αντίδραση μετάγγισης.



Η γενετική των αντιγόνων A,B,H

- Ο σχηματισμός των αντιγόνων A,B,H προκύπτει από την αλληλεπίδραση 3 γόνων που βρίσκονται σε 3 ξεχωριστούς γενετικούς τόπους

- Γόνος ABO
- Γόνος Hh
- Γόνος Se

- Η παρουσία ή απουσία των αντιγόνων A,B,H, ελέγχεται από τους H και ABO γόνους.
- Η παρουσία ή απουσία των αντιγόνων ABH στις εκκρίσεις ελέγχεται από τον γόνο Se και Hh
- Η παρουσία ή απουσία των αντιγόνων H,A,B στα ερυθρά ελέγχεται από τον γόνο Hh

Ο γόνος ABO

➡ Το γονίδιο ABO κλωνοποιήθηκε το 1990 από τον Yamamoto και τους συνεργάτες του μετά από την απομόνωση της τρανσφεράσης A από τον πνευμονικό ιστό . Από τότε έχουν απομονωθεί περισσότερα από 215 αλληλόμορφα του γόνου ABO.

➡ Η πλειοψηφία των ατόμων διαθέτουν 3 αλληλόμορφα γονίδια

Το αλλήλιο A ➡ γλυκοζυλοτρανσφεράση A ➡ αντιγόνων A1, A2

Το αλλήλιο B ➡ γλυκοζυλοτρανσφεράση B ➡ αντιγόνο B

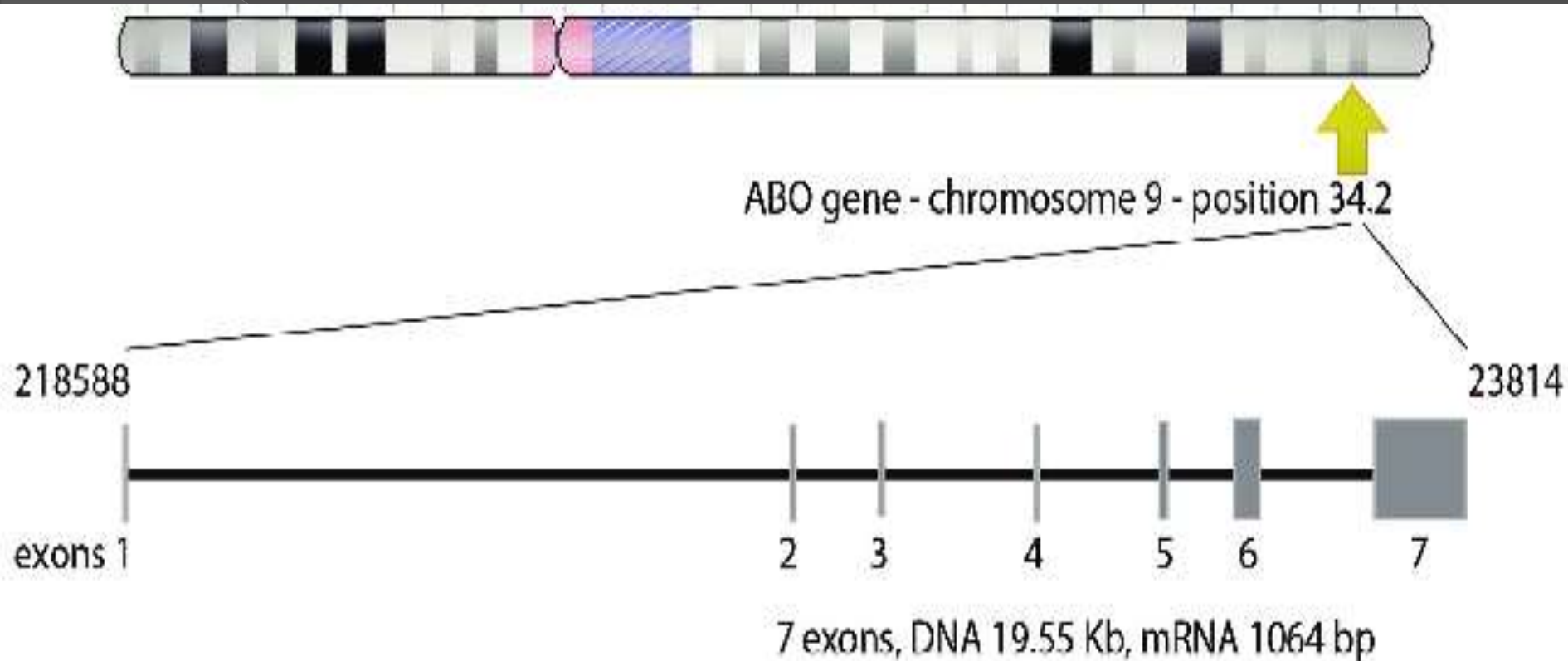
Το αλλήλιο O ➡ κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη χωρίς ενζυμική λειτουργία ή δεν κωδικοποιεί καμία τρανσφεράση (φαινότυπος ομάδος O)

Γονίδιο A # Γονίδιο B
σε γονιδιακό προϊόν) ➡ 7 νουκλεοτίδια (μόνο οι 4 μεταφράζονται

Τρανσφεράση A # Τρανσφεράση B ➡ 4 αμινοξέα

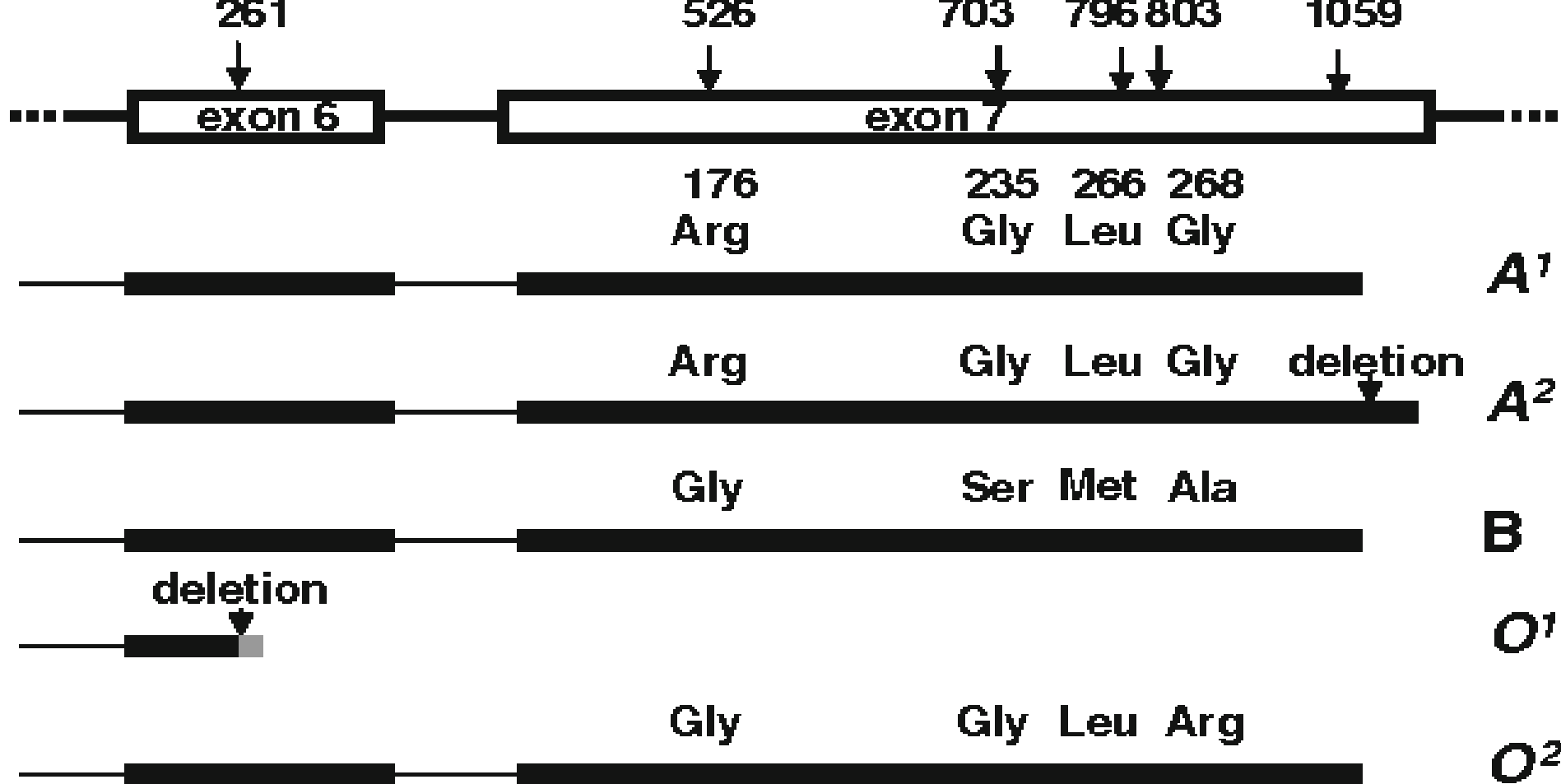
Το γονίδιο O # Γονίδιο A ➡ διαγραφή της γουανίνης στη θέση 261
↓
Πρωτεΐνη ανενεργή

Ο γόνος ABO



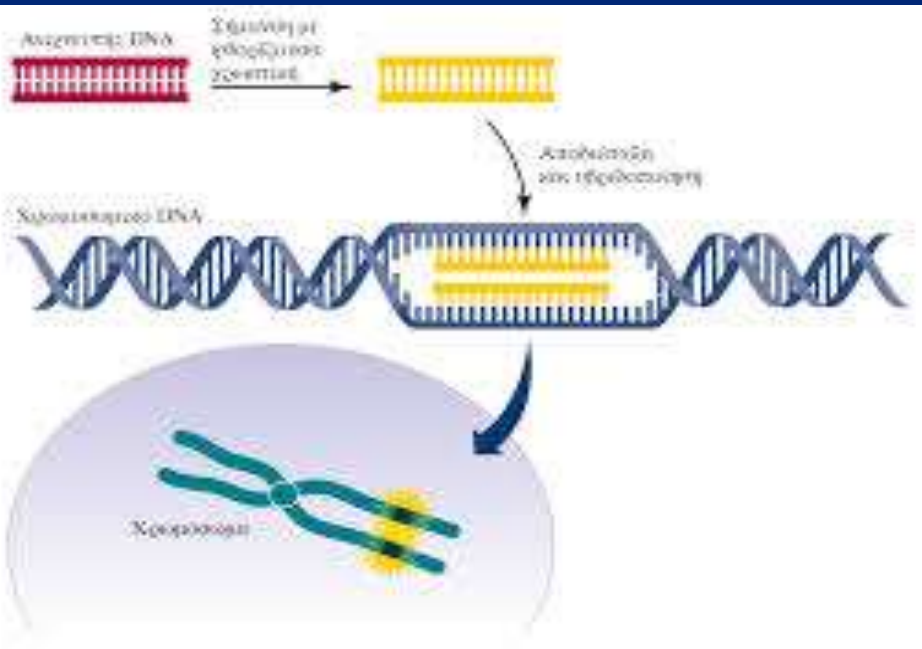
Το γονίδιο ABO βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 9. Περιέχει 7 εξόνια που εκτείνονται σε 19Kb DNA. Το εξόνιο 7 είναι το μεγαλύτερο και περιέχει το μεγαλύτερο μέρος της κωδικοποιητικής αλληλουχίας βάσεων.

Το εξόνιο 6 είναι υπεύθυνο για την απώλεια της ενζυματικής δραστηριότητας της τρανσφοράσης που ευθύνεται για τον φαινότυπο O.



Εξόνια 6 και 7 του γονιδίου ABO, που δείχνουν τη θέση των νουκλεοτιδικών διαγραφών που είναι υπεύθυνες για την κοινή μορφή του O (O¹) (εξόνιο 6) και για το A² (εξόνιο 7), και τις θέσεις των τεσσάρων νουκλεοτιδικών αλλαγών στο Το εξόνιο 7 είναι υπεύθυνο για τα υπολείμματα αμινοξέων που είναι χαρακτηριστικά των τρανσφερασών A και B

Ο γόνος Hh



Χρωμόσωμα 19

2 αλληλόμορφα γονίδια
H και h

H

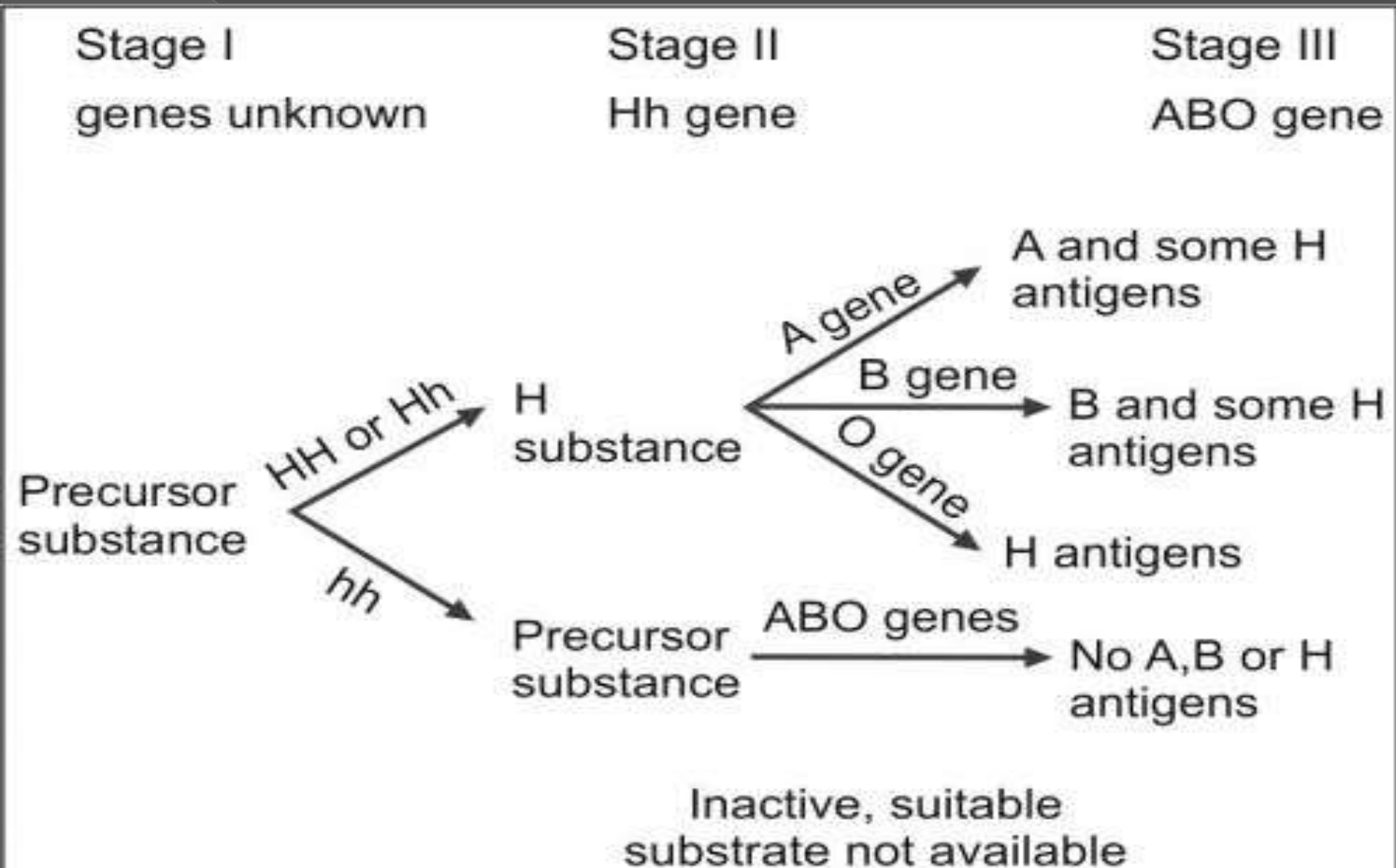
φουκοζυλοτρανσφεράση

Αντιγόνο H

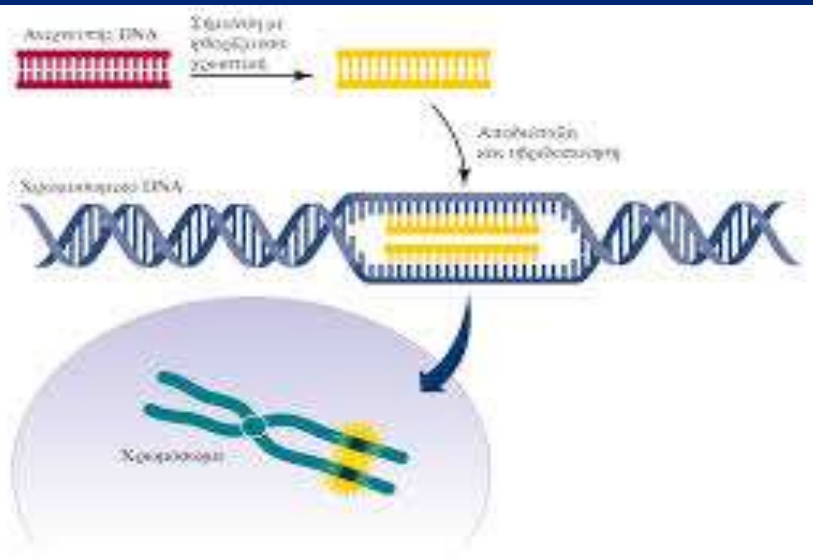
h

Άμορφος γόνος

Αλληλεπίδραση των Hh και ABO γονιδίων



Γόνος Se



Χρωμόσωμα 19

2 αλληλόμορφα γονίδια
Se και se

Se

Φουκοζυλοτρανσφεράση στα
επιθήλιο των εκκριτικών ιστών

Έκφραση του αντιγόνου H στα
σωματικά υγρά

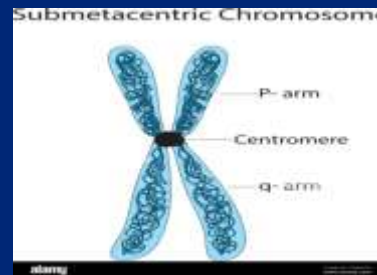
Το 78% των ατόμων φέρουν το γονότυπο Se/se και είναι εκκριτικοί τύποι
και επομένως τα αντιγόνα ABO είναι παρόντα στα σωματικά υγρά

Η κληρονομικότητα της ομάδος αίματος ABO

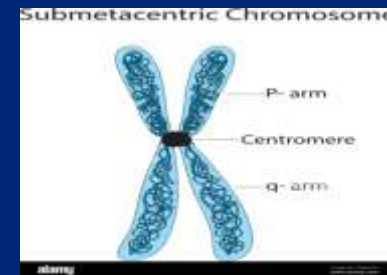
- Η κληρονομικότητα της ομάδος ABO βασίζεται **στη θεωρία των τριών αλληλόμορφων του Bernstein**.
 - Τα αλλήλια A και B κληρονομούνται ως συνεπικρατούντα ενώ το Αλλήλιο O κληρονομείται ως υπολειπόμενο.
 - Κάθε παιδί κληρονομεί από τον κάθε γονέα του ένα αλληλόμορφο
 - 2 χρωμοσώματα
 - 3 αλλήλια
- 6 γονότυποι

- AA , AO, BB, BO, OO, AB

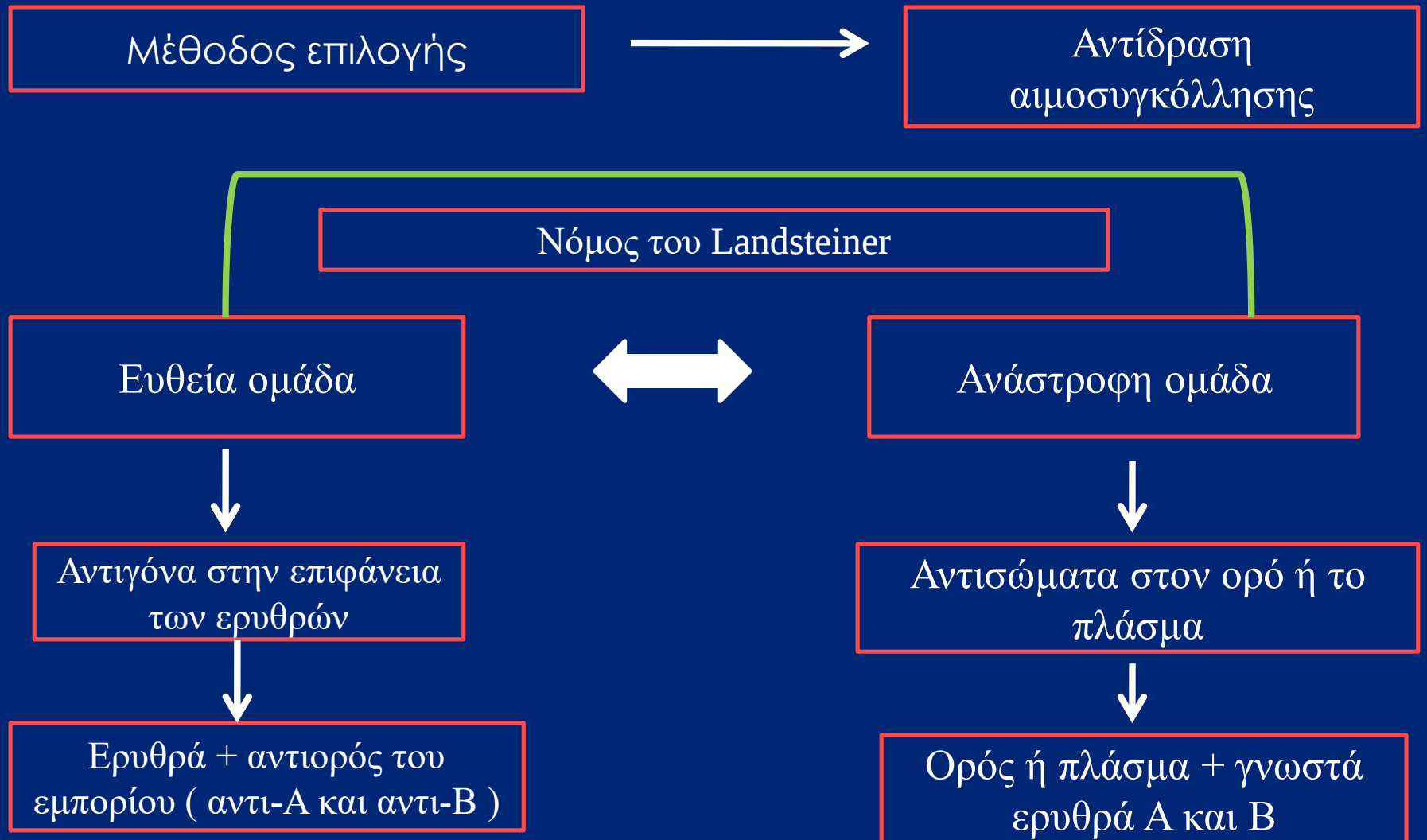
A



O



ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ ΑΙΜΑΤΟΣ ΚΑΤΑ ABO



Εργαστηριακός έλεγχος των ομάδων ΑΒΟ : ευθεία και ανάστροφη ομάδα

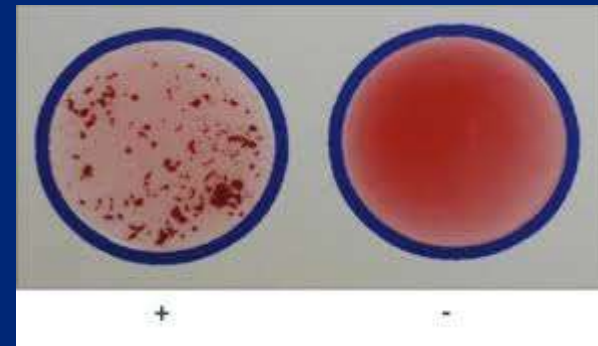
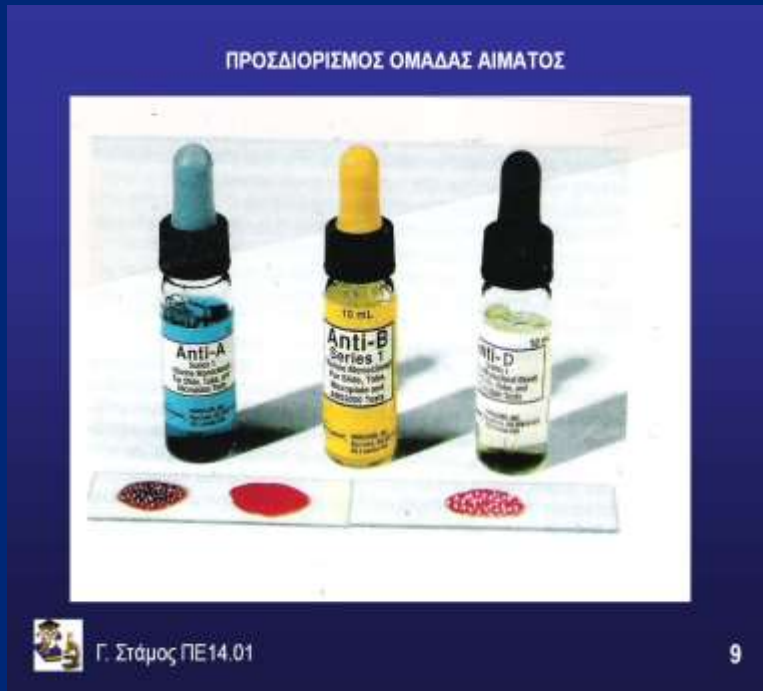
Ευθεία ομάδα : έλεγχος του είδους των ερυθρο κυτταρικών αντιγόνων

Ανάστροφη ομάδα : έλεγχος του είδους των αντισωμάτων στον ορό ή το πλάσμα

Ομάδα αίματος	Anti-A	Anti-B	Είδος αντιγόνου	A1-κύτταρα	B-κύτταρα	Είδος αντισώματος ή αντισωμάτων
O	0	0	0	4+	4+	A και B
A	4+	0	A	0	4+	Anti-B
B	0	4+	B	4+	0	Anti-A
AB	3+ή 4+	3+ ή 4+	A και B	0	0	0

Τυποποίηση Ομάδων Αίματος στο Εργαστήριο (Αντίδραση Αιμοσυγκόλλησης)

Μέθοδος σε πλάκα

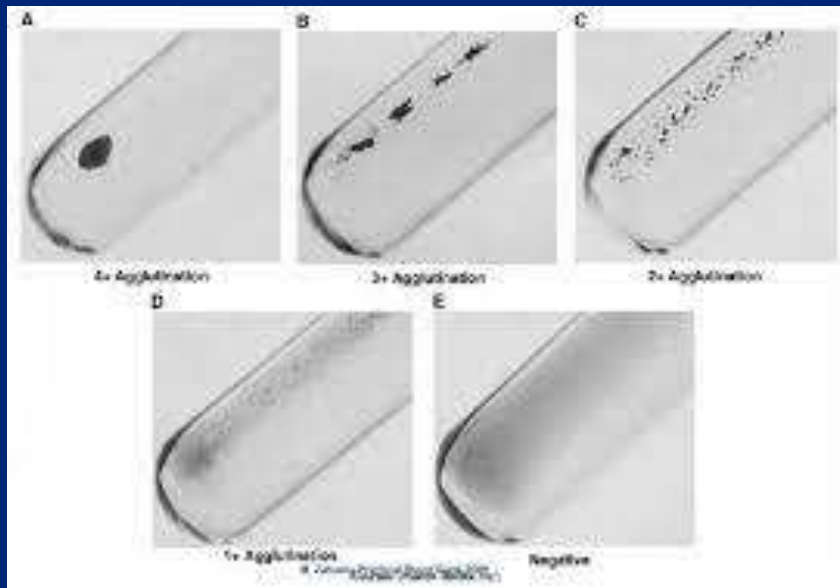


Δεν είναι ευαίσθητη τεχνική
Δεν είναι ευαίσθητη για ασθενή αντιγόνα
(υποομάδες)
Δεν φαίνεται η αιμόλυση

Τυποποίηση Ομάδων Αίματος στο Εργαστήριο

Αντίδραση Αιμοσυγκόλλησης

Μέθοδος σωληναρίου

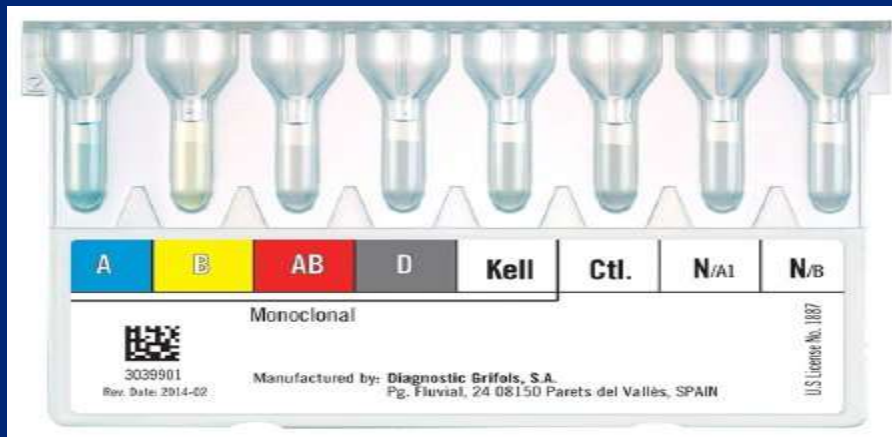
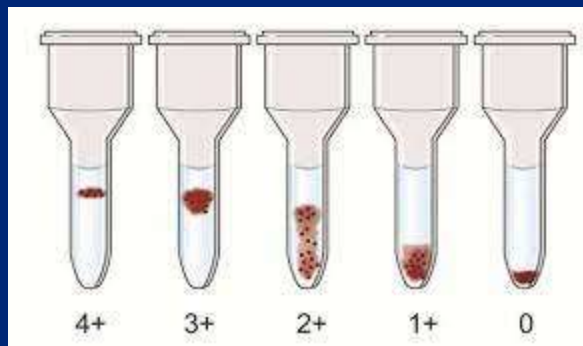


Δυνατότητα βαθμονόμησης της
αντίδρασης (ένταση συγκόλλησης)

Τυποποίηση Ομάδων Αίματος στο Εργαστήριο

Αντίδραση Αιμοσυγκόλλησης

Τεχνική στηλών με γέλη ή
μικροσφαιρίδια





ΥΠΟΟΜΑΔΕΣ ABO και η σημασία τους στην ασφαλή μετάγγιση αίματος

Οι υποομάδες ABO ή οι αδύναμες παραλλαγές του A ή B αντιγόνου είναι φαινότυποι της ομάδας A , B ή AB των οποίων τα ερυθροκύτταρα δίνουν ορολογικά μια ασθενή ή αρνητική αντίδραση όταν ελέγχονται με μονοκλωνικούς αντιορούς αντι-A ή Αντι-B αντίστοιχα, και για τα άτομα που έχουν τον εκκριτικό φαινότυπο υπάρχουν διαλυτά ασθενή αντιγόνα στις εκκρίσεις .

Οι υποομάδες A είναι πιο συχνές από τις υποομάδες B

Χαρακτηρίζονται από μείωση του αριθμού των αντιγονικών θέσεων στην ερυθροκυτταρική μεμβράνη και από μία ανάλογη αύξηση του αντιγόνου H

Η εμφάνιση αυτών των υποομάδων μπορεί να οδηγήσει σε ασυμφωνία ευθείας –ανάστροφης ομάδας κατά την τυποποίηση ABO

Η ασυμφωνία θέτει τις υπηρεσίες μετάγγισης σε δίλημμα για την ακριβή ομάδα του ατόμου που ελέγχεται.

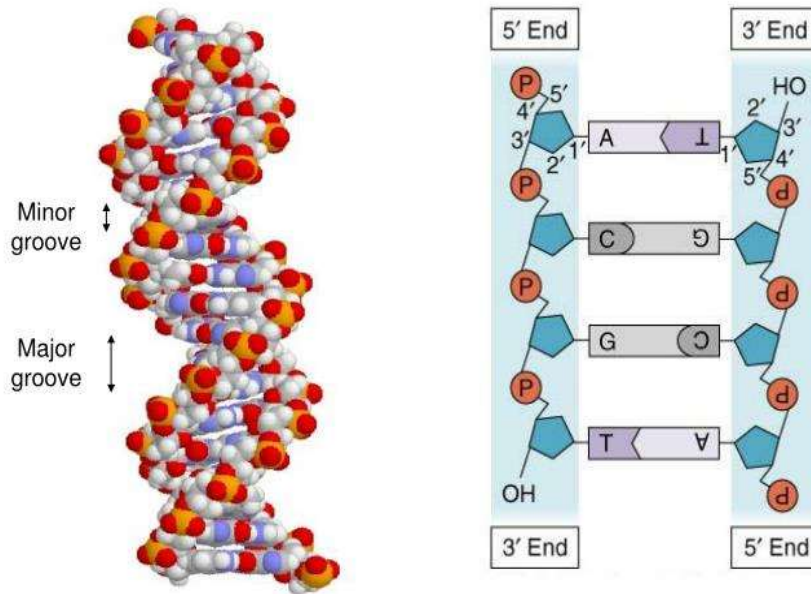
Το γονίδιο ABO : ένας τύπος με έντονη γενετική ποικιλότητα

ABO Blood group

Πολλαπλά αλληλόμορφα

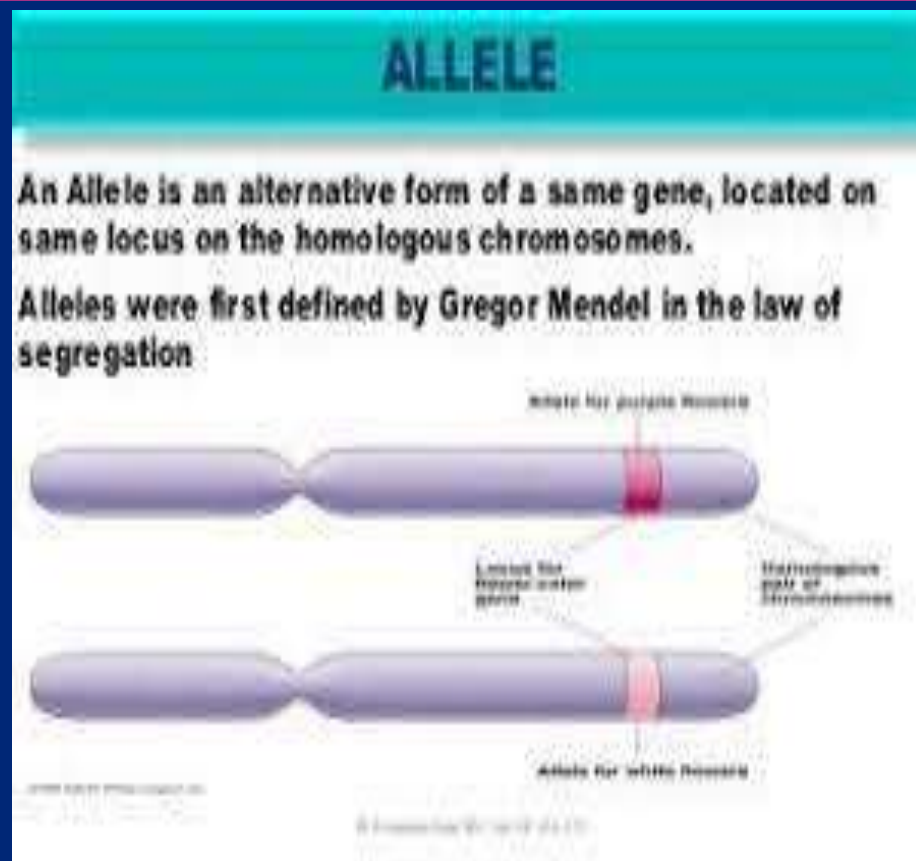
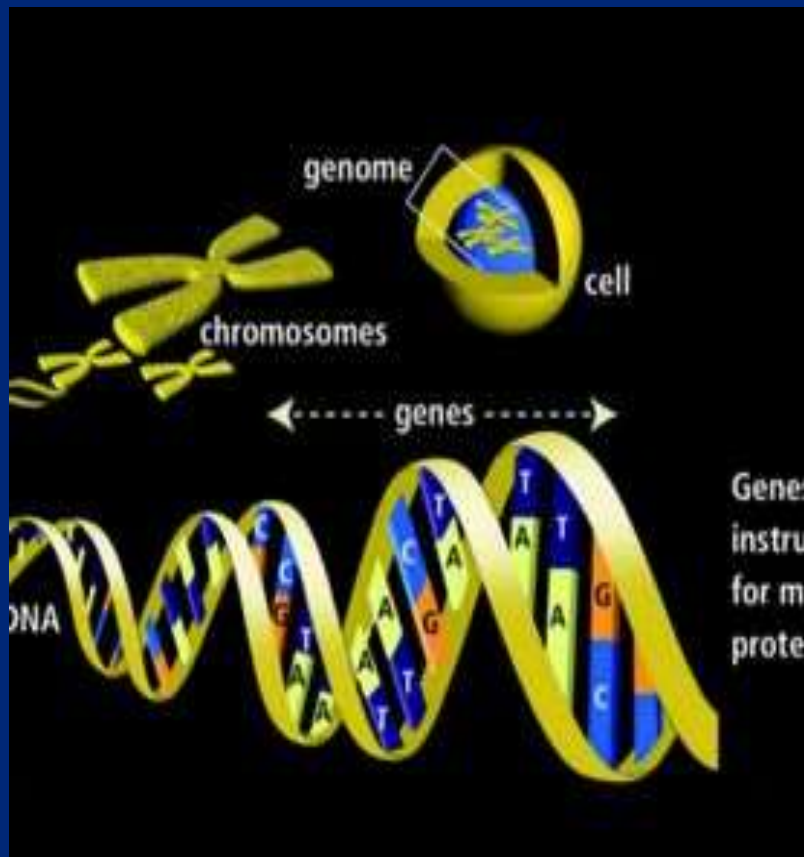
Πολλαπλοί γονότυποι

Biochemist's View of the DNA Double Helix



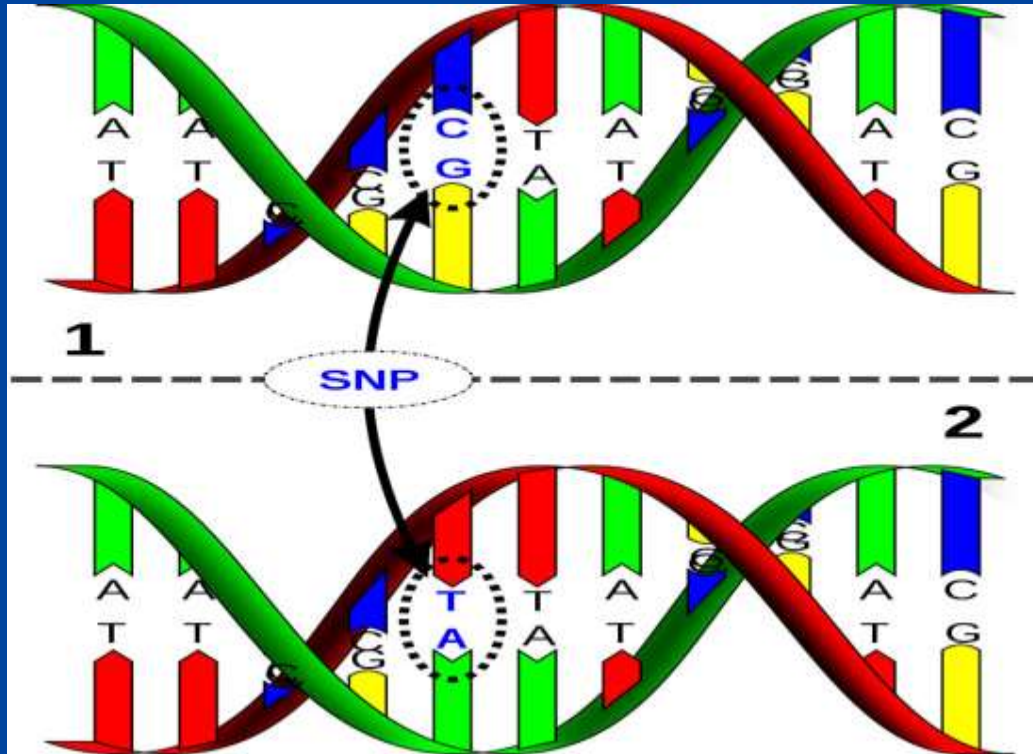
Αρκετά γενετικά συμβάντα (μεταλλάξεις) συμπεριλαμβανομένης της υποκατάστασης νουκλεοτιδίων, της εισαγωγής ή της διαγραφής νουκλεοτιδικής βάσης οδηγούν κυρίως σε μετατόπιση του πλαισίου ανάγνωσης και επακόλουθη αλλαγή της κωδικοποιημένης αλληλουχίας αμινοξέων. Αυτές οι μεταλλάξεις έχουν τη δυνατότητα να επηρεάσουν τη δραστηριότητα της A ή B γλυκοζυλοτρανσφεράσης (GT) και στη συνέχεια να προκαλέσουν αλλαγές στη φαινοτυπική έκφραση των αντιγόνων ABO. Τα περισσότερα από τα νέα αλληλόμορφα που προκύπτουν έχουν μια νουκλεοτιδική μετάλλαξη στο εξόνιο 6-7, με αποτέλεσμα μια αλλαγή αμινοξέων στην καταλυτική περιοχή του ενζύμου της τρανσφεράσης.

Το γονίδιο ABO : ένας τρόπος με έντονη γενετική ποικιλότητα



Για το γονίδιο A, που ελέγχει την παραγωγή της A τρανσφεράσης έχουν απομονωθεί 65 αλληλόμορφα
Για το γονίδιο B, που ελέγχει την παραγωγή της B τρανσφεράσης έχουν απομονωθεί 47 αλληλόμορφα
και για το γονίδιο O 58 αλληλόμορφα

Το γονίδιο ABO : ένας τόπος με έντονη γενετική ποικιλότητα. Η γενετική των υποομάδων ABO



Τα περισσότερα αλληλόμορφα γονίδια προκύπτουν από αλλαγές σε 1 ή περισσότερα νουκλεοτίδια (SNP) που οδηγούν σε αλλαγές αμινοξέων στην πρωτεΐνη ή σε πρόωρη παρουσία κωδικονίων τερματισμού.

Η ασθενής έκφραση των αντιγόνων A ή B (Aw, Ax, Ael, Bw, Bx, Bel) προκαλείται από πολλά διαφορετικά αλληλόμορφα που προκύπτουν από μεταλλάξεις καταναμεημένες σε ολόκληρη την περιοχή του γονιδίου ABO .

Η κωδικοποιητική περιοχή του αλληλόμορφου A² [A201] διαφέρει από το A¹ από μια φαινομενικά αβλαβή υποκατάσταση 467C>T (Pro156Leu) και μια 1061delC που προκαλεί μετατόπιση πλαισίου και επεκτείνει το πλαίσιο ανάγνωσης κατά 64 νουκλεοτίδια . Πολλές άλλες μεταλλάξεις έχουν περιγραφεί που αποδυναμώνουν αυτές τις δραστηριότητες και καταλήγουν σε ασθενείς υποομάδες A ή B.

Subgroups of A

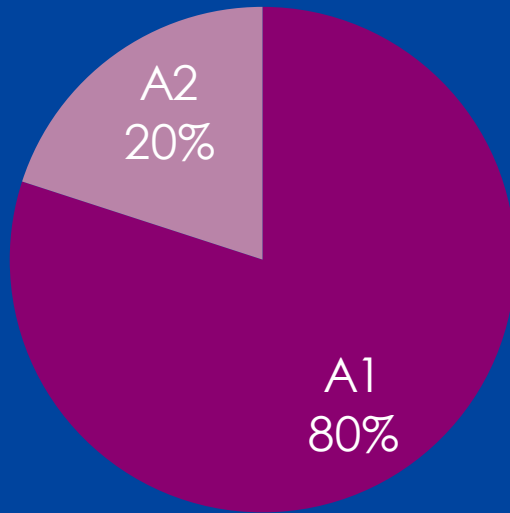
Pheno type	Reaction with antisera					Antibodies		Substance in Saliva (secretors)
	AntiA	Anti B	Anti AB	Anti A1	Anti H	Common	Unexpected	
A ₁	+4	0	+4	+4	0	Anti-B	-	A and H
A ₂	+4	0	+4	0	+2-3	Anti-B	Sometimes Anti-A ₁	A and H
A ₃	+2 mf	0	+2 mf	0	+3	Anti-B	Sometimes Anti-A ₁	A and H
A _x	Weak Or 0	0	+2	0	+4	Anti-B	Always Anti-A ₁	H
A _m	0	0	0	0	+4	Anti-B	No Anti-A ₁	A and H
A _{el}	0	0	0	0	+4	Anti-B	Sometimes Anti-A ₁	H
A _{end}	Weak Mf	0	Weak Mf	0	+4	Anti-B	Sometimes Anti-A ₁	H

ΥΠΟΟΜΑΔΕΣ Α

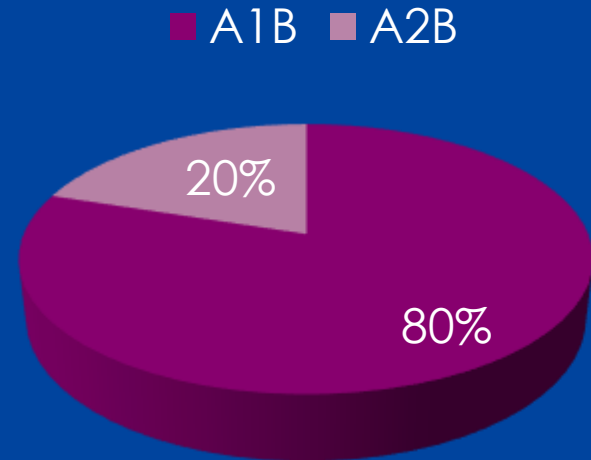
- 😊 Περίπου 10 χρόνια μετά την ανακάλυψη του συστήματος ABO από τον Landsteiner , το 1911, οι von Dungern και Hirschfeld διαχώρισαν την ομάδα Α σε Α1 και Α2.
- 😊 Οι υποομάδες Α1 και Α2 είναι οι πιο συνηθισμένες υποομάδες , αντιδρούν και οι δύο ισχυρά (4+ ή 3+ με μονοκλωνικό αντιορό Anti-A)
- 😊 Και οι δύο έχουν το ίδιο τελικό ανοσοκυρίαρχο σάκχαρο Ν-ακέτυλο D γαλακτοζαμίνη
- 😊 Τα γονίδια A^1 και A^2 βρίσκονται στον ίδιο γονιδιακό τόπο ABO, στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 9 , κληρονομούνται σύμφωνα με τον νόμο του MENDEL αλλά κωδικοποιούν διαφορετικές τρανσφεράσες

ΥΠΟΟΜΑΔΕΣ Α, ΑΒ

Κατανομή των Α1 και Α2 σε
δότες ομάδος Α



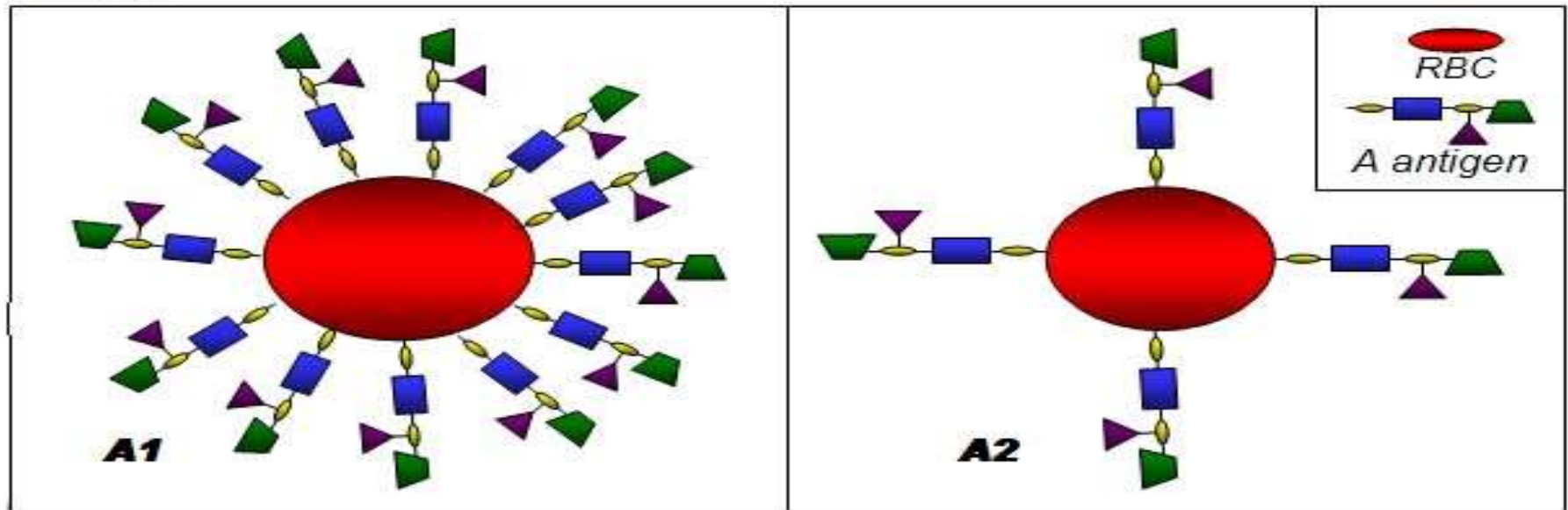
Κατανομή των Α1Β και Α2Β
μεταξύ των ατόμων ΑΒ
στην Καυκάσια φυλή



Οι Α1 και Α2 είναι οι πιο συνηθισμένες υποομάδες

Διαφορές Φαινοτύπων A1- A2

Figure 1.1



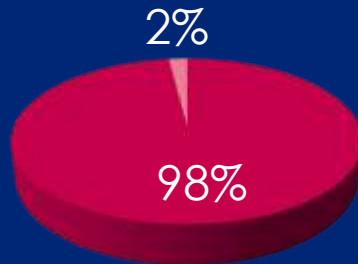
Ποσοτική διαφορά : Η μετατροπή A2 είναι λιγότερο αποτελεσματική στη μετατροπή του αντιγόνου H σε αντιγόνο A, με αποτέλεσμα τα ερυθρά αιμοσφαίρια ομάδας A2 να έχουν περίπου 20-25% λιγότερες αντιγονικές θέσεις A από τα κύτταρα A1.

Τα ερυθρά A1 έχουν 800.000 – 1.000.000 αντιγονικές θέσεις A1 ενώ τα A2 έχουν 240.000 - 290.000

Διαφορές Φαινοτύπων A1- A2

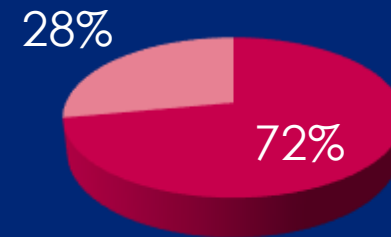
Ποσοστό παρουσίας Anti-A1 σε άτομα A2

■ A2 ■ Anti-A1



Ποσοστό παρουσίας Anti-A1 σε άτομα A2B

■ A2B ■ Anti-A1

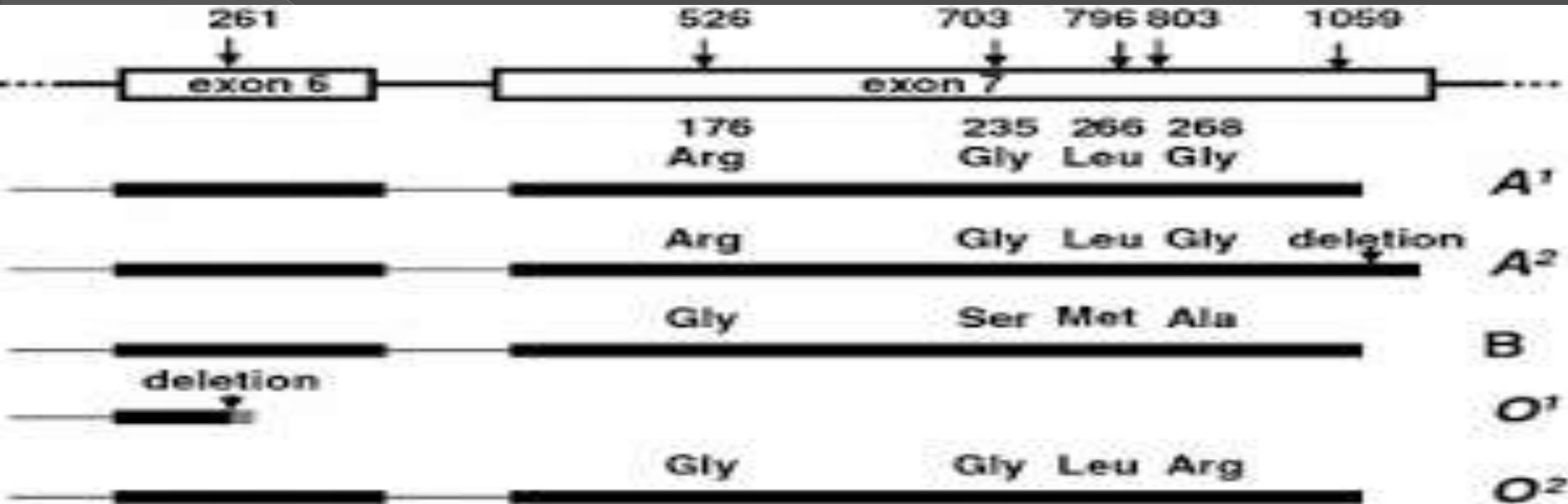


Ποιοτική διαφορά τα αντιγόνα A_1 και A_2 έχουν διαφορετική σύνθεση υδατανθράκων. Αυτή η βιοχημική διαφορά μπορεί να εξηγήσει γιατί το 2% των A_2 ατόμων και το 28% των ατόμων $A_2 B$ παράγουν αντίσωμα αντι- A_1 . Μερικές φορές, η δραστηριότητα του A2 εξασθενεί περαιτέρω λόγω ανταγωνισμού όταν εμφανίζεται μαζί με το συν-επικρατούν γονιδίου B (το οποίο δίνει τον φαινότυπο A2B). Τα αδύναμα αλληλόμορφα όπως το A2 μπορούν να θεωρηθούν ως ένας ενδιάμεσος φαινότυπος μεταξύ της πλήρους ισχύος "A" (A_1) και του εντελώς ανενεργού "O".

Διαφορές Φαινοτύπων A1- A2

Η φύση του μηχανισμού που ευθύνεται για την διαφορά των φαινοτύπων A1 και A2 δεν έχει περιγραφεί πλήρως. Με βάση τη βιβλιογραφία άλλες μελέτες προωθούν τις ποσοτικές διαφορές, άλλες τις ποιοτικές και άλλες τόσο τις ποσοτικές όσο και τις ποιοτικές διαφορές. Υπάρχουν γλυκολιπιδικές χημικές διαφορές μεταξύ των φαινοτύπων της ομάδας αίματος A1 και A2 (ελλειπή ή καθόλου έκφραση των δομών A τύπου 3 και A τύπου 4 στα ερυθρά αιμοσφαίρια A2) και είναι υπεύθυνες για τις ποιοτικές διαφορές τους. Η κύρια διαφορά γλυκολιπιδίων μεταξύ των φαινοτύπων A(1) και A(2) είναι η κυριαρχία των γλυκολιπιδίων A τύπου 4 στον φαινότυπο A(1).

Η γενετική των αντιγόνων A1- A2



Η κωδικοποιούσα περιοχή του αλληλόμορφου A2 διαφέρει από την A1 με δύο τρόπους: πρώτον με μια υποκατάσταση μεμονωμένου νουκλεοτιδίου (467C>T) που δημιουργεί μια μοναδική αλλαγή αμινοξέος (η προλίνη #156 αλλάζει σε λευκίνη), και δεύτερον από μια μετάλλαξη 1061delC που προκαλεί μετατόπιση πλαισίου, επεκτείνοντας το πλαίσιο ανάγνωσης κατά 64 νουκλεοτίδια ΣΤΟ γονίδιο A2 . Ως αποτέλεσμα της διαγραφής της βάσης και της επακόλουθης μετατόπισης πλαισίου, η μεταφορά A2 έχει μειωμένη δραστηριότητα σε σχέση με την μεταφορά A 1

Φαινότυπος A1 – A2



Τόσο η A1 όσο και η A2 παρουσιάζουν ισχυρή συγκόλληση ,4+ ή 3+ , με το μονοκλωνικό αντιδραστήριο αντι-A1

Οι μονοκλωνικοί αντιοροί αντι-A και αντι-B είναι ανθρώπινοι, μεγάλης ειδικότητας και αντιδρούν ισχυρά τόσο με ερυθρά A1 όσο και με ερυθρά A2

Φαινότυπος A1 – A2

Table 6. Typical Serologic Reactions Observed in Persons with A₁ and A₂ Phenotypes

RBC Phenotype	Forward typing					Reverse typing			
	Anti-A	Anti-B	Anti-A,B*	Anti-H	A ₁	A ₁	A ₂	B	O
A ₁	4+	0	4+	0	4+	0	0	4+	0
A ₂	4+	0	4+	3+	2+	0/+	0	4+	0

1+ to 4+ = agglutination of increasing strength; 0 = no agglutination

* = Human polyclonal antibody isolated from group O individuals that recognizes both A and B antigens.

Ο φαινότυπος A2 αντανακλά την ανεπαρκή μετατροπή του αντιγόνου H σε αντιγόνο A .
Επομένως τα ερυθρά αιμοσφαίρια A2 έχουν αυξημένη αντιδραστικότητα με την λεκτίνη αντι- H.

Επιλύοντας μια ασυμφωνία τυποποίησης ABO

Αρχικά πρέπει να διευκρινίσουμε αν η ασυμφωνία εμφανίζεται στην ευθεία ή στην ανάστροφη ομάδα



Το πρόβλημα εντοπίζεται στα ερυθρά

Το πρόβλημα εντοπίζεται στον ορό

Το πρόβλημα εντοπίζεται στον ορό και στα ερυθρά

Ποια αντίδραση είναι ασθενής ;

Ποια αντίδραση είναι αρνητική ενώ αναμενόταν θετική ;

Αν εμφανίζεται επιπλέον αντίδραση ενώ δεν αναμενόταν

Υποομάδα Α : επιλύοντας μια ασυμφωνία τυποποίησης ABO

Οι περιπτώσεις ασυμφωνίας ευθείας – ανάστροφης ομάδας, κατά την τυποποίηση ABO δεν είναι συχνές. Όταν όμως εμφανιστούν, μοιάζουν με γρίφους, κι εμείς καλούμαστε να δώσουμε απαντήσεις.

Ας φορέσουμε λοιπόν τα καπέλα του ντετέκτιβ και ας ακολουθήσουμε την ιστορία μιας περίπτωσης ασυμφωνίας ABO



Βασικοί κανόνες που πρέπει να ακολουθούμε όταν προσπαθούμε να επιλύσουμε μία ασυμφωνία ABO :

- Η ασυμφωνία οφείλεται στην παρουσία μιας ασθενούς αντίδρασης ($<2+$ συγκόλληση)
- Οι ασυμφωνίες που οφείλονται σε μη αναμενόμενες αντιδράσεις στον ορό είναι πιο συχνές από τις ασυμφωνίες που οφείλονται σε ασθενή έκφραση ή έλλειψη αντιγόνων ερυθρών .

Υποομάδα Α

Τυποποίηση ΑΒΟ

Ευθεία
ομάδα



Ανάστροφη ομάδα

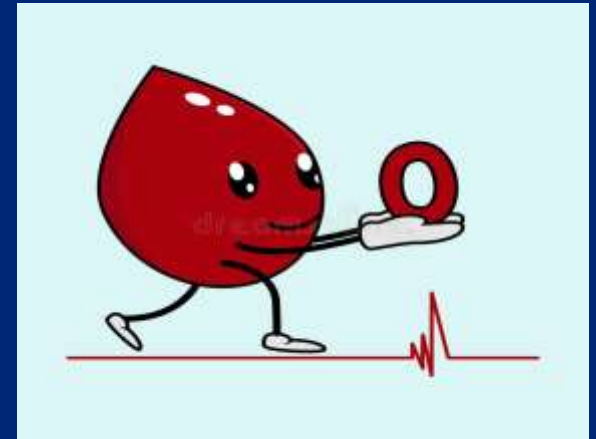
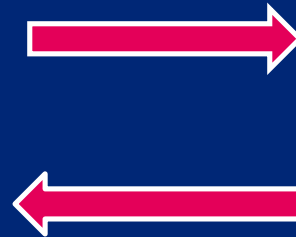
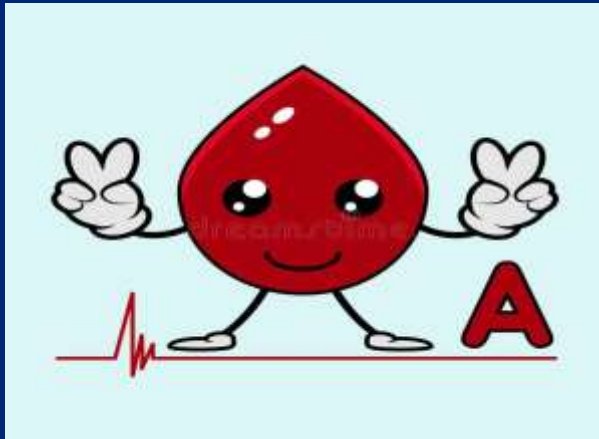


ABO Discrepancies

Anti-A	Anti-B	Anti-AB	A ₁ Cell	B Cell
4+	0	4+	2+	4+

Subgroup of A

Υποομάδα A και ασυμφωνία κατά την τυποποίηση ABO



Κατά την τυποποίηση ABO η παρουσία υποομάδων A προκαλεί ασυμφωνία ευθείας και ανάστροφης ομάδας :

Στον έλεγχο των RBC
(ευθεία ομάδα)

Στον έλεγχο του ορού
(ανάστροφη ομάδα)

Υποομάδα A και ασυμφωνία κατά την τυποποίηση ABO : προβλήματα κατά τον έλεγχο των RBC

Ασθενής ή ανεπαρκής έκφραση
ABO αντιγόνων

Missing or Weak antigens

Anti-A	Anti-B	A1 Cells	B Cells
0	0	0	4+

Group O

Group A

- Since the forward and reverse don't match, there must be a discrepancy (in this case, a missing antigen in the forward grouping)

Υποομάδα A και ασυμφωνία κατά την τυποποίηση ABO : προβλήματα κατά τον έλεγχο του ορού

Παρουσία μη αναμενόμενων αντισωμάτων

ABO Discrepancies

Anti-A	Anti-B	Anti-AB	A ₁ Cell	B Cell
4+	0	4+	2+	4+

Subgroup of A

ABO Discrepancies

Anti-A	Anti-B	Anti-AB	A ₁ Cell	B Cell
4+	0	4+	2+	4+

Subgroup of A

Ευθεία ομάδα : A



Ανάστροφη ομάδα : O

Ασθενέστερη αντίδραση



Μη αναμενόμενη
αντίδραση στον ορό



Παρουσία του αντισώματος Anti-A₁ στον ορό



Επιλύοντας την ασυμφωνία ευθείας- ανάστροφης ομάδας λόγω της παρουσίας Anti-A1 στον ορό

Ασυμφωνίες ABO που προκαλούνται από μη αναμενόμενη παρουσία συγκολλητινών στον ορό

Ψυχρά αυτοαντισώματα
(π.χ. Anti-I)

Φαινόμενο Rouleaux

Ψυχρά αλλοαντισώματα
(π.χ. Anti-M)

Αντι- H σε φαινότυπο
Bombay

Πρόσφατη μετάγγιση αιμοπεταλίων
από δότη ομάδος O σε ασθενή A
(μη αναμενόμενα παθητικά
αποκτηθέντα αντι-A)

Ασθενείς υποομάδες A με anti-
A1

Θετικό screening
αντισωμάτων



A1

A2



Επιλύοντας την ασυμφωνία ευθείας- ανάστροφης ομάδας λόγω της παρουσίας Anti-A1 στον ορό



Ελέγχουμε το ιστορικό μεταγγίσεων του ασθενούς, την ηλικία του, αποτελέσματα από προηγούμενη τυποποίηση του κατά ABO, κήσεις, ασθένειες κ.λ.π.
Π.χ. ασθενής ομάδος A έχει μεταγγιστεί με αιμοπετάλια ή άλλο παράγωγο ομάδος O



Ελέγχουμε τα RBC του ασθενούς με την Anti-A1 lectin



RBC A1

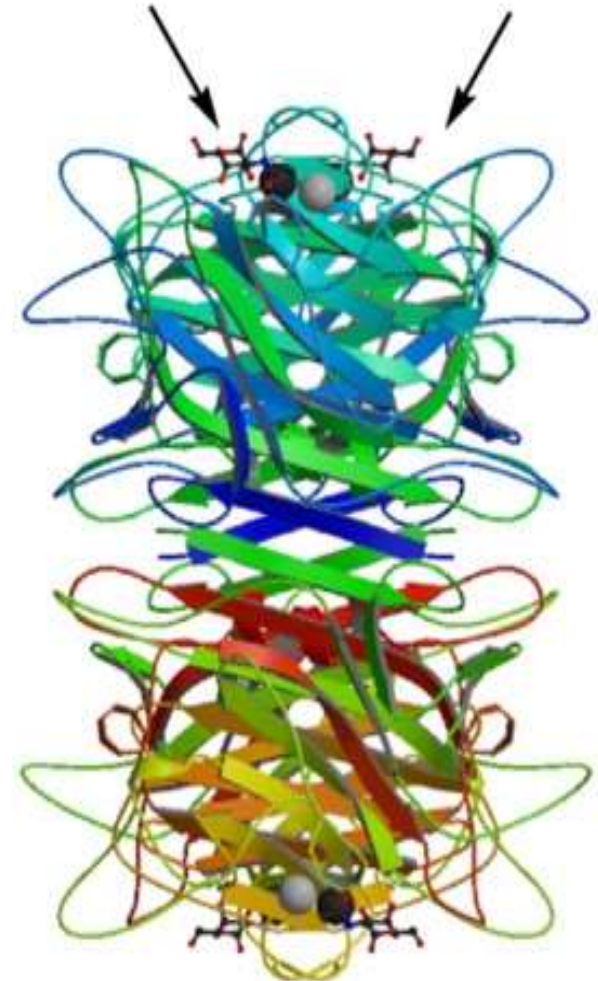
RBC A2



Υποομάδες A- anti-lectin A1

- ✿ Η λεκτίνη A1 αποτελεί ένα άλλο είδος αντι-A αντισώματος (πρωτεΐνη), το οποίο όμως δεν έχει ανοσολογική προέλευση.
- ✿ Χρησιμοποιείται για την ανίχνευση υδατανθρακικών αντιγόνων στην επιφάνεια των ερυθρών, μέσω της αντίδρασης της αιμοσυγκόλλησης.
- ✿ Η αντι-A1 λεκτίνη συγκολλά επιλεκτικά τα κύτταρα της ομάδος A1 και A1B αλλά όχι των A2, A2B και των υπολοίπων υποομάδων A.
- ✿ Η υποομάδα A2 ενώ αντιδρά με τον αντι-ορό αντι-A δεν αντιδρά με την λεκτίνη αντι-A1.
- ✿ Η ονομασία λεκτίνη προέρχεται από την λατινική λέξη *legere* που σημαίνει επιλέγω. Η λεκτίνη αντι-A1 παρασκευάζεται από εκχύλισμα σπόρων *Dolichos biflorus*,

sugar residues are linked as ligand with lectin for the formation of complex



Επιλύοντας την ασυμφωνία ευθείας- ανάστροφης ομάδας λόγω της παρουσίας Anti-A1 στον ορό



Ελέγχουμε το πλάσμα του ασθενούς με γνωστά RBC A1
RBC A2 και RBC O
(μέθοδος σωληναρίου)



3 σταγόνες Πλάσμα
+
1 σταγόνα RBC A1



3 σταγόνες πλάσμα
+
1 σταγόνα RBC A2



3 σταγόνες πλάσμα
+
1 σταγόνα RBC O

Φυγοκέντρηση για 15 sec

+ συγκόλληση παρουσία
anti-A1

(-) συγκόλληση

(-) συγκόλληση

Υποομάδα A2 ή κάποια άλλη ασθενή υποομάδα A

Επιλύοντας την ασυμφωνία ευθείας- ανάστροφης ομάδας λόγω της παρουσίας Anti-A1 στον ορό



Αν το πλάσμα του ασθενούς περιέχει παθητικά αποκτηθέντα αντι-A μέσω μετάγγισης τότε οι αντιδράσεις θα είναι :

Πλάσμα ασθενούς
+ A1 ερυθρά



Συγκόλληση

Πλάσμα ασθενούς
+ A2 ερυθρά



Συγκόλληση

Σε αυτή την περίπτωση τα αντι-A είναι κλινικά σημαντικά και ο ασθενής θα πρέπει να μεταγγίζεται με αίμα ομάδος O

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΦΑΙΝΟΤΥΠΩΝ A2 ΚΑΙ A2B

Anti- A1



Οι φαινότυποι A2 και A2B έχουν κλινική σημασία λόγω της παρουσίας του φυσικού αντισώματος αντι-A₁



Είναι συνήθως IgM με θερμικό πλάτος μικρότερο των 25°C και θεωρείται συνήθως κλινικά μη σημαντικό. (ψυχρή συγκολλητίνη).



Λίγες αναφορές περιστατικών έχουν δείξει κλινικά σημαντικό αντίσωμα αντι-A₁ στους 37°C, προκαλώντας αιμόλυση των A1 ερυθρών αιμοσφαιρίων του δότη.



Όταν το anti-A1 εμφανίζεται ως αλλοαντίσωμα (μετάγγιση ή εγκυμοσύνη) είναι κλινικά σημαντικό και θα πρέπει να μεταγγίζεται με αίμα ομάδος O.



Οι ασθενείς ομάδας A2 με ένα anti- A1 που αντιδρά στους 37°C μεταγγίζονται με ερυθρά ομάδος A2 ή O.



Οι ασθενείς ομάδας A₂B μεταγγίζονται με ερυθρά A₂B, A2, B ή O.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΦΑΙΝΟΤΥΠΩΝ A2 ΚΑΙ A2B

Anti- A1



Η παρουσία του anti-A1 στον ορό προκαλεί ασυμφωνία ευθείας και ανάστροφης ομάδος κατά την τυποποίηση ABO



Αποτελεί αιτία ασύμβατων διασταυρώσεων με ερυθρά αιμοσφαίρια A1 και A1B



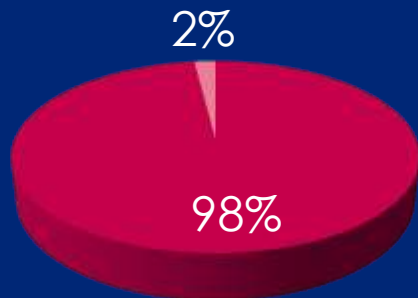
Δότης νεφρού με φαινότυπο A2 επιτρέπεται να δώσει μόσχευμα μόνο σε λήπτη ομάδος O

Επιλύοντας την ασυμφωνία ευθείας- ανάστροφης ομάδας λόγω της παρουσίας Anti-A1 στον ορό

Γενικά, ο φαινότυπος A2 δεν δημιουργεί πρόβλημα στην αιμοδοσία εκτός εάν ο ασθενής ή ο αιμοδότης έχει Αντι-A₁ το οποίο είτε είναι φυσικό είτε έχει παραχθεί μέσω αλλοανοσοποίησης (με μετάγγιση ή εγκυμοσύνη)

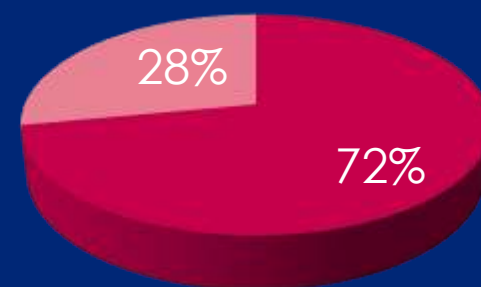
Ποσοστό παρουσίας Anti-A1 σε άτομα A2

■ A2 ■ Anti-A1



Ποσοστό παρουσίας Anti-A1 σε άτομα A2B

■ A2B ■ Anti-A1



Φαινότυποι « ασθενούς A

A₃, A_χ, A_m, A_{el}, A_{end}, A_{bantu}

Ο φαινότυπος της ομάδας «A» που επιδεικνύει ασθενέστερη ορολογική αντιδραστικότητα από την A₂, με τους αντιορούς αντι-A και αντι-AB, χαρακτηρίζεται ως ασθενής υποομάδα A (weak A)

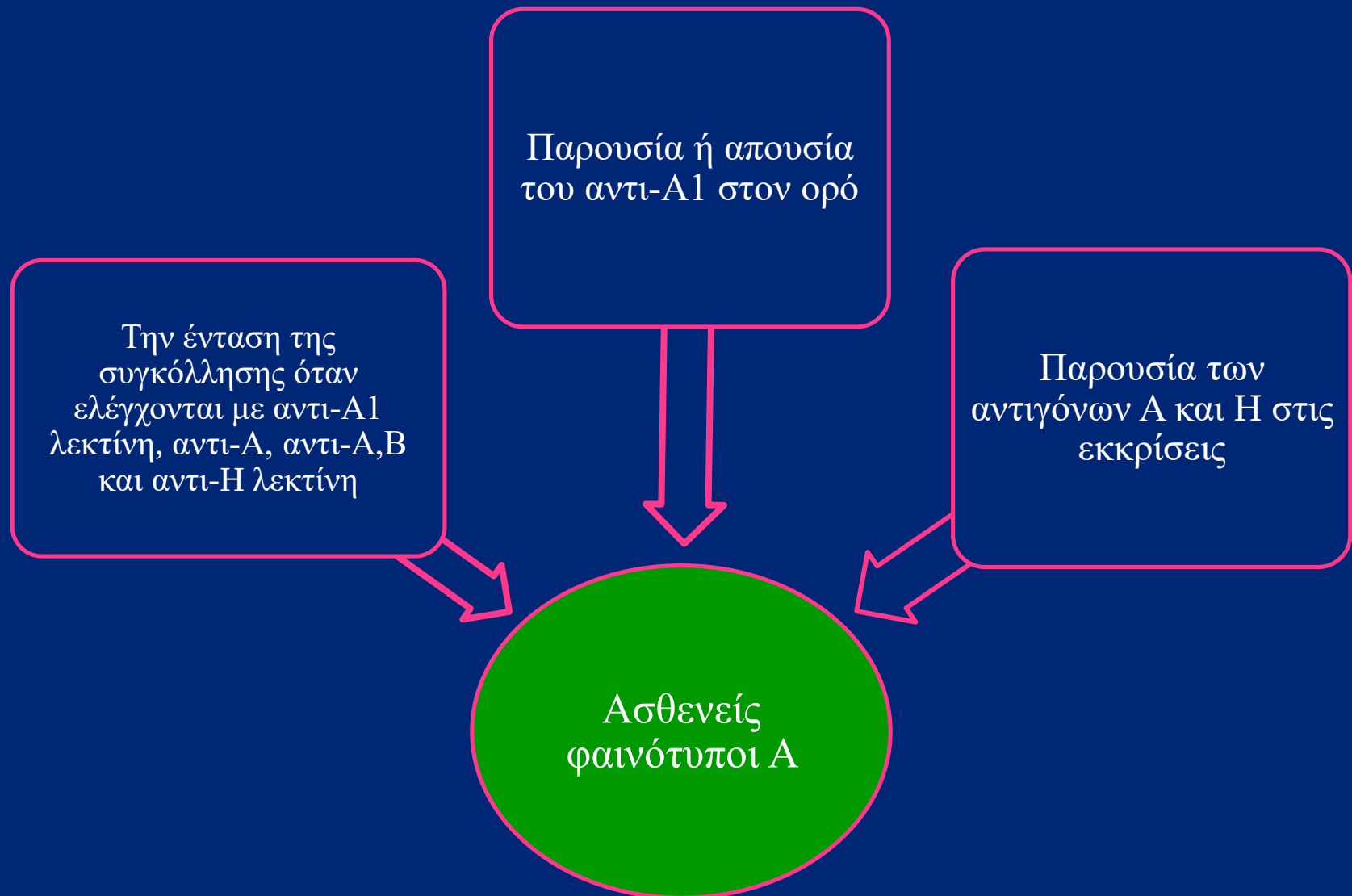
Υπάρχει αναλογία στη σχέση μεταξύ του βαθμού της συγκόλλησης των ερυθρών αιμοσφαιρίων με τους αντιορούς Anti-A και Anti-B και της πυκνότητας του αντιγόνου στην επιφάνεια του ερυθρού αιμοσφαιρίου.

30.000 θέσεις αντιγόνου A για την υποομάδα A₃,
4800 στην A_χ, 3500 στην A_{end},
700 θέσεις αντιγόνου A για την υποομάδα A_{el} και A_m

Μικρότερος
βαθμός
συγκόλλησης

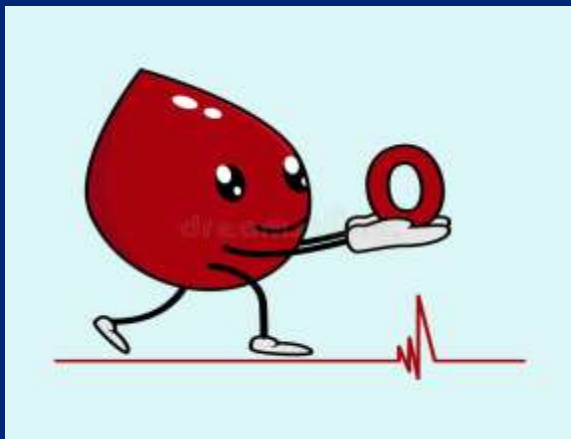
Λιγότερος αριθμός
αντιγόνων στην
επιφάνεια των
ερυθρών
συγκόλλησης

Ορολογική ταξινόμηση των ασθενών Α φαινοτύπων

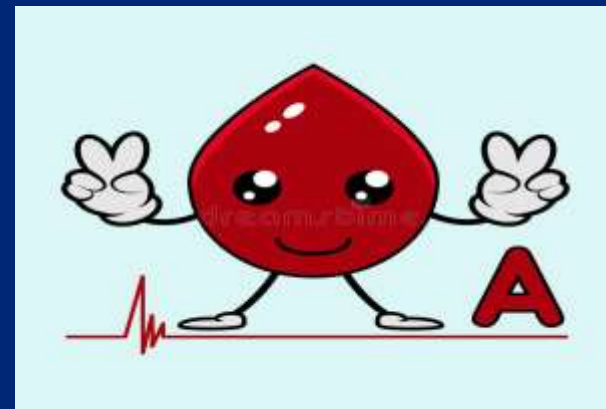


Φαινότυποι « ασθενούς A

Ορολογική τυποποίηση

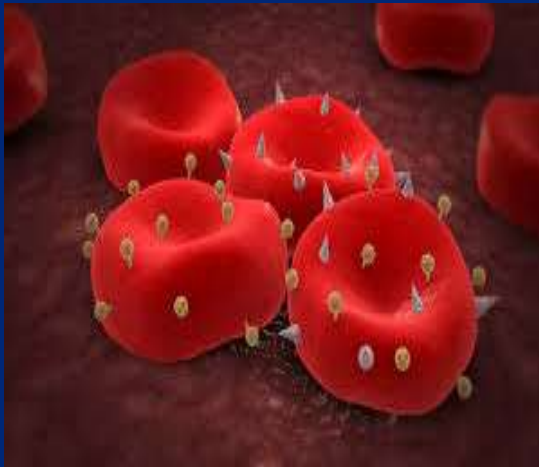


Στην ευθεία ομάδα αντιδρούν ασθενώς
ή καθόλου με αντι-A και αντι-AB

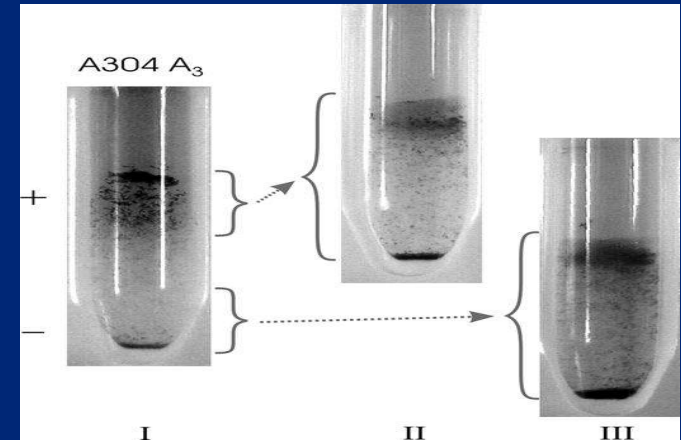


Συγκολλούν μόνο τα B ερυθρά
στην ανάστροφη ομάδα

Ασθενείς φαινότυποι Α και ασυμφωνία κατά την τυποποίηση ΑΒΟ : προβλήματα κατά τον έλεγχο των RBC



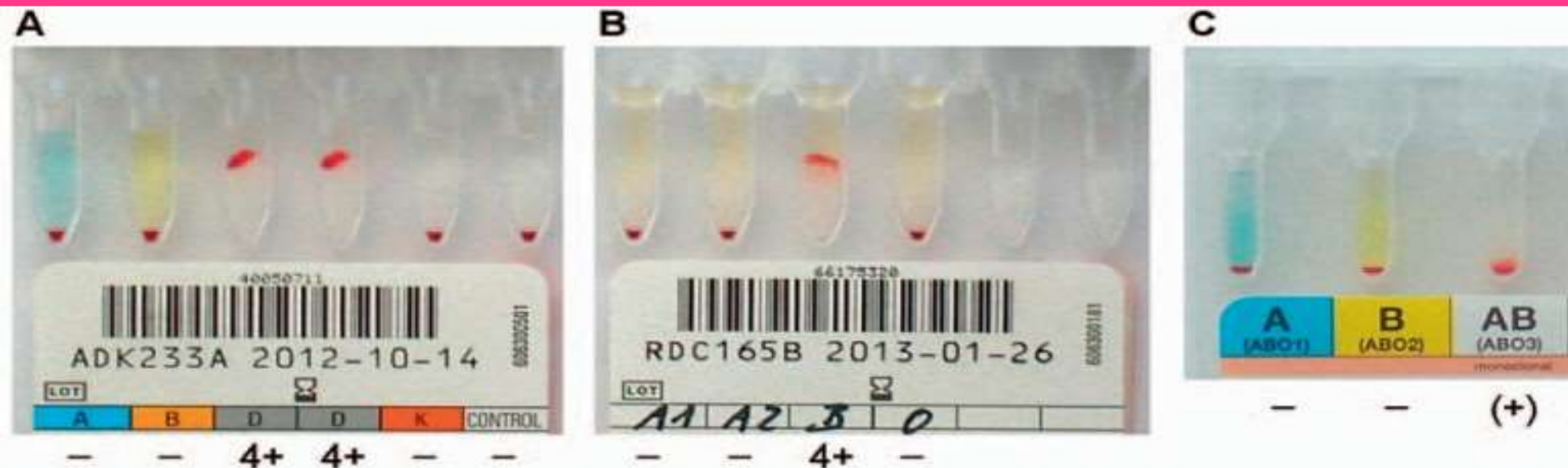
Ασθενής
έκφραση ή
έλλειψη των
αντιγόνων Α



Συγκολλήσεις
μεικτού
πεδίου



Υποομάδα A και ασυμφωνία κατά την τυποποίηση ABO : έλλειψη των αντιγόνων ABO



Αποτελέσματα τυποποίησης ABO με τη χρήση της τεχνικής της γέλης.

Στην ευθεία ομάδα τα αντιγόνα A και B απουσιάζουν, το άτομο χαρακτηρίζεται ως O ομάδα

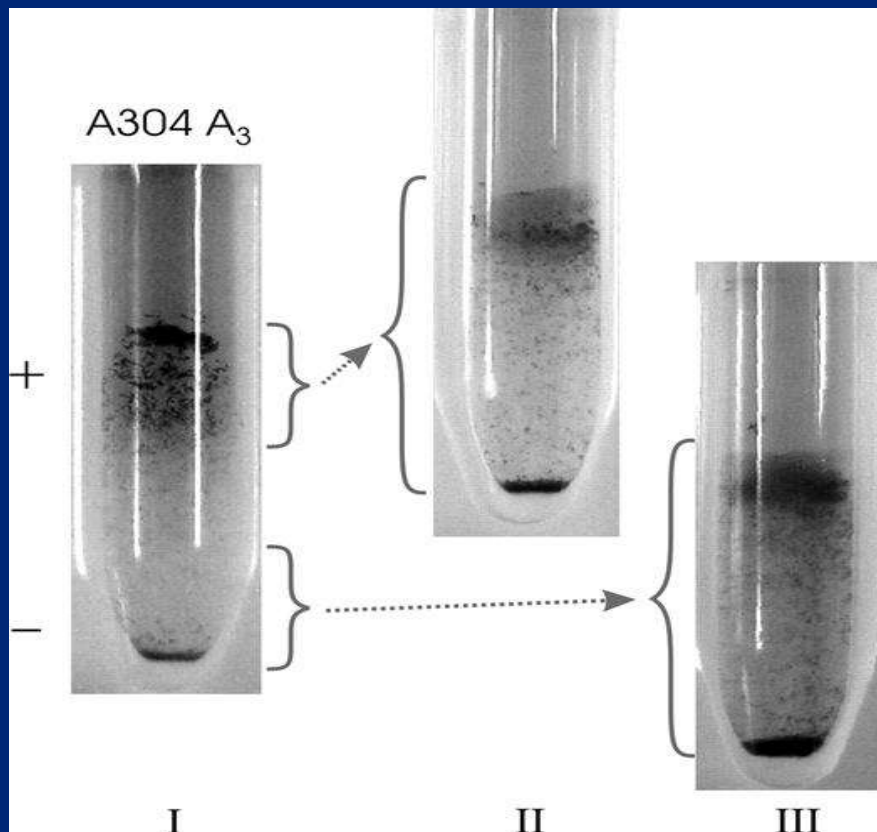
Στην ανάστροφη ομάδα όμως παρατηρούμε ότι οι αντι-B ισοσυγκολλητίνες είναι φυσιολογικές (4+), ενώ απουσιάζουν οι αντι-A ισοσυγκολλητίνες.

Ο προσδιορισμός του τύπου αντιγόνου με χρήση περαιτέρω μονοκλωνικών αντιδραστηρίων, συμπεριλαμβανομένου ενός μονοκλωνικού αντισώματος αντι-AB, οδήγησε σε πολύ ασθενή αντίδραση συγκόλλησης.

Η μοριακή ανάλυση έδειξε την υποομάδα Aw34. Η μετάλλαξη 248A>G πιθανώς εντοπίζεται σε ένα αλληλόμορφο A και οδηγεί σε αλλαγή αμινοξέων Asp83Gly στην κωδικοποιημένη γλυκοζυλοτρανσφεράση.

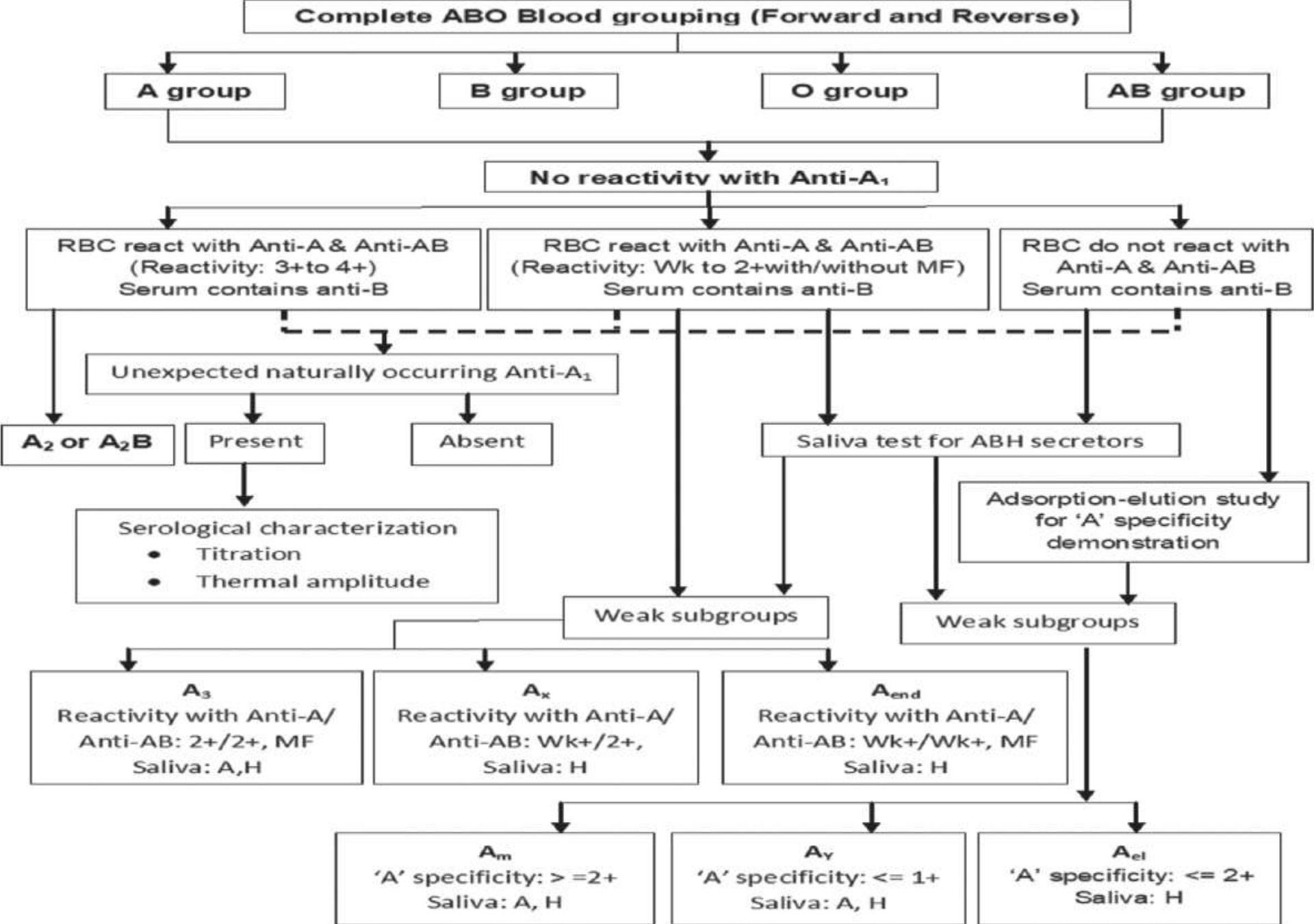


Υποομάδα A και ασυμφωνία κατά την τυποποίηση ABO : αντίδραση συγκόλλησης μικτού πεδίου



Αντίδραση συγκόλλησης
μικτού πεδίου

Ένα από τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα της υποομάδας A3 είναι η αντίδραση συγκόλλησης μικτού πεδίου όταν τα A3 ερυθρά επωάζονται με το μόνο κλωνικό αντίσωμα αντι-A. Αυτό το φαινόμενο φαίνεται να συσχετίζεται με την αδύναμη έκφραση του αντιγόνου A στην επιφάνεια των A3 ερυθρών



MF: Mixed field agglutination

Wk: Weak

Υποομάδες B

Ορολογικά μπορούν να ταξινομηθούν σε B_3 , B_x , B_m και B el. (ISBT)

Οι B-υποομάδες είναι λιγότερο συχνές σε σχέση με τις A- υποομάδες

Ταξινομούνται με βάση την ένταση της συγκόλλησης όταν τα ερυθρά αντιδρούν με τον μονοκλωνικό αντιορό αντι-B ,αντι-AB και αντι-H

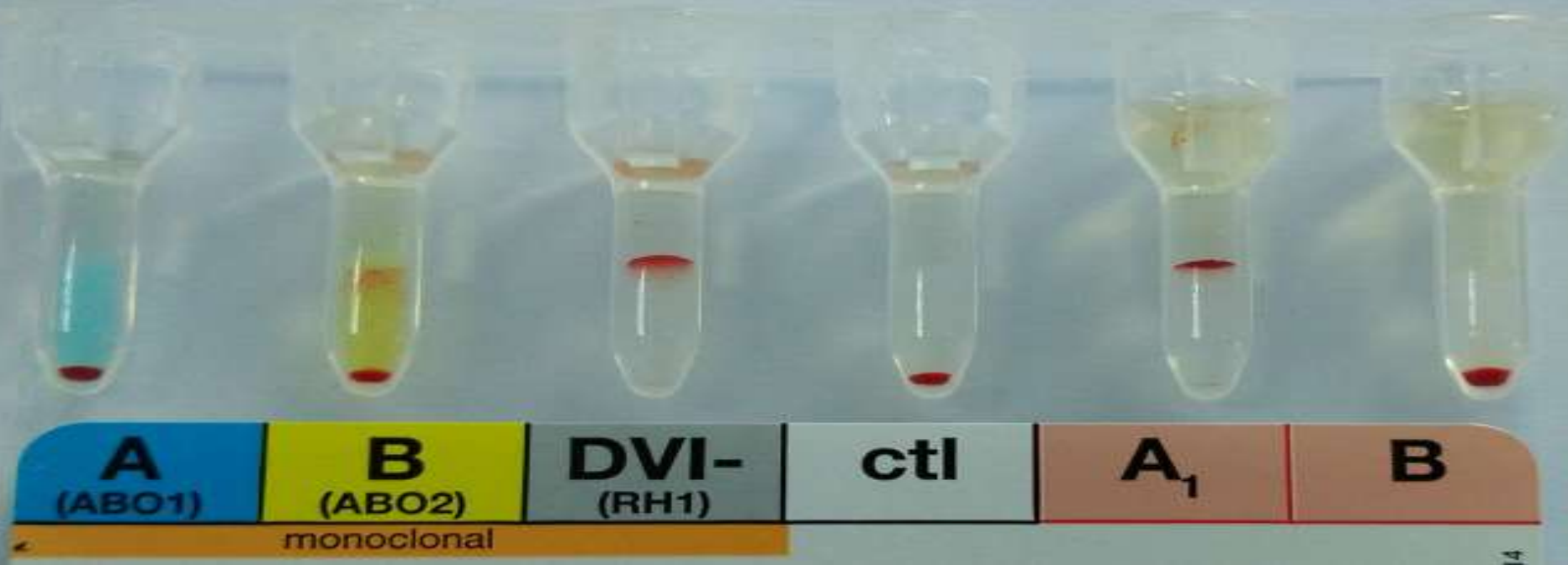
Αναγνωρίζονται λόγω ασυμφωνίας τυποποίησης ABO

Επιβεβαιώνονται με την χρήση μοριακών αναλύσεων και με την μέθοδο προσρόφησης - έκλουσης

Η υποομάδα B3 εμφανίζει αντίδραση μικτού πεδίου όταν τα ερυθρά ελέγχονται με αντι-B

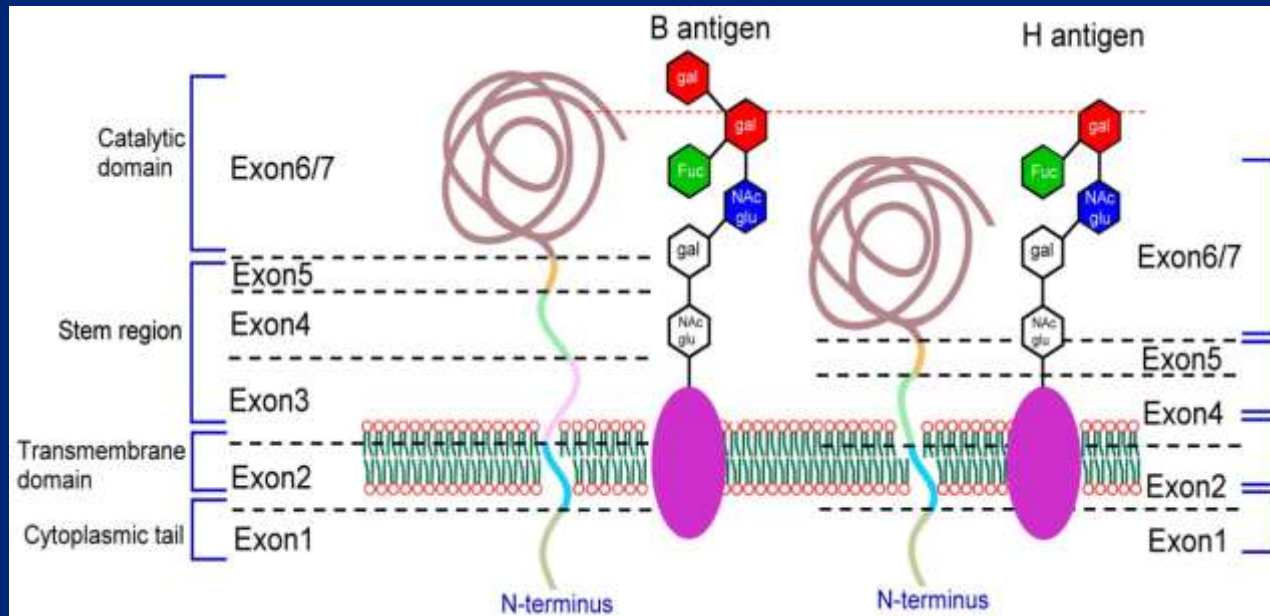
Δεν υπάρχει υποομάδα B ανάλογη της A1 και της A2

Υποομάδες Β



Υποομάδα Β3

Υποομάδα B3 αντίδραση συγκόλλησης μεικτού πεδίου



Σχηματική αναπαράσταση της δομής της τρανσφεράσης B3

Δείχνεται η σχετική θέση της τρανσφεράσης για την κυτταροπλασματική ουρά, τη διαμεμβρανική περιοχή, την περιοχή στελέχους, την καταλυτική περιοχή και την γαλακτόζη. Υποδεικνύονται τα εξόνια 1 έως 7 του γονιδίου ABO που κωδικοποιούν τα διαφορετικά μέρη των B γλυκοζυλοτρανσφερασών. Οι B γλυκοζυλοτρανσφεράσες καταλύουν το τελικό στάδιο της σύνθεσης του αντιγόνου B μεταφέροντας υπολείμματα 1,3-D-γαλακτόζης στο αντιγόνο H. Όσον αφορά την B3, η έλλειψη εξονίου 3 που αντιστοιχεί στη διαμεμβρανική περιοχή της B γλυκοζυλοτρανσφεράσης πιθανότατα παράγει πρωτεΐνη που είναι ασταθής. Είναι επίσης πιθανό λόγω της παραπάνω μετάλλαξης η πρωτεΐνη B₃ είναι λιγότερο ευκάμπητη και επομένως δεν μπορεί να μεταφέρει αποτελεσματικά την 1,3-D-γαλακτόζη στο αντιγόνο H.

Ορολογικές αντιδράσεις του ασθενούς B_x φαινοτύπου

ABO Phenotype	Total No.	Forward Grouping			Reverse Grouping				Lectin	Saliva Test			Adsorption Elution	
		Anti-A	Anti-B	Anti-Ab	A1 Cells	A2 Cells	B Cells	O Cells		A	B	H	Group O Sera	Group A Sera
B _x	1	-	wk	2+	4+	4+	-	-	4+	-	-	1	1+	-

Ο B_x είναι ένας πολύ σπάνιος φαινότυπος της ομάδας αίματος B.

Μπορεί να τυποποιηθεί ως ομάδα O λόγω της πολύ ασθενούς έκφρασης του αντιγόνου B στην επιφάνεια των ερυθρών αιμοσφαιρίων , όταν εκτελείται μόνο η ευθεία ομάδα. Όταν εκτελείται ταυτόχρονα η ανάστροφη ομάδα, η λάθος τυποποίηση αποτρέπεται λόγω της παρουσίας των αντι-A αντισωμάτων στον ορό.

Αν η ομάδα γίνει με την μέθοδο της πλάκας στην οποία επίσης δεν αναγνωρίζονται τα ασθενή αντιγόνα , η τυποποίηση θα είναι λάθος

Φαινότυποι ασθενών αντιγόνων Α και Β

Επίλυση της ασυμφωνίας ΑΒΟ

Ασθενής έκφραση
ή
έλλειψη των αντιγόνων Α ή Β

Οι ασθενείς αντιδράσεις αντιγόνου αντισώματος ενισχύονται με μεθόδους όπως είναι η παράταση του χρόνου επώασης και/ή τη μείωση της θερμοκρασίας επώασης (4°C)

Τεχνικές προσρόφησης και έκλουσης,

Επεξεργασία των ερυθρών με πρωτεολυτικά ένζυμα

Προσδιορισμός αλληλουχίας των γονιδίων ΑΒΟ
(μοριακός έλεγχος)

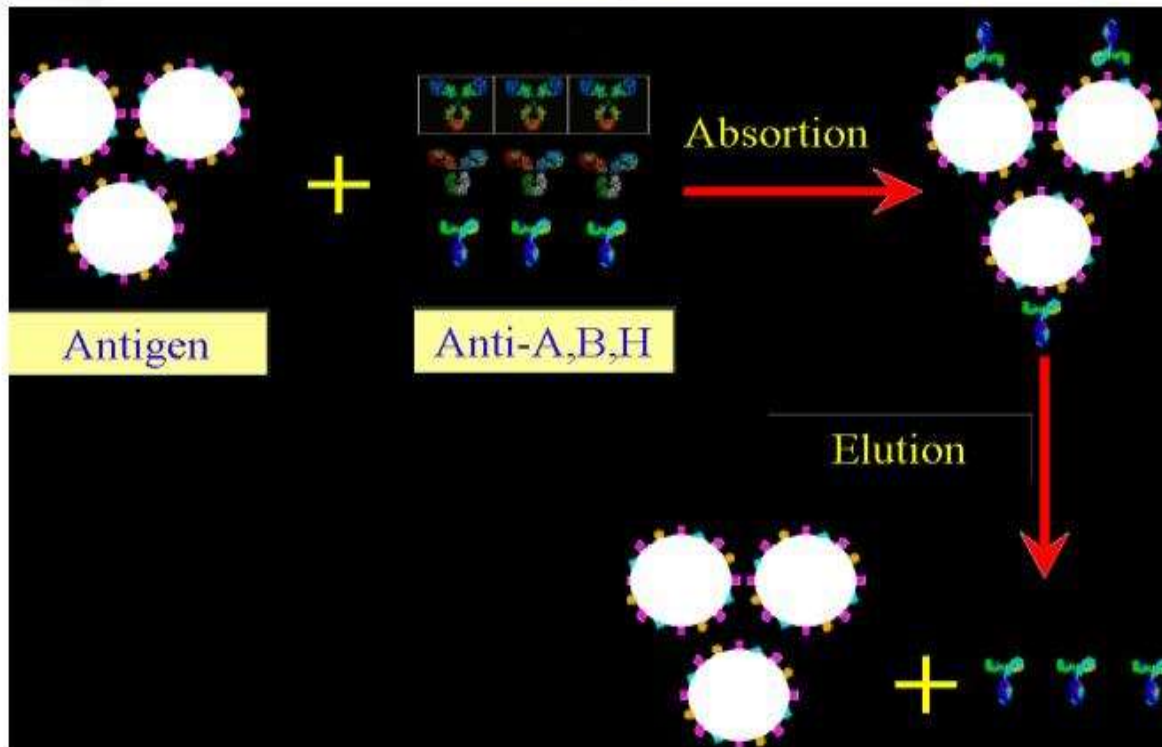
Φαινότυποι ασθενών υποομάδων ABO

Επίλυση της ασυμφωνίας ABO λόγω έλλειψης αντιγόνων ABO



Absorption Elution method

Principle



1ο βήμα Στην προσρόφηση γίνεται επώαση των πλυμένων RBC με αντιορούς αντι-A ή αντι-B στους 4οC για 1 h.

2ο βήμα Το δείγμα φυγοκεντρείται και απορρίπτεται το υπερκείμενο

3ο βήμα Αφού πλυθούν πολύ καλά τα ερυθρά ακολουθεί η διαδικασία της έκλουσης με θερμότητα (56° C) προκειμένου να ανακτηθούν τα αντισώματα

4ο βήμα Το έκλουμα και το υπερκείμενο από το τελευταίο πλύσιμο ελέγχονται παράλληλα με γνωστά ερυθρά A, B, και O

Φαινότυποι ασθενών αντιγόνων Α και Β

Επίλυση της ασυμφωνίας ΑΒΟ λόγω έλλειψης αντιγόνων ΑΒΟ

Με ενίσχυση της θερμοκρασίας

1



1 σταγόνα αντι-Α
+
1 σταγόνα εναιωρήματος ερυθρών
2%-5%

2

Επώαση για 30 min σε
θερμοκρασία δωματίου
και στους 4° C

3

φυγοκέντρωση

4

1 σταγόνα αντι-Β
+
1 σταγόνα εναιωρήματος ερυθρών
2%-5%

Ελέγχεται η παρουσία
συγκολλήσεων



Φαινότυποι « ασθενών αντιγόνων Α και Β

Επίλυση της ασυμφωνίας ΑΒΟ λόγω έλλειψης αντιγόνων ΑΒΟ

Μοριακός έλεγχος

Οι ασυμφωνίες κατά την τυποποίηση των ομάδων αίματος ΑΒΟ προκαλούνται συχνά από μία μετάλλαξη του γονιδίου ΑΒΟ . Η μοριακή ανάλυση μπορεί να βοηθήσει στον εντοπισμό τέτοιων μεταλλάξεων

Ενίσχυση μιας αλληλουχίας γονιδίου στόχου μέσω PCR

Οι συνήθεις χρησιμοποιούμενες μέθοδοι είναι η PCR με εκκινητή συγκεκριμένης αλληλουχίας (SSP-PCR) και η PCR συγκεκριμένου αλληλίου (AS-PCR)

Η σημασία της σωστής τυποποίησης υποομάδων ABO στην ασφαλή μετάγγιση αίματος



Η διαφοροποίηση των αδύναμων υποομάδων του «Α» με ορολογικές αναλύσεις είναι δυνατή σε μεγάλο βαθμό, ωστόσο, ο μοριακός γονότυπος είναι απαραίτητος γιατί επιβεβαιώνει το αποτέλεσμα

Η λανθασμένη τυποποίηση αδύναμων υποομάδων ως ομάδα "Ο" οδηγεί σε (α) αναφορά λανθασμένης ομάδας αίματος ABO στον δότη, (β) μονάδες ερυθρών αιμοσφαιρίων εσφαλμένα χαρακτηρίζονται ως "Ο" και λανθασμένα μεταγγίζονται σε ασθενή της ομάδας "Ο" με αποτέλεσμα την αιμολυτική αντίδραση μετάγγισης και (γ) ασθενής με αδύναμη υποομάδα που τυποποιείται λανθασμένα ως «Ο» και μεταγγίζεται με «Ο» ολικό αίμα μπορεί να παρουσιάσει ανεπιθύμητη αντίδραση μετάγγισης.

Επιπλέον, απροσδόκητο φυσικό αντι- A_1 μπορεί να προκαλέσει ασυμφωνία στην ομάδα ABO, να παρέμβει στη δοκιμή συμβατότητας και εάν δεν ανιχνευθεί μπορεί να προκαλέσει αντίδραση μετάγγισης εάν είναι κλινικά σημαντικό.

Η σημασία της σωστής τυποποίησης υποομάδων ABO στην ασφαλή μετάγγιση αίματος



Η σωστή τυποποίηση της ομάδας αίματος του ασθενούς είναι σημαντική για περαιτέρω μεταγγίσεις . Σε περιπτώσεις ασθενών υποομάδων συνιστάται η μετάγγιση συμπυκνωμάτων ερυθρών αιμοσφαιρίων της ομάδας αίματος O . Από την άλλη πλευρά, ως αιμοδότες, οι φορείς τέτοιων παραλλαγών ABO θα πρέπει να ταξινομηθούν σωστά στην ομάδα αίματος A ή B καθώς τα ασθενή αντιγόνα A ή B θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε ανοσολογική αντίδραση μετάγγισης σε λήπτες μη συμβατής ομάδας

Συνοψίζοντας

Γενικός κανόνας

Κάθε ασυμφωνία ABO πρέπει να επιλύεται

- A) Για ασθενείς : η ασυμφωνία θα πρέπει να επιλυθεί πριν ο ασθενής μεταγγιστεί με αίμα ή με παράγωγα αυτού. Αν απαιτείται επείγουσα μετάγγιση , τότε μεταγγίζουμε με O (-) (αν η ασυμφωνία υπάρχει και στον παράγοντα Rhesus)
- B) Για αιμοδότες : θα πρέπει να επιλυθεί η ασυμφωνία πριν το αίμα διατεθεί



Τέλος τα σχολεία...
Καλό
Καλοκαίρι !!



Καλημέρα !!!

