

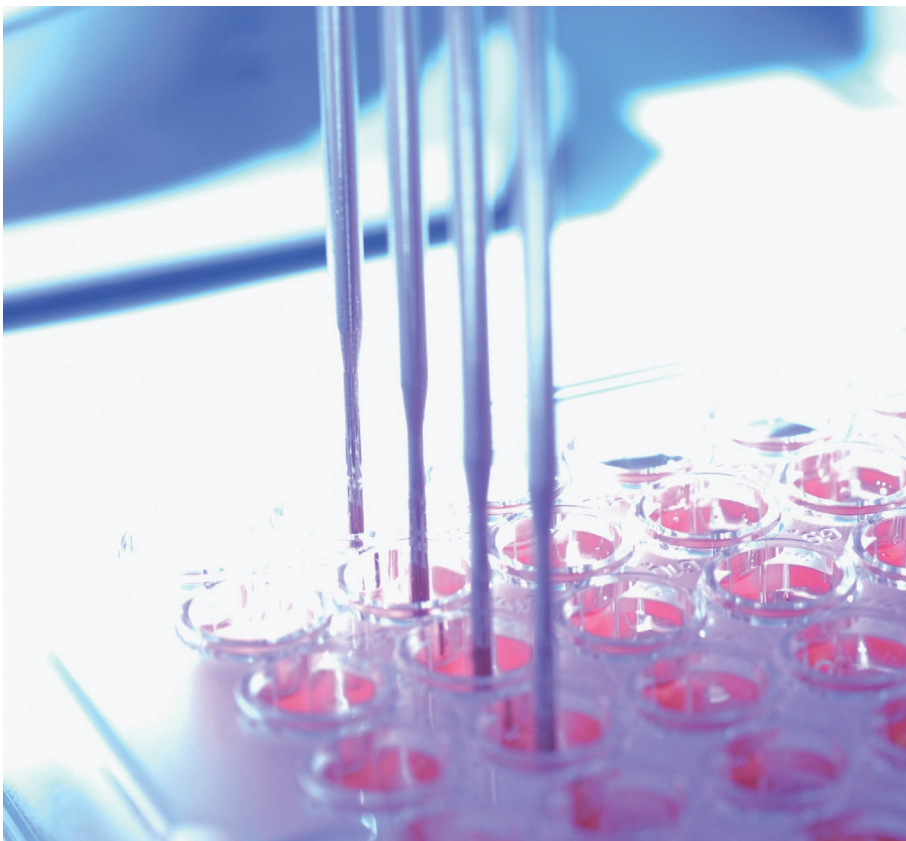
Miroslav Penka, Eva Tesařová a kolektiv

---

# Hematologie a transfuzní lékařství II

## Transfuzní lékařství

---





Miroslav Penka, Eva Tesařová a kolektiv

---

# **Hematologie a transfuzní lékařství II**

## **Transfuzní lékařství**

---

**Upozornění pro čtenáře a uživatele této knihy**

Všechna práva vyhrazena. Žádná část této tištěné či elektronické knihy nesmí být reprodukována a šířena v papírové, elektronické či jiné podobě bez předchozího písemného souhlasu nakladatele. Neoprávněné užití této knihy bude **restně stíháno**.

Prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc., MUDr. Eva Tesařová a kolektiv

## **HEMATOLOGIE A TRANSFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ II**

### **TRANSFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ**

**Vedoucí autorského kolektivu:**

MUDr. Eva Tesařová – Transfuzní a tkáňové oddělení FN Brno

**Autorský kolektiv:**

RNDr. Libuše Janků – Transfuzní a tkáňové oddělení FN Brno

MUDr. Hana Lejdarová – Transfuzní a tkáňové oddělení FN Brno

RNDr. Rita Pacasová, Ph.D. – Transfuzní a tkáňové oddělení FN Brno

MUDr. Alena Pejchalová – Transfuzní a tkáňové oddělení FN Brno

MUDr. Eva Tesařová – Transfuzní a tkáňové oddělení FN Brno

**Recenze:**

MUDr. Jiří Masopust

MUDr. Renata Procházková, Ph.D.

Vydání odborné knihy schválila Vědecká redakce nakladatelství Grada Publishing, a.s.

Autorky děkují paní Mgr. Olze Kopalové, vedoucí odborné redaktorce, za spolupráci při vzniku této publikace, paní Janě Řehákové, DiS., za pomoc při technické realizaci obrazové přílohy ke kapitole 1, oběma recenzentům a všem sponzorům, kteří vydání publikace finančně podpořili.

---

### **TIRÁŽ TIŠTĚNÉ PUBLIKACE:**

© Grada Publishing, a.s., 2012

Obrázky 1.1–1.18, 1.20–1.23, 1.25–1.34, 2.1–2.5, 4.1 podle podkladů autorek přeskreslila Jana Řeháková, DiS.

Ostatní obrázky dodaly autorky.

Cover Photo © fotobanka allphoto, 2012

Vydala Grada Publishing, a.s., U Průhonu 22, Praha 7

jako svou 5007. publikaci

Odpovědný redaktor Mgr. Luděk Neužil

Sazba a zlom Jana Řeháková, DiS.

Počet stran 192 + 16 stran barevné přílohy

1. vydání, Praha 2012

Vytiskly Tiskárny Havlíčkův Brod, a. s.

*Názvy produktů, firem apod. použité v knize mohou být ochrannými známkami nebo registrovanými ochrannými známkami příslušných vlastníků, což není zvláštním způsobem vyznačeno.*

*Postupy a příklady v této knize, rovněž tak informace o lécích, jejich formách, dávkování a aplikaci jsou sestaveny s nejlepším vědomím autorů. Z jejich praktického uplatnění ale nevyplývají pro autory ani pro nakladatelství žádné právní důsledky.*

**ISBN 978-80-247-3460-6**

---

### **ELEKTRONICKÉ PUBLIKACE:**

**ISBN 978-80-247-7901-0 (pro formát PDF)**

**ISBN 978-80-247-7904-1 (pro formát EPUB)**

# Obsah

Předmluva .....	9
Seznam použitých zkratk a jejich význam .....	11
<b>1 Imunologie erytrocytů (A. Pejchalová) .....</b>	<b>17</b>
1.1 Obecná imunohematologie .....	17
1.1.1 Imunitní systém .....	17
1.1.2 Antigeny .....	17
1.1.3 Protilátky .....	18
1.1.4 Komplementový systém .....	20
1.1.5 Reakce antigenu s protilátkou .....	22
1.1.6 Imunohematologické testy .....	24
1.2 Krevní skupiny .....	27
1.2.1 ABO systém .....	28
1.2.2 Rh systém .....	33
1.2.3 Ostatní krevní skupiny .....	40
1.3 Předtransfuzní vyšetření .....	45
1.3.1 Vyšetření krevní skupiny (stanovení krevní skupiny ABO a antigenu D) .....	47
1.3.2 Screeningové vyšetření nepravidelných protilátek proti erytrocytům .....	48
1.3.3 Test kompatibility .....	49
1.3.4 Mimořádné situace při předtransfuzním vyšetření .....	53
1.4 Imunohematologické vyšetření v těhotenství .....	54
1.5 Hemolytické onemocnění novorozence .....	55
1.5.1 Imunohematologické vyšetření novorozence .....	58
1.5.2 Léčba hemolytického onemocnění novorozence .....	59
1.5.3 Prevence hemolytického onemocnění novorozence .....	60
1.6 Autoimunitní hemolytické anémie .....	60
1.6.1 Dělení autoimunitních hemolytických anémií .....	61
1.7 Imunohematologická vyšetření dárce krve .....	65
1.7.1 Vyšetření krevní skupiny .....	65
1.7.2 Detekce nepravidelných protilátek proti erytrocytům .....	66
1.8 Kontroly kvality v imunohematologické laboratoři .....	66
<b>2 HLA systém, imunologie leukocytů a trombocytů (L. Janků) .....</b>	<b>69</b>
2.1 HLA systém .....	69
2.1.1 Definice HLA systému, historie objevů HLA .....	69
2.1.2 Struktura molekul HLA I. třídy .....	70
2.1.3 Struktura molekul HLA II. třídy .....	71
2.1.4 Genetická organizace HLA systému .....	72
2.1.5 Dědičnost HLA systému .....	74
2.1.6 Crossing-over, rekombinace HLA haplotypů .....	74
2.1.7 Vazebná nerovnováha .....	75

2.1.8	Polymorfismus HLA systému.....	76
2.1.9	Nomenklatura HLA systému.....	76
2.1.10	HLA systém a choroby.....	78
2.1.11	HLA systém a transplantace.....	80
2.1.12	Význam HLA systému.....	83
2.1.13	Typizace HLA systému.....	84
2.2	Imunologie leukocytů.....	86
2.2.1	HLA antigeny leukocytů.....	86
2.2.2	Klinické symptomy způsobené anti-HLA protilátkami.....	87
2.2.3	HNA antigeny (human neutrophil antigens).....	87
2.2.4	Klinické symptomy způsobené anti-HNA protilátkami.....	88
2.2.5	Způsoby detekce anti-HNA protilátek.....	89
2.2.6	HMA antigeny (human monocyte antigens).....	89
2.3	Imunologie trombocytů.....	90
2.3.1	HPA antigeny (human platelet antigens).....	90
2.3.2	Klinické symptomy způsobené antitrombocytárními protilátkami... ..	91
2.3.3	Screeningové testy pro detekci antitrombocytárních protilátek.....	92
<b>3</b>	<b>Výroba transfuzních přípravků (R. Pacasová).....</b>	<b>95</b>
3.1	Dárcovství krve (H. Lejdarová).....	95
3.1.1	Obecné principy dárcovství krve.....	95
3.1.2	Postup při odběru krve.....	96
3.1.3	Kritéria pro přijetí dárců krve.....	96
3.1.4	Kritéria pro vyloučení dárců krve.....	97
3.1.5	Typy odběrů krve.....	99
3.1.6	Patofyziologie odběrů krve.....	101
3.1.7	Registry dárců krve.....	102
3.2	Autotransfuze (E. Tesařová).....	103
3.2.1	Předoperační autologní odběr.....	103
3.2.2	Akutní normovolemická hemodiluce.....	106
3.2.3	Perioperační sběr krve.....	107
3.3	Principy výroby transfuzních přípravků (R. Pacasová).....	107
3.3.1	Vstupní materiál pro výrobu transfuzních přípravků.....	107
3.3.2	Odběrový materiál.....	107
3.3.3	Konzervace krve a krevních složek.....	108
3.3.4	Zpracování krve.....	111
3.3.5	Deleukotizace transfuzních přípravků.....	113
3.3.6	Ozařování transfuzních přípravků paprsky $\gamma$ .....	114
3.3.7	Dělení transfuzních přípravků.....	114
3.3.8	Promývání transfuzních přípravků.....	114
3.3.9	Metody inaktivace patogenů v transfuzních přípravcích.....	115
3.3.10	Principy značení, dokumentace.....	115
3.3.11	Skladování transfuzních přípravků.....	115
3.3.12	Výdej, distribuce a transport transfuzních přípravků.....	116
3.4	Transfuzní přípravky (R. Pacasová).....	117
3.4.1	Erytrocytové transfuzní přípravky.....	118
3.4.2	Trombocytové transfuzní přípravky.....	119

3.4.3	Plazmatické transfuzní přípravky .....	120
3.4.4	Ostatní typy transfuzních přípravků .....	121
3.5	Plazma pro frakcionaci ( <i>E. Tesařová</i> ) .....	121
3.5.1	Frakcionace plazmy .....	121
3.5.2	Metody inaktivace a eliminace patogenů v krevních derivátech ...	122
3.5.3	Krevní deriváty vyrobené z lidské krevní plazmy .....	123
3.5.4	Krevní deriváty vyrobené rekombinantními technikami .....	123
3.6	Kontroly kvality v zařízeních transfuzní služby ( <i>R. Pacasová</i> ) .....	123
3.6.1	Vyšetření vzorků krve dárce při odběru .....	124
3.6.2	Kontroly kvality meziproduktů a kontroly kvality transfuzních přípravků .....	126
3.6.3	Kontroly účinnosti dezinfekce místa venepunkce před odběrem ...	127
3.6.4	Kontroly procesu odběru a zpracování .....	127
3.6.5	Kontroly čistoty výrobních prostor .....	128
3.6.6	Kontroly dodaných materiálů pro odběry, zpracování a pro kontroly jakosti .....	128
<b>4</b>	<b>Hemoterapie (<i>E. Tesařová</i>) .....</b>	<b>131</b>
4.1	Historie léčby krví .....	131
4.1.1	Krev ve starověku .....	131
4.1.2	První pokusy s transfuzemi .....	131
4.1.3	Objev krevního oběhu, převody zvířecí krve .....	131
4.1.4	Začátky transfuzí lidské krve .....	132
4.1.5	Objev krevních skupin .....	132
4.1.6	Konzervace krve .....	133
4.1.7	Moderní éra .....	133
4.2	Léčba transfuzními přípravky .....	134
4.2.1	Erytrocyty .....	135
4.2.2	Trombocyty .....	136
4.2.3	Plazma pro klinické použití .....	139
4.2.4	Kryoprotein (kryoprecipitát) .....	140
4.2.5	Granulocyty .....	140
4.2.6	Masivní transfuze .....	140
4.2.7	Aplikace transfuze .....	141
4.2.8	Léčba pacientů dětského věku .....	143
4.3	Léčba krevními deriváty .....	148
4.3.1	Krevní deriváty s obsahem faktoru VIII .....	148
4.3.2	Krevní deriváty s obsahem faktoru VIII a von Willebrandova faktoru .....	149
4.3.3	Krevní deriváty s obsahem faktoru IX .....	149
4.3.4	Krevní deriváty s obsahem faktorů protrombinového komplexu ...	150
4.3.5	Krevní deriváty s obsahem faktoru VII .....	150
4.3.6	Krevní deriváty s obsahem fibrinogenu .....	151
4.3.7	Krevní deriváty s obsahem aktivovaných faktorů protrombinového komplexu .....	152
4.3.8	Krevní deriváty s obsahem rekombinantního aktivovaného faktoru VII .....	153

4.3.9	Krevní deriváty s obsahem koncentrátu antitrombinu .....	153
4.3.10	Krevní deriváty s obsahem koncentrátu proteinu C .....	153
4.3.11	Krevní deriváty s obsahem albuminu.....	154
4.3.12	Krevní deriváty s obsahem imunoglobulinů .....	154
4.3.13	Tkáňová lepidla.....	157
4.3.14	Balení, skladování, rekonstituce krevních derivátů .....	157
4.4	Komplikace hemoterapie .....	159
4.4.1	Akutní hemolytická potransfuzní reakce .....	160
4.4.2	Febrilní nehemolytická potransfuzní reakce.....	161
4.4.3	Alergická potransfuzní reakce.....	161
4.4.4	Anafylaktická potransfuzní reakce.....	162
4.4.5	Bakteriálně toxická potransfuzní reakce .....	162
4.4.6	Reakce TRALI (transfusion related acute lung injury).....	163
4.4.7	Reakce TACO (transfusion associated circulatory overload) .....	164
4.4.8	Hypotermie .....	164
4.4.9	Hyperkalemie .....	164
4.4.10	Citrátová toxicita.....	164
4.4.11	Pozdní hemolytická potransfuzní reakce .....	165
4.4.12	Potransfuzní purpura .....	165
4.4.13	Reakce TA-GvHD (transfusion associated graft versus host disease).....	166
4.4.14	Přenos virů.....	166
4.4.15	Přenos parazitů .....	167
4.4.16	Přenos prionů .....	168
4.4.17	Potransfuzní hemosideróza .....	168
4.4.18	Tvorba inhibitorů.....	169
4.4.19	Toxicita plastických hmot.....	169
4.4.20	Procesní chyby.....	170
4.4.21	Nežádoucí účinky po podání krevních derivátů .....	170
4.5	Hemovigilance .....	170
4.6	Krizová krevní politika.....	172
<b>Historie léčby krví v datech (E. Tesařová) .....</b>		<b>179</b>
<b>Rejstřík .....</b>		<b>181</b>
<b>Souhrn .....</b>		<b>191</b>
<b>Summary .....</b>		<b>192</b>



## Předmluva

Druhý díl publikace *Hematologie a transfuzní lékařství* předkládá text z oboru transfuzního lékařství, který je psán s didaktickým záměrem seznámit čtenáře s problematikou oboru a se základními postuláty hemoterapie, včetně specifík ve vztahu k péči o novorozence a děti vůbec. Jedná se o přehled, který definuje obzor základních vědomostí oboru a vymezuje platný legislativní rámec pro činnost zařízení transfuzní služby v České republice. Autorský kolektiv byl sestaven z odborníků vlastního pracoviště Fakultní nemocnice Brno, recenzemi byli pověřeni erudovaní kolegové s letitými praktickými zkušenostmi, kteří pravidelně v oboru transfuzního lékařství publikují.

Text publikace je rozdělen do čtyř logických celků, a to imunologie erytrocytů, imunologie leukocytů a trombocytů, včetně problematiky HLA systému, výroba transfuzních přípravků a hemoterapie. V kapitole hemoterapie je stručně popsána metodika zásobování nemocnic transfuzními přípravky v průběhu hromadných katastrof s postižením velkého počtu osob. Zároveň je v kapitole vymezena časová osa hemoterapie, kterou pro přehlednost určují významná historická data. Pro zvýšení didaktického účinku obsahuje publikace řadu schémat a obrázků, seznam zkratk a rejstřík.

Dovoluji si doufat, že publikace pomůže čtenářům proniknout do složité problematiky transfuzního lékařství, které v současnosti představuje průsečík několika lékařských specializací a mnoha vědních oborů.

Svým spoluautorům a recenzentům děkuji za úsilí, které vzniku publikace věnovali. Moje poděkování patří také sponzorům, kteří vydání této publikace finančně podpořili.

*Eva Tesařová*



## Seznam použitých zkratek a jejich význam

Ab	antibody (protilátka)
ABO	skupinový systém erytrocytů ABO
ACD	1. antikoagulační roztok (acidum citricum, citrate, dextrose) 2. anaemia of chronic diseases (anémie chronických chorob)
ACE	acetylcholinesteráza
ADP	adenosindifosfát
ADSOL	adenine and dextrose solution (konzervační roztok)
Ag	antigen
AGH	antiglobulinum humanum (antiglobulinové sérum)
AIDS	acquired immunodeficiency syndrom (syndrom získané lidské imunodeficience)
AIHA	autoimunitní hemolytická anémie
ALI	acute lung injury (akutní poškození plic)
AMP	adenosinmonofosfát
ANH	akutní normovolemická diluce
APC	antigen presenting cell (antigen prezentující buňka)
ARIP	anesteziologie, resuscitace a intenzivní péče
ATP	adenosintrifosfát
C	komplement
C1-C9	složky komplementu
CCI	corrected count increment (pře počítaný vzestup počtu trombocytů po transfuzi)
CJD	Creutzfeldt-Jacob disease (Creutzfeldtova-Jacobova choroba)
CMV	cytomegalovirus
CPD	antikoagulační roztok (citrate, phosphate, dextrose)
CPDA	antikoagulační roztok (citrate, phosphate, dextrose, adenine)
CSF	colony stimulating factor
ČČK	Český červený kříž
ČLS JEP	Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně
ČR	Česká republika
D variant	parciální D-antigen
D weak	slabý D-antigen
DAF	decay accelerating factor
DDAVP	1-deamino-8-D-arginin vazopresin
DEPH	di(2-etylhexyl)ftalát
DIFT	destičkový imunofluorescenční test
Di <sup>a</sup>	antigen erytrocytů Diego (a)
DIC	disseminated intravascular coagulopathy (diseminovaná intravaskulární koagulace)
Di <sup>b</sup>	antigen erytrocytů Diego (b)
DMSO	dimetylsulfoxid
DNA	kyselina deoxyribonukleová
Do <sup>a</sup>	antigen erytrocytů Dombrock (a)

Do <sup>b</sup>	antigen erytrocytů Dombrock (b)
DP	double population (dvojí populace erytrocytů)
EBR	erytrocyty bez buffy coatu resuspendované
EBV	virus Epstein-Barr
EIA	enzymová imunoanalýza
ELFO	elektroforéza
ELISA	enzyme linked immunosorbent assay
EU	Evropská unie
FI	faktor I, fibrinogen
FEIBA	factor eight inhibitor bypassing activity
FVIII: C	koagulační aktivita faktoru VIII
FV	faktor V
FCM	flowcytometry (průtoková cytometrie)
FFP	fresh frozen plasma (čerstvá zmražená plazma)
FITC	fluorescein izothiocyanát
FMAIT	fetomaternální aloimunitní trombocytopenie
FMH	fetomaternal haemorrhage (fetomaternální krvácení)
FHTR	febrile haemolytic transfusion reaction
FNHTR	febrile nonhaemolytic transfusion reaction
FSF	fibrin stabilizující faktor (faktor XIII)
FTA	fluorescence Treponema absorbtion
FUT	fukosyltransferáza
Fy <sup>a</sup>	antigen systému Duffy (a)
Fy <sup>b</sup>	antigen systému Duffy (b)
GA	granuloaglutinační test
GCT	granulocytotoxický test
GIFT	granuloimunofluorescenční test
GP	glykoprotein
GvHD	graft versus host disease (reakce štěpu proti hostiteli)
HBV	hepatitis B virus (virus hepatitidy B)
HBsAg	povrchový antigen viru hepatitidy B
Hc	hematokrit cílový
HCV	hepatitis C virus (virus hepatitidy C)
HHV	human herpes virus
HIV	human immunodeficiency virus (virus lidské imunodeficiency)
HIT	heparinem indukovaná trombocytopenie
HLA	human leukocyte antigen (lidský hlavní histokompatibilní systém)
HMA	human monocyte antigen
HNA	human neutrophil antigen
HOFN	hemolytické onemocnění fetu a novorozence
HON	hemolytické onemocnění novorozence
HPA	human platelet antigen
Hs	hematokrit střední
HSV	herpes simplex virus
Hv	hematokrit výchozí

HVLP	hromadně vyráběný léčivý přípravek
ICHS	ischemická choroba srdeční
Ig	imunoglobulin
INR	international normalised ratio (mezinárodní normalizovaný poměr)
i.m.	intramuskulární aplikace
IMIG	imunoglobuliny pro intramuskulární aplikaci
ITP	imunitní trombocytopenie
ITT	immune tolerance therapy (imunotoleranční léčba)
IU	international unit (mezinárodní jednotka)
IUT	intrauterinní transfuze
i.v.	intravenózní aplikace
IVIG	imunoglobuliny pro intravenózní aplikaci
IVLP	individuálně vyráběný léčivý přípravek
Jk <sup>a</sup>	antigen systému Kidd (a)
Jk <sup>b</sup>	antigen systému Kidd (b)
KTC	krizové transfuzní centrum
LDH	laktát dehydrogenáza
LISS	low ionic strength salt solution (solný roztok s nízkou iontovou silou)
LISS NAT	nepřímý antiglobulinový test s použitím LISS
Le <sup>a</sup>	antigen systému Lewis (a)
Le <sup>b</sup>	antigen systému Lewis (b)
Lu <sup>a</sup>	antigen systému Lutheran (a)
Lu <sup>b</sup>	antigen systému Lutheran (b)
MAC	membrane attack complex
MAIPA	monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens
MASP	MBL-associated serine proteases
MBL	mannose binding lectin
MEIA	enzymová imunoanalýza na mikročásticích
MF	mixed field (smíšená populace, smíšené reakce)
MHC	major histocompatibility complex (hlavní histokompatibilní systém)
MZ	ministerstvo zdravotnictví
NaCl	chlorid sodný, fyziologický roztok
NAIN	novorozenecká aloimunitní neutropenie
NAIT	novorozenecká aloimunitní trombocytopenie
NAT	1. nepřímý antiglobulinový test 2. nucleic acid amplification techniques (metoda amplifikace nukleových kyselin)
NEC	nekrotizující enterokolitida
NK	1. natural killer (NK buňka) 2. nukleová kyselina
NRL	Národní referenční laboratoř
OBI	occult (hepatitis) B infection
PAMPS	pathogen associated molecular patterns

PAO	předoperační autologní odběr
PAT	přímý antiglobulinový test
PAS	platelet aditive solution (náhradní roztok pro skladování trombocytů)
PEG	polyetylen glykol
PCH	paroxyzmální chladová hemoglobinurie
PCR	polymerase chain reaction (polymerázová řetězová reakce)
PCR-SSO	PCR s následnou hybridizací se sekvenčně specifickými oligonukleotidy
PCR-SSP	PCR se sekvenčně specifickými primery
PE	phycoerythrin
PID	primární imunodeficience
PIGA	gen kódující změny u paroxyzmální noční hemoglobinurie
PNH	paroxyzmální noční hemoglobinurie
plt	platelets (trombocyty)
PSK	perioperační sběr krve
PT	prothrombin time (protrombinový čas)
PTP	potransfuzní trombocytopenická purpura
PVC	polyvinylchlorid
q PCR	quantitative polymerase chain reaction
RIA	radio immuno assay
Rh	skupinový systém erytrocytů Rhesus
rhG-CSF	rekombinantní faktor stimulující granulocyty
RhIg	anti-D imunoglobulin (Rh imunoglobulin)
RNA	kyselina ribonukleová
RRR	rychlá reagínová reakce
rt PCR	real time polymerase chain reaction
SAGM	konzervační roztok (solution of adenine, glukose, mannitol)
SBT	sequencing based typing
s.c.	subkutánní aplikace
SCIG	imunoglobuliny pro subkutánní aplikaci
SD	solvent detergent
SID	sekundární imunodeficience
SMP	small membrane protein
SOP	standardní operační postup
SPC	statistic process control (statistická analýza procesu)
SPHA	solid phasis haemadsorbition
SSPt	náhradní resuspenzní roztok pro trombocyty
STL	Společnost pro transfuzní lékařství
SZÚ	Státní zdravotní ústav
TACO	transfusion acute circulatory overload
TAD	trombocyty z aferézy deleukotizované
TA-GvHD	transfusion associated graft versus host disease (reakce štěpu proti hostiteli vázaná na transfuzi)
TBBV	total body blood volum (objem cirkulující krve)
T.D.	terapeutická dávka
TIBC	total iron binding capacity (celková vazebná kapacita železa)

TNF	tumor necrosis factor
TP	transfuzní přípravek
TPHA	Treponema passive hemagglutination
TP-PA	Treponema pallidum particule aglutination
TRALI	transfusion related acute lung injury
TSE	transmisivní spongiformní encefalopatie
TTI	transfusion transmitted infection
TTD	transfusion transmitted diseases
TTP	trombotická trombocytopenická purpura
T.U.	transfuzní jednotka
ÚILC	Ústřední informační a logistické centrum
UV	ultraviolet (ultrafialové záření)
v.	véna (žíla)
vCJD	variant Creutzfeldt-Jacob disease (variantní forma Creutzfeldtovy-Jacobovy choroby)
vWF	von Willebrandův faktor
vWF:Ag	antigen von Willebrandova faktoru
vWF:RCof	ristocetin kofaktor, kofaktor von Willebrandova faktoru
VZV	varicella zoster virus
WNV	west Nile virus
WHO	World Health Organisation (Světová zdravotnická organizace)
Yt <sup>a</sup>	antigen erytrocytů Cartwright (a)
Yt <sup>b</sup>	antigen erytrocytů Cartwright (b)
ZTS	zařízení transfuzní služby
ZULP	zvláště účtovaný léčivý přípravek
ZZ	zdravotnické zařízení





# 1 Imunologie erytrocytů

(A. Pejchalová)

## 1.1 Obecná imuno hematologie

### 1.1.1 Imunitní systém

Imunitní systém zajišťuje obranu organismu proti cizorodým molekulám. Základní funkcí imunitního systému je obranyschopnost, autotolerance a imunitní dohled. Formy imunity lze rozlišit na přirozenou a získanou.

**Přirozená (nespecifická, vrozená) imunita** je první linií obrany. Je založená na mechanismech, které jsou stejně účinné proti různým antigenům, reaguje během minut až hodin. Patří k ní faktory mechanické, které zabraňují vstupu mikroorganismů do těla (kůže, sliznice), faktory chemické a biologické (opsoniny, fyziologická mikrobiální flóra), faktory humorální (komplementový systém, lysozymy, interferony), fagocytující buňky (monocyty/makrofágy, neutrofilny), bazofily, eozinofily, žírné buňky, trombocyty a NK buňky. Receptory těchto buněk rozpoznávají cizorodé molekuly (PAMPS) a buňky imunitního systému patogeny ničí.

**Získaná (specifická, adaptivní) imunita** je pomalejší, reaguje v průběhu dnů a je antigenně specifická. Je pro ni charakteristický vznik protilátek a buňkami zprostředkovaná odpověď na antigeny v situacích, kdy buňky imunitního systému obsahují receptor pro daný antigen. Má schopnost imunologické paměti. V koordinaci této odpovědi hrají svoji roli různé signální molekuly, kterými jsou lymfokiny, cytokiny či chemokiny. K buňkám adaptivní imunity patří **B a T lymfocyty**. Po expozici antigenu proliferují B lymfocyty, které se diferencují do plazmatických buněk s tvorbou protilátek (imunoglobulinů) a vznikají paměťové buňky. Podobně se T lymfocyty po rozpoznání antigenu diferencují do  $T_c$  nebo  $T_h$  lymfocytů.

Zvláštním druhem buněk jsou specializované buňky dendritické a makrofágy (APC), které jsou schopné štěpit antigeny na peptidy a ve spojení s molekulami hlavního histokompatibilního komplexu (MHC) je předkládat T lymfocytům.

B lymfocyty rozeznávají solubilní antigeny proteinové a polysacharidové, některé lipidy, nukleové kyseliny a hapteny. T lymfocyty rozpoznávají nerozpustné proteinové antigeny, a to ve spojení s MHC I. nebo II. třídy pro lymfocyty  $T_c$  nebo  $T_h$ . Protilátky se uplatňují v obraně proti extracelulárním (exogenním) antigenům, které neutralizují, opsonizují nebo vedou k aktivaci komplementu a lýze patogenů. V obraně proti intracelulárním (endogenním) patogenům se uplatňuje buňkami zprostředkovaná cytotoxická odpověď s účastí T lymfocytů.

### 1.1.2 Antigeny

**Imunogen** je substance, která navodí imunitní odpověď.

**Antigen** je substance, která reaguje s produkty specifické imunitní odpovědi (protilátkami).

**Hapten** je malá molekula, která je antigenní, ale nikoli imunogenní, avšak po vazbě na imunogenní nosič může vést k tvorbě protilátek.

**Epitop** je část antigenu, na kterou se naváže produkt specifické odpovědi (protilátka).

**Protílátka** je specifický protein, který vznikl jako odpověď na imunogen a který reaguje s antigenem.

**Imunogenicitá** (navození imunitní odpovědi) je závislá na cizorodosti patogenní molekuly. Imunitní systém rozlišuje za normálních okolností vlastní a cizí a reaguje na cizí molekuly, na jejich velikost (větší molekula je silnějším imunogenem) a složení (složené komplexy jsou více imunogenní), na fyzikální formu antigenu (solubilní antigen je méně imunogenní než pevná částice) a na způsob odstraňování antigenu z organismu (fagocytované molekuly jsou více imunogenní). O imunogenicitě rozhoduje také způsob podání antigenu (např. intravenózní, subkutánní) a množství podané substance.

**Antigenicitá** je schopnost antigenu specificky vázat protilátky nebo receptory T lymfocytů (obr. 1.1 v barevné příloze). Lze konstatovat, že všechny imunogeny jsou antigeny, ale ne všechny antigeny jsou imunogenní. V imuno hematologii se uplatňují převážně antigeny nezávislé na T lymfocytech, které přímo aktivují B lymfocyty a nevyžadují pro tvorbu protilátky pomoc T buněk (které jsou vyžadované u reakce na proteinové antigeny). Typickým příkladem těchto antigenů jsou polysacharidové antigeny krevních skupin. Antigen je rozpoznán protilátkou nebo B lymfocylem na základě uspořádání jeho molekuly v místě zvaném epitop (antigenní determinant). Následně tento antigen vyvolá polyklonální aktivaci B lymfocytů, kdy různé klony lymfocytů specifických pro daný antigen sekretují polyklonální protilátky, respektive heterogenní směs protilátek, kdy každá protilátka je specifická pro různé epitopy antigenu.

Kromě polyklonálních protilátek mohou vznikat také monoklonální protilátky, tvořené jediným B buněčným klonem. Ty mají stejný izotyp, tzn. obsahují stejný těžký imunoglobulinový řetězec, jsou biochemicky shodné a rozpoznávají stejný antigenní epitop.

Monoklonální protilátky lze vyrobit pomocí konstrukce hybridomu, tzn. izolací klonu B lymfocytů, který produkuje protilátku žádané specifity a jeho dalším pěstováním v buněčné kultuře. Výsledkem této fúze buněk je hybridom, který tvoří stejné protilátky jako původní lymfocyt. V imuno hematologii se monoklonální protilátky používají k diagnostickým účelům (diagnostická séra). Přínosné je však i jejich léčebné použití. Jiným typem reagentů používaných v imuno hematologických laboratořích jsou lektiny. Jsou to látky, které se podobně jako protilátky připojují ke specifickým antigenům buněk a vedou k aglutinaci. Nejčastěji používané jsou lektiny rostlinné, které reagují s jednoduchými cukry na povrchu buněk, např. s galaktózou, fukózou či galaktosaminem. Nejobvyklejší je jejich diagnostické použití při vyšetřování krevních podskupin.

### 1.1.3 Protílátky

Protílátky v plazmě jsou rozpustnou formou antigenně specifických receptorů B lymfocytů. Protílátky jsou glykoproteiny, které vznikají jako odpověď na imunogen a reagují se specifickými antigeny. Připojují se k antigenům tak, že se každá protilátka váže ke specifickému antigennímu epitopu na základě vzájemné komplementarity („klíč a zámek“) v místech označovaných jako variabilní domény. Proti jednomu epitopu vzniká řada protilátek, každá kopíruje jeho povrch jinak.

Kromě této základní funkce mají imunoglobuliny i jiné efektorové vlastnosti, např. mohou vázat komplement a tím uvolnit biologicky aktivní molekuly a vést k lýze buňky nebo se připojit k jiným buňkám, které pro ně mají receptor (fagocyty, lymfocyty, žírné buňky, buňky placenty) a tyto buňky následně aktivovat k činnosti.

**Základní jednotka imunoglobulinu** se skládá ze dvou stejných lehkých a dvou stejných těžkých řetězců, které jsou spojené disulfidickými vazbami (obr. 1.2 v barevné příloze). Lehké i těžké řetězce sestávají z části variabilní (*Fab*) a konstantní (*Fc*) a jsou stočeny do kompaktních globulí, tzv. domén. Středová část označovaná jako pantová je flexibilní a umožňuje v omezeném rozsahu pohyb *Fab* částí (obr. 1.3 a 1.5 v barevné příloze). V tomto místě lze protilátku štěpit. Proteolytickým štěpením papainem lze získat dva shodné *Fab* fragmenty dvou lehkých a dvou těžkých řetězců, které obsahují vazebná místa pro antigen (přitom každý fragment má jedno místo vazby) a fragment *Fc*, tvořený dvěma těžkými řetězci, který plní efektorovou funkci imunoglobulinu. Při štěpení molekuly imunoglobulinu pepsinem vzniká jeden fragment  $F(ab)_2$ , který má dvě vazebná místa pro antigen a oddělená *Fc* část je rozložena na malé peptidy – proto nemá žádnou efektorovou funkci (obr. 1.4 v barevné příloze).

Podle aminokyseliny v těžkých řetězcích lze imunoglobuliny rozdělit do pěti **imunoglobulinových tříd** na izotypy IgG ( $\gamma$  řetězce), IgM ( $\mu$  řetězce), IgA ( $\alpha$  řetězce), IgD ( $\delta$  řetězce) a IgE ( $\epsilon$  řetězce). Dále je lze diferencovat na podtřídy IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>, IgA<sub>1</sub> a IgA<sub>2</sub>.

Lehké řetězce jsou dvojího typu:  $\kappa$  (kappa) nebo  $\lambda$  (lambda), ty poslední lze také rozlišit na subtypy  $\lambda 1-4$ .

Imunoglobuliny tvoří heterogenní populaci různých tříd a podtříd těžkých řetězců s různými typy a subtypy lehkých řetězců. Každá molekula imunoglobulinu se však liší od jiné protilátkové molekuly vazebným místem pro antigen, pro který je specifická.

V imunohematologii se uplatňují **IgG a IgM protilátky**.

**IgG** se vyskytují jako monomery v plazmě i extravaskulárně a jsou transportovatelné přes placentu do oběhu plodu. Mohou vázat komplement, ale málokdy jej aktivují až k lýze erytrocytů. Aktivace obvykle probíhá po C3 složku. Aktivace komplementu přitom vyžaduje, na rozdíl od IgM, dvě molekuly IgG k tomu, aby mohlo dojít k vazbě C1q složky komplementu na *Fc* fragment protilátek (obr. 1.6 v barevné příloze). Lytická vlastnost IgG je proto poměrně malá. Protilátky IgG se však snadno navazují na jiné buňky (makrofágy, monocyty, leukocyty), které mají receptor pro jejich *Fc* část. Spojením s těmito buňkami protilátka připraví navázaný antigen k odstranění fagocytózou (tzv. opsonizace) v retikuloendoteliálním systému.

**IgM** molekula má řetězce polymerizované do pentameru, dobře váže komplement a je schopná ho aktivovat až k hemolýze. Již jedna molekula IgM stačí k aktivaci komplementu. Z uvedeného důvodu mají IgM protilátky velkou lytickou schopnost, typická je hemolýza po podání AB0 inkompatibilní transfuze. S ohledem na strukturu má IgM velmi dobré aglutinující schopnosti, podobně jako IgG se váže na jiné buňky pomocí *Fc* receptoru. Jako jediný imunoglobulinový typ může IgM protilátku vytvořit za určitých patologických stavů (infekce) již i plod intrauterinně.

Podle příčiny vzniku jsou v imunohematologii protilátky děleny na tzv. **přirozené a imunitní**. U imunitních protilátek se předpokládá, že jejich tvorbě předcházela imunizace jedince erytrocytárními antigeny při transfuzi nebo během těhotenství na rozdíl od přirozených protilátek, které si organizmus vytváří sice také po anti-

genní stimulaci, avšak při běžném kontaktu s antigeny z okolního prostředí. Tyto antigeny bývají chemicky podobné antigenům krevních skupin.

Jiné rozdělení protilátek je na skupiny **aloprotilátek a autoprotilátek**, tedy podle toho, zda se antigen, proti kterému protilátka vznikla, nenachází nebo nachází na erytrocytech daného jedince. Autoprotilátky jsou projevem autoimunity.

Protilátky mohou být také namířené proti konkrétnímu erytrocytárnímu antigenu, ty označujeme jako **specifické** protilátky. **Nespecifické** nebo zkříženě reagující protilátky vykazují širokou reaktivitu s různými nebo podobnými antigeny.

Podle optimální teploty, při které protilátky vážou antigen, lze protilátky rozdělit na **tepelné**, které reagují při tělesné teplotě 37 °C, a **chladové**, které lze nejlépe detekovat v testech při teplotách od 20 °C do 23 °C (tzv. pokojová teplota) nebo při teplotách nižších.

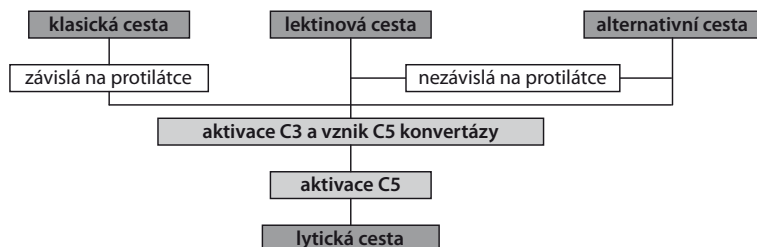
V imunohematologii běžně používané označení protilátky **kompletní a inkompletní** není imunologicky zcela přesné a vyjadřuje pouze vlastnost protilátek aglutinovat erytrocyty. U kompletních protilátek (často IgM) jde o přímou aglutinaci erytrocytů v solném testu, u inkompletních protilátek (IgG) je k vyvolání aglutinace a k jejich průkazu obvykle nutná další „pomoc“ laboratorní úpravou testu, například změnou prostředí, ve kterém je test prováděn.

### 1.1.4 Komplementový systém

Komplement je součástí specifické i nespecifické imunity. Může opsonizovat bakterie při fagocytóze, aktivovat různé typy buněk, účastnit se regulace protilátkové odpovědi, působit při odstranění imunitních komplexů a apoptotických buněk. Na druhé straně však může nepříznivě ovlivňovat organismus v souvislosti se zánětem a poškozením tkání.

Komplementový systém se skládá z dvaceti odlišných sérových proteinů, které syntetizují různé buňky, například hepatocyty, makrofágy a buňky střevního epitelu. Některé složky komplementu se mohou vázat k imunoglobulinům nebo k buněčné membráně. Jiné mají vlastnosti proenzymů, které po své aktivaci štěpí další proteiny komplementu. Přitom vznikají fragmenty jednotlivých proteinů, které aktivují buňky, zvyšují cévní permeabilitu a opsonizují bakterie.

**Aktivace komplementu** může nastat třemi způsoby: cestou klasickou, alternativní a lektinovou, na které navazuje cesta lytická (vznik membránového komplexu). Jejich aktivací vzniká C5 konvertáza a C5b fragment, které mají zásadní význam v aktivaci závěrečné cesty lytické (obr. 1.7).



**Obr. 1.7** Cesty aktivace komplementu. Tři cesty aktivace komplementu se liší inicializačním podnětem: kontaktem s protilátkou, chemickou látkou (endotoxinem bakterií) nebo sérovým lektinem (upraveno podle Complement. Immunology. Mayer, Gene [online], 2011)