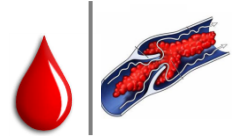




ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ



Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών

ΘΡΟΜΒΩΣΗ – ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ – ΙΑΤΡΙΚΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΤΤΙΣΕΩΝ

Επιστημονική Υπεύθυνη: Ομότιμη Καθηγήτρια Ωρ. Σ. Τραυλού

Διπλωματική Εργασία

«ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΚΑΙ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΓΝΩΣΤΩΝ ΩΣ ΥΨΗΛΟΥ

ΤΙΤΛΟΥ - ΧΑΜΗΛΗΣ ΣΥΓΓΕΝΕΙΑΣ (ΗΤΛΑ)»

ΟΝΟΜΑ : Φλεσιοπούλου Ιωάννα, Νοσηλεύτρια Τ.Ε.

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ : Βαλσάμη Σερένα, Αιματολόγος Λέκτορας Ιατρικής Σχολής
ΕΚΠΑ

Ακαδημαϊκό Έτος : 2012-2013

Διπλωματική Εργασία

«ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΚΑΙ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΓΝΩΣΤΩΝ ΩΣ ΥΨΗΛΟΥ

ΤΙΤΛΟΥ - ΧΑΜΗΛΗΣ ΣΥΓΓΕΝΕΙΑΣ (ΗΤΛΑ)»

ΟΝΟΜΑ : Φλεσιοπούλου Ιωάννα, Νοσηλεύτρια Τ.Ε.

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. Σερένα Βαλσάμη (Επιβλέπουσα καθηγήτρια Αιματολόγος Λέκτορας ΕΚΠΑ, Αιμοδοσία Αρεταίειου Νοσοκομείου).
2. Μαριάννα Πολίτου (Αιματολόγος Επίκουρη Καθηγήτρια ΕΚΠΑ, Συντονίστρια Διευθύντρια Αιμοδοσίας Αρεταίειου Νοσοκομείου).
3. Κωνσταντίνος Σταμούλης (Αιματολόγος Επιστημονικός Διευθυντής Εθνικού Κέντρου Αιμοδοσίας).

Με ιδιαίτερο σεβασμό θα ήθελα να αναφερθώ στην Λεοντίνη Φουντουλάκη (πρώην μέλος της επιτροπής και Διευθύντρια Αιμοδοσίας ΓΝΝΠ Άγιος Παντελεήμων) που πρόσφατα έφυγε από κοντά μας, και να τιμήσω το έργο και την προσφορά της στο χώρο της Αιμοδοσίας.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την ολοκλήρωση της πτυχιακής μου εργασίας, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους ανθρώπους που συνέβαλαν στη διεκπεραίωσή της.

Κατά κύριο λόγο οφείλω να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στην επιβλέπουσα Λέκτορα καθηγήτρια κα Σερένα Βαλσάμη, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε δίνοντάς μου τη δυνατότητα να εκπονήσω την διπλωματική μου εργασία στο συγκεκριμένο επιστημονικό αντικείμενο. Την ευχαριστώ επίσης για τις πολύτιμες γνώσεις και συμβουλές που μου παρείχε καθόλη τη διάρκεια της εργασίας.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να τιμήσω την αείμνηστη Λεοντίνη Φουντουλάκη για την αμέριστη συμπαράσταση, το αμείωτο ενδιαφέρον, και την καθοδήγησή της που ήταν καθοριστική για τη διεκπεραίωση της εργασίας.

Θερμότερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στην Αιματολόγο κα Παπακωνσταντίνο Μαρία Διευθύντρια Αιμοδοσίας ΓΝΝΠ της οποίας η συμπαράστασή της, οι υποδείξεις και η βοήθειά της ήταν εξαιρετικά πολύτιμη για την συγγραφή της εργασίας.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην Ομότιμη Καθηγήτρια κα Ανθή Τραυλού για την ευκαιρία που μου έδωσε να συμμετέχω στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα με επιτυχία.

Θα ήταν παράλειψή μου να μην ευχαριστήσω την οικογένειά μου, το σύζυγό μου και τα παιδιά μου για τη βοήθεια, τη συμπαράσταση, και την κατανόησή τους.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα υψηλού τίτλου χαμηλής συγγένειας αντιερυθροκυτταρικά αντισώματα (HTLA) αποτελούν μέρος μιας ομάδας αντιερυθροκυτταρικών αντισωμάτων τα οποία παρουσιάζουν μερικά κοινά χαρακτηριστικά και είναι συχνά αιτία εργαστηριακής ασυμβατότητας καθιστώντας σχεδόν όλες τις διαθέσιμες μονάδες συμπυκνωμένων ερυθρών ασύμβατες και ακατάλληλες προς μετάγγιση.

Ο όρος HTLA χρησιμοποιείται για να περιγράψει μια ομάδα IgG αντισωμάτων [αντι-Csa (Cost), αντι-Yka(York), αντι-Kna, αντι-Knb(Knops), αντι-McCa έως – McCf(McCoy), αντι-Sla, -Slb(Swain Langley), αντι-JMH(John Milton Hagen) αντι-Gya(Gregory) αντι-Cha(Chido), αντι-Rga(Rodgers), και αντι-Hy(Holley)]. Ανάλογα με τα ορολογικά τους χαρακτηριστικά διακρίνονται σε δύο ομάδες, σε εξουδετερώσιμα και μη εξουδετερώσιμα.

Γενικά αντιδρούν σε μεγάλες αραιώσεις (high-titer) αλλά δίνουν ασθενείς αντιδράσεις (low-avidity) σε κάθε αραιώση του τίτλου, που κυμαίνονται από ασθενείς μακροσκοπικά έως μικροσκοπικά θετικές. Οι ασθενείς αντιδράσεις δεν οφείλονται αποκλειστικά και μόνο στη φύση και τη συγκέντρωση των αντισωμάτων αλλά αντικατοπτρίζουν και τη φύση των αντίστοιχων αντιγόνων. Η ταυτοποίηση της ειδικότητας των HTLA παρουσιάζει δυσκολίες που σχετίζονται με τις διφορούμενες και δύσκολες στην ερμηνεία αντιδράσεις που δίνουν. Η ταυτόχρονη παρουσία HTLA και πολλαπλών αντιερυθροκυτταρικών αλλοαντισωμάτων, θερμών ή ψυχρών, αντιλευκοκυτταρικών, καθώς και αυτοαντισωμάτων δυσχεραίνει ακόμη περισσότερο την αναγνώρισή των HTLA αντισωμάτων. Αναφέρεται περιγραφή περίπτωσης πολυμεταγγιζόμενου ασθενούς που έχει αναπτύξει HTLA αντίσωμα.

Συμπέρασμα:

Τα HTLA αντισώματα συνήθως δεν είναι κλινικά σημαντικά, και οι μεταγγίσεις με αντιγονοθετικά ερυθρά σε ασθενείς που έχουν αναπτύξει HTLA αντισώματα στην πλειονότητα των περιπτώσεων δεν σχετίζεται με ανεπιθύμητα συμβάντα.

SUMMARY

The high-strength low-avidity antibodies (HTLA) are part of a group antibodies to red blood cell antigens that have been described as being of high titer but low avidity so that the term HTLA is now applied to them. HTLA antibodies are often the cause of incompatibility during routine compatibility testing making almost all units of donors unsuitable for transfusion.

The term HTLA refers to one of the characteristics common to the majority of these antibodies, namely they react at high dilutions (high-titer) but give weak reactions (low-avidity) in each dilution of the titration. They are all IgG immunoglobulins. The antigens they define include Csa(Cost), Yka(York), Kna, Knb,(Knops) McCa to McCf(McCoy), Sla, Slb(Swain Langley), JMH(John Milton Hagen), Gya(Gregory), Hy(Holley), Cha(Chido), and Rga(Rodgers). According to their serological characteristics are divided into two groups, the non-neutralizable and the neutralizable ones.

These antibodies, by definition, usually react at high dilution, but give weak positive reactions at each dilution. Weak positive reactions are not due solely to the nature and concentration of HTLA antibodies, but also reflect the nature of the respective antigens. Identifying HTLA is often complicated and associated with ambiguous and difficult to interpret serologic reactions.

HTLA antibodies are often found in patients who have also developed other red blood cell alloantibodies, and/or RBC autoantibodies, making the identification of the HTLA antibodies even more complicated.

A case report of a multitransfused patient who has developed HTLA antibody is presented.

Conclusion: The HTLA antibodies usually are not clinically significant and transfusions with antigen positive red blood cells in patients who have developed HTLA antibodies in most cases is not associated with adverse events.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A . ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΑΝΤΙΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ	5
2. ΗΤΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ	11
α. ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΗΤΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ	13
β. ΟΡΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΩΝ ΗΤΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ	14
γ. ΜΕΛΕΤΕΣ ΤΙΤΛΟΠΟΙΗΣΗΣ	18
δ. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΕΣ ΠΑΓΙΔΕΣ ΣΤΗΝ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΤΩΝ ΗΤΛΑ.....	21
ε. ΗΤΛΑ ΚΑΙ ΑΛΛΕΣ ΟΝΟΜΑΣΙΕΣ.....	22

B . ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

B.1. ΗΤΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΚΑΙ ΤΑ ΑΝΤΙΓΟΝΑ ΠΟΥ ΤΑ ΟΡΙΖΟΥΝ

B.1.A. ΗΤΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΠΟΥ ΕΞΟΥΔΕΤΕΡΩΝΟΝΤΑΙ ΜΕ ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ

- ANTI-CHIDO και ANTI-RODGERS.....26

B.1.B. ΗΤΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΕΞΟΥΔΕΤΕΡΩΝΟΝΤΑΙ ΜΕ ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΠΛΑΣΜΑ

ΤΟΣ	34
α. Υτα (Cartwright).....	39
β. Csa (Cost).....	41
γ. Υka (York).....	41
δ. Κna (Knops).....	43
ε. Mc Ca (Mc Coy).....	44
στ. Gya (Gregory).....	46
ζ. Hy (Holley).....	46
η. John Milton Hagen(JMH).....	47
θ. Swain Langley (SI).....	49
ι. Miscellaneous.....	50

B.2. ΕΙΔΙΚΕΣ ΟΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΧΡΗΣΙΜΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΗΤΛΑ

- | | |
|---|----|
| α. ΚΑΛΥΤΕΡΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ | 53 |
| β. ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΗΤΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΑΠΟ ΑΛΛΟΥΣ ΤΥΠΟΥΣ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ..... | 54 |
| γ. ΕΙΔΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΧΡΗΣΙΜΕΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΚΑΘΟΡΙΣΜΟ ΤΩΝ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΩΝ | 56 |
| i. ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΜΕ ΠΛΑΣΜΑ | 56 |
| ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ ΜΕ ΠΛΑΣΜΑ | |
| ΠΑΓΙΔΕΣ ΣΤΗΝ ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΑ | |
| ii. ΕΝΖΥΜΑ | 57 |
| iii. ΚΥΤΤΑΡΑ ΕΠΕΝΔΥΜΕΝΑ ΜΕ C 4d ΣΤΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΗΤΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ... | 58 |
| δ. ΕΙΔΙΚΕΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ ΣΤΟ ΧΕΙΡΙΣΜΟ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ ΗΤΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ | 59 |

Γ. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΗΤΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗΣ	64
----------------------------	----

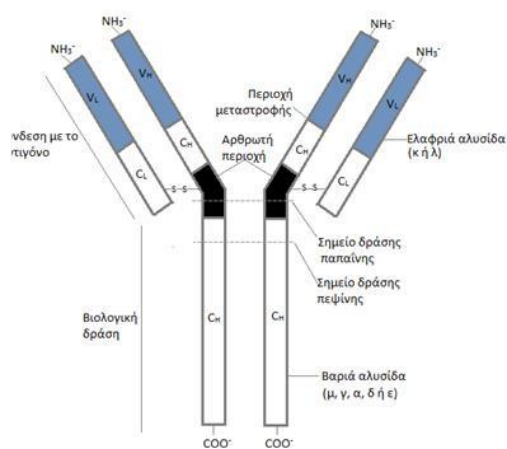
Δ. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

Ε . ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

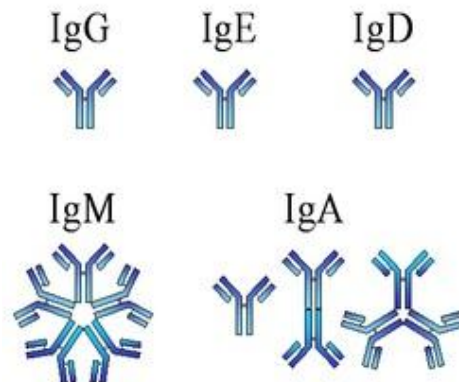
A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΑΝΤΙΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

Τα αντιερυθροκυτταρικά αντισώματα είναι πρωτεΐνες της κατηγορίας των γ-σφαιρινών που λέγονται και ανοσοσφαιρίνες (Immunoglobulins) με συμβολισμό Ig. Φέρουν 4 αλυσίδες : 2 βαριές (H = haevy) που μπορεί να είναι γ-IgG, μ-IgM, α-IgA, ε-IgE, δ-IgD και 2 ελαφρές ελαφρυές (L = light κ, λ)¹³



Οι ανοσοσφαιρίνες ανάλογα με το είδος της βαρειάς τους αλυσίδας κατατάσσονται σε τάξεις IgM, IgG, IgA, IgD και IgE.



Τα αντιερυθροκυτταρικά αντισώματα αποτελούν ένα μικρό υποσύνολο των ανοσοσφαιρινών και είναι συνήθως IgM (μοριακού βάρους περίπου 900000-1000000) και IgG (μοριακού βάρους περίπου 300000). Τα ερυθροκυτταρικά αντισώματα μπορεί να είναι φυσικά ή άνοσα. Φυσικά είναι τα αντιερυθροκυτταρικά αντισώματα που ανιχνεύονται στον ορό ατόμων που ποτέ δεν έχουν έρθει σε επαφή (μέσω μετάγγισης ή κύησης) με το αντίστοιχο αντιγόνο. Άνοσα είναι τα αντιερυθροκυτταρικά αντισώματα που ανιχνεύονται μετά από γνωστή ανοσοποίηση μέσω μετάγγισης ή κύησης¹⁴. Η ονομασία "φυσικά" αντισώματα δεν είναι απολύτως ακριβής. Τα φυσικά αντισώματα είναι άνοσα αντισώματα αλλά η ανοσοποίηση αφορά συνήθως επαφή με αντιγόνο μέσω των τροφών και όχι μέσω μετάγγισης.

Φυσικά αντιερυθροκυτταρικά αντισώματα είναι οι ανοσοσφαιρίνες αντι-A, αντι-B και αντι-H του συστήματος ABO. Η παρουσία τους θεωρείται πολύ χρήσιμη γιατί μας πιστοποιεί απόλυτα τις ομάδες αίματος ως προς το σύστημα ABO.

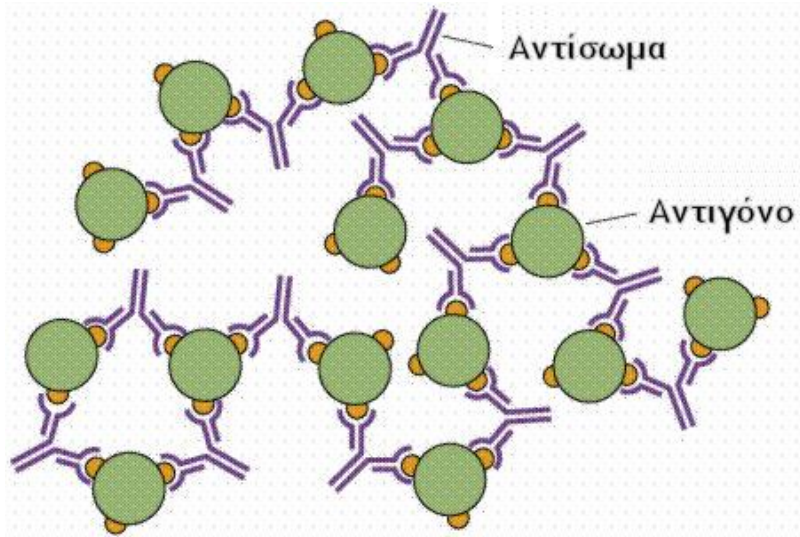
Τα αντισώματα που προκαλούν συγκόλληση αποκαλούνται συγκολλητίνες και εκείνα που προκαλούν αιμόλυση ονομάζονται αιμολυσίνες.

ΑΝΤΙΓΟΝΑ - ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

Αντιγόνο: Κάθε ουσία η οποία κάτω από τις κατάλληλες βιολογικές συνθήκες μπορεί να διεγείρει και να προκαλέσει το σχηματισμό αντισώματος.

Αντίσωμα: Ανοσοσφαιρίνη ειδικής δομής που παράγεται σαν απάντηση στην εισαγωγή ενός ξένου αντιγόνου¹⁴.

Αν για οποιοδήποτε λόγο ξένα ερυθρά αιμοσφαίρια εισέλθουν στην κυκλοφορία ενός ατόμου τότε τα αντισώματά του θα αναγνωρίσουν τον εισβολέα, θα συνδεθούν με τα αντιγόνα του και θα ξεκινήσει μια διαδικασία καταστροφής των άγνωστων κυττάρων.



Οι διαδικασίες που τελούνται υπό φυσιολογικές συνθήκες εντός οποιουδήποτε έμβριου οργανισμού, λέμε ότι συμβαίνουν *in vivo*. Πολλές από αυτές έχουμε τη δυνατότητα, μιμούμενοι τις συνθήκες κάτω από τις οποίες συμβαίνουν να τις πραγματοποιήσουμε στο εργαστήριο(κάρτες γέλης ή σωληνάριο). Τότε λέμε ότι εκτελέστηκαν *in vitro*.

Η δομή και οι ιδιότητες των δύο βασικότερων κατηγοριών αντισωμάτων, IgM και IgG διαφέρουν, γι'αυτό και χρησιμοποιούνται διαφορετικοί τρόποι ανίχνευσής τους.

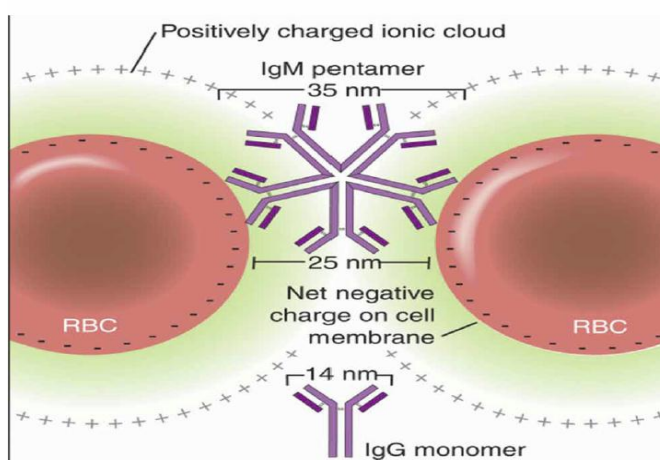
Διακρίνουμε τα αντισώματα σε δύο κατηγορίες:

- Εκείνα που είναι ικανά να προκαλέσουν συγκόλληση σε ισότονο διάλυμα χλωριούχου νατρίου και τα ονομάζουμε πλήρη ή διδύναμα και είναι συνήθως IgM.
- Εκείνα που αδυνατούν να προκαλέσουν συγκόλληση σε ισότονο διάλυμα χλωριούχου νατρίου αλλά μόνο προσηλώνονται στην επιφάνεια των ερυθρών αιμοσφαιρίων χωρίς να φαίνεται η παρουσία τους και ονομάζονται ατελή ή μονοδύναμα.

Οι IgM ανοσοσφαιρίνες είναι μεγαλύτερες σε μέγεθος και όγκο, υπάρχουν με τη μορφή πενταμερούς μορίου μέσα στον ορό και διαθέτουν 10 θέσεις η καθεμία με τις οποίες μπορούν να ενωθούν με τα ερυθροκυτταρικά αντιγόνα. Το μεγάλο μέγεθος τις βοηθά να συλλάβουν δύο ή περισσότερα γειτονικά ερυθρά και να τα συγκολλούν¹³.

Τα IgM αντισώματα εκτός από μεγάλο μέγεθος, έχουν και μεγάλο εύρος θερμομικής δράσης. Μπορούν να δρουν σε θερμοκρασία 4⁰ C (ψυγείου) ονομαζόμενα και ψυχροσυγκολλητίνες, σε θερμοκρασία 20⁰ C (δωματίου), και σε θερμοκρασία 37⁰ C (σώματος).

Αντίθετα οι IgG ανοσοσφαιρίνες έχουν μικρότερο μέγεθος και κυκλοφορούν στον ορό σαν μόρια μονομερή. Αυτό σημαίνει πως ευαισθητοποιούν τα ερυθρά αιμοσφαίρια προσκολλώντας επάνω τους αλλά αδυνατούν εξαιτίας του μικρού τους μεγέθους να προκαλέσουν τη συγκόλλησή τους.



Στην περίπτωση ανίχνευσης αντισωμάτων τύπου IgG (ατελή) προκαλούνται ειδικές συνθήκες για να μειωθεί η απόσταση μεταξύ των ερυθρών και να επέλθει συγκόλληση in vitro. Αυτό επιτυγχάνεται ως εξής:

Κατεργασία με ένζυμα. Αρκετά ένζυμα όπως παπαΐνη, θρυψίνη, βρωμελίνη, φισίνη κ.α. έχουν την ιδιότητα να αφαιρούν από την κυτταρική μεμβράνη των ερυθρών μόρια με αρνητικό φορτίο, όπως είναι τα μόρια του σιαλικού οξέος.

Αποτέλεσμα είναι η μείωση του νέφους κατιόντων γύρω από τα ερυθρά και η πτώση των απωθητικών δυνάμεων. Έτσι έχουν την ευκαιρία τα ατελή αντισώματα να προκαλέσουν συγκόλληση.

Αυξάνοντας την ιονική ισχύ. Αυτό επιφέρει ελάττωση της αποστάσεως μεταξύ των ερυθρών και μεγαλύτερη πιθανότητα να συμβεί συγκόλληση από τα αντισώματα.

Προσθήκη λευκωματίνης (αλβουμίνης). Η λευκωματίνη δρα με τον εξής μηχανισμό. Το μεγάλο μόριό της κολλά πάνω στην κυτταρική μεμβράνη των ερυθρών. Τα γειτονικά ερυθροκύτταρα μπορούν να έρθουν πιο κοντά και τα αντισώματα έχουν τη δυνατότητα να τα συγκολλήσουν. Η λευκωματίνη προσφέρεται στο εμπόριο σε έτοιμο διάλυμα 22-30% και στο εργαστήριο αναπαράγεται η συγκεκριμένη τεχνική in vitro.

Αντισφαιρινικός ορός. Ο αντισφαιρινικός ορός είναι ζωικής προέλευσης αντισώματα έναντι του Fc τμήματος των ανθρώπινων ανοσοσφαιρινών και του C3d και ενεργεί σαν γέφυρα ανάμεσα στα καλυμμένα με IgG ερυθρά προκαλώντας in vitro ορατή συγκόλληση.

Αρκετά ατελή αντισώματα, τύπου IgG βρίσκονται προσκολλημένα επάνω στην κυτταρική μεμβράνη των ερυθρών, προκαλώντας τους ευαισθητοποίηση αλλά λόγω του μικρού τους μεγέθους αδυνατούν να τα συγκολλήσουν¹².

Εξετάζοντας λοιπόν in vitro την παρουσία ατελών αντισωμάτων προσκολλημένων σε ανθρώπινα ερυθρά, έχουμε τη δυνατότητα στο σωληνάριο (και σε κάρτες γέλης) που περιέχει το εναιώρημα των ερυθρών να προσθέσουμε αντισώματα (αντισφαιρινικό ορό). Τα τελευταία θα ανιχνεύσουν ατελή IgG αντισώματα θα ενωθούν μαζί τους και θα προκαλέσουν in vitro ορατή συγκόλληση¹².

ΚΥΡΙΑ ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΕΡΥΘΡΩΝ

Το σύστημα **Rhesus** αποτελεί το σπουδαιότερο αντιγονικό σύστημα των ερυθρών αμέσως μετά το σύστημα ABO στην κατηγοριοποίηση των ομάδων αίματος. Το αντιγονικό σύστημα Rhesus είναι αρκετά πολύπλοκο. Περιλαμβάνει ένα

σημαντικό πληθυσμό αντιγόνων που αγγίζουν σε αριθμό τα 40 και εμφανίζουν ποικιλομορφία χαρακτηριστικών.

Τα σπουδαιότερα από αυτά, εξαιτίας της κλινικής τους εφαρμογής, είναι πέντε τα **D, C, c, E και e**.

Ανάλογα με την παρουσία ή απουσία του D αντιγόνου, τα άτομα χωρίζονται σε Rhesus θετικά (παρουσία του D αντιγόνου) και Rhesus αρνητικά (απουσία του D αντιγόνου).

Άλλα αντιγονικά συστήματα

Σύστημα Kell

Αποτελεί το τρίτο σε σπουδαιότητα σύστημα ομάδων αίματος μετά τα ABO και Rhesus. Σχετικά με τη φύση των αντιγόνων που απαρτίζουν το σύστημα Kell γνωρίζουμε ελάχιστα. Έχουν βρεθεί περίπου 20 αντιγόνα.

Τα βασικότερα είναι τα K(Kell) και k (Celano) καθώς και τα αντιθετικά αντιγόνα K_{ra}/K_{rb} και J_{sa}/J_{sb}.

Μερικά από τα υπόλοιπα συστήματα ομάδων αίματος, αναφορικά είναι:

- ✓ Σύστημα MNSs (M, N, S, s)
- ✓ Σύστημα Duffy (F_{ya}, F_{yb})
- ✓ Σύστημα Kidd (J_{ka}, J_{kb})
- ✓ Σύστημα Lutheran (L_{ua}, L_{ub})
- ✓ Σύστημα Lewis (L_{ea}, L_{eb})
- ✓ Σύστημα Ii (I, i)
- ✓ Σύστημα P
- ✓ Σύστημα Xg

2. HTLA ANΤΙΣΩΜΑΤΑ

Τα υψηλού τίτλου χαμηλής συγγένειας αντιερυθροκυτταρικά αντισώματα (high titer - low avidity – HTLA) αποτελούν μέρος μιας ομάδας αντιερυθροκυτταρικών αντισωμάτων τα οποία παρουσιάζουν μερικά κοινά χαρακτηριστικά και συχνά εμποδίζουν το έργο της αιμοδοσίας στο να βρεθεί συμβατό αίμα για μετάγγιση των ασθενών.

Ο όρος HTLA χρησιμοποιείται για να περιγράψει μια ομάδα IgG αντισωμάτων [αντι-Csa(Cost), -Yka(York), -Kna,-Knb(Knops), -McCa έως –McCf(McCoy), -Sla, Slb, (Swain-Langley),-Hy(Holley),-Gya(Gregory), -Cha(Chido) και αντι-Rg(Rodgers)]³⁶.

Υψηλός τίτλος χαμηλή συγγένεια είναι το χαρακτηριστικό αυτών των αντιερυθροκυτταρικών αντισωμάτων όπως αναφέρει και το όνομά τους καθώς και το ότι αντιδρούν σε μεγάλες αραιώσεις⁴¹ αλλά δίνουν ασθενείς αντιδράσεις σε κάθε αραιώση του τίτλου.

Ο όρος HTLA επίσημα τείνει να καταργηθεί, όμως οι ανοσοαιματολόγοι όταν πρόκειται να αναφερθούν στα αντισώματα που συγκεντρώνουν αυτά τα χαρακτηριστικά χρησιμοποιούν αυτό τον όρο²⁶.

Η ονομασία HTLA έρχεται στην επιφάνεια όταν διαπιστώνεται η ύπαρξη ενός αντισώματος από αυτά, τα οποία συνυπάρχουν συχνά με άλλα αλλοαντισώματα και τα οποία βρίσκονται σχεδόν όλα στον ορό ασθενών με ιστορικό πολλών μεταγγίσεων.

« Οι ανοσοαιματολόγοι χρησιμοποιούν συχνά στην μεταξύ τους καθομιλουμένη εκφράσεις (περιγραφικούς όρους) που προορίζονται για να περιγράψουν ένα γενικό πρόβλημα..... Αυτοί οι όροι δεν έχουν σκοπό να καθορίσουν την ειδικότητα του αντισώματος, αλλά μάλλον περιγράφουν σε γενικές γραμμές τα ορολογικά χαρακτηριστικά του/των αντισωμάτων» (*quote by JJ Moulds*).

Τα υψηλού τίτλου χαμηλής συγγένειας αντιερυθροκυτταρικά αντισώματα (high titer - low avidity – HTLA) δεν μπορούν να αγνοηθούν στη μεταγγισιοθεραπεία γιατί μερικά έχουν ενοχοποιηθεί για την πρόκληση μετά μετάγγιση αιμολυτικών αντιδράσεων. Ωστόσο η καθυστέρηση στο χρόνο που απαιτείται για να

ταυτοποιηθούν τα αντισώματα αυτά συχνά έχει συσχετιστεί με αναβολή μεταγγίσεων και προγραμματισμένων χειρουργείων. Έτσι η ταχεία και ακριβής ταυτοποίησή τους θεωρείται απαραίτητη για την ασφάλεια του ασθενούς και την μείωση του κόστους.

Τα αντιγόνα που αντιστοιχούν στα αντισώματα με χαρακτήρες HTLA είναι συνήθως υψηλής συχνότητας (92% έως 99%) και αυτό αποτελεί συχνά δυσκολία για να βρεθούν συμβατά αίματα για ασθενείς που έχουν παράγει HTLA αντισώματα³¹.

Αυτά τα αντισώματα έχουν χωριστεί σε δύο ομάδες σε εξουδετερώσιμα και μη εξουδετερώσιμα. Αναφορικά με τα αντισώματα αυτά θα αναφερθούμε στην ανακάλυψή τους, στις ορολογικές ιδιότητές τους, στη συχνότητα των αντίστοιχων αντιγόνων στον πληθυσμό, σε πληθυσμιακές και οικογενείς μελέτες και τις επακόλουθες ομοιότητες με το C4 συστατικό του συμπληρώματος και τα HLA.

Ειδικές ορολογικές τεχνικές που παρουσιάζονται θα βοηθήσουν στην ταχεία και ορθή ταυτοποίηση των ειδικών αυτών αντισωμάτων με σκοπό την καλύτερη έκβαση της μεταγγισιοθεραπείας για τους ασθενείς που έχουν αναπτύξει HTLA αντισώματα.

Τα υψηλού τίτλου χαμηλής συγγένειας αντιερυθροκυτταρικά αντισώματα (high titer - low avidity – HTLA) είναι ομάδα αντισωμάτων με συγκεκριμένα κοινά ορολογικά χαρακτηριστικά.

Με βάση τον ορισμό τα HTLA αντιδρούν⁴¹ ακόμη και σε μεγάλες αραιώσεις του ορού (high titer) δίνοντας ασθενείς αντιδράσεις (low avidity) ανεξάρτητα από την αραιώση του ορού, απουσιάζει δηλαδή η συνήθης διαφοροποίηση προοδευτικά φθίνουσα ένταση της συγκολλητινοαντίδρασης από τις μικρές - μεγάλες αραιώσεις του δείγματος. Συνήθως σε ύπαρξη HTLA αντισωμάτων η DAT είναι αρνητική αλλά αυτό εξαρτάται από το ιστορικό και τη θεραπεία του ασθενούς.

α. ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΗΤΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

Τα αντισώματα αυτά γενικά προκαλούν ασθενείς αντιδράσεις συγκόλλησης στο στάδιο της δοκιμασίας του αντισφαιρινικού ορού που κυμαίνονται από ασθενείς μακροσκοπικά έως μικροσκοπικά θετικές. Μπορεί ωστόσο να υπάρχουν και ισχυρές αντιδράσεις. Οι ασθενείς αντιδράσεις δεν οφείλονται αποκλειστικά και μόνο στην φύση και συγκέντρωση των αντισωμάτων αλλά αντικατοπτρίζουν και τη φύση των αντίστοιχων αντιγόνων. Η ταυτοποίηση της ειδικότητας των ΗΤΛΑ παρουσιάζει δυσκολίες που σχετίζονται με τις διαφορετικές και δύσκολες στην ερμηνεία αντιδράσεις που δίνουν⁹⁵.

Στον πίνακα 1 αναγράφονται αντισώματα που έχουν αναφερθεί ως ΗΤΛΑ. Σε αυτά περιλαμβάνονται το Chido (Cha), Rodgers (Rga), Cost (Csa), York (Yka), και Knops (Kna) αντιγόνα. Τα αντισώματα McCoy (McCa) προστέθηκαν αργότερα σε αυτή την κατηγορία, ενώ από Αμερικανούς Ανοσοαιματολόγους προτάθηκε και η ένταξη των Holley (Hy), Gregory (Gya) και John Milton Hagen (JMΗ) σε αυτή την ομάδα⁴⁶.

Τα υψηλής συχνότητας αντιγόνα που αντιστοιχούν σε αυτά τα αντισώματα είναι παρόντα σε πάνω από 97% στους καυκάσιους με εξαίρεση το Yka το οποίο ανευρίσκεται μόνο σε 92% των ερυθρών αιμοσφαιρίων των καυκασίων.

Σύμφωνα με διάφορες μελέτες^{47,48,49} το αντι-Hy και αντι-Gya μπορεί να προκαλέσουν μειωμένη επιβίωση των ερυθρών *in vivo*. Με βάση τα μέχρι σήμερα δεδομένα στη μελέτη για την επιβίωση των ερυθροκυττάρων⁵⁰⁻⁵² δεν έχουν ενοχοποιηθεί άλλες ΗΤΛΑ ειδικότητες ως η αιτία της αυξημένης κατάστροφής των μεταγγισμένων ερυθροκυττάρων. Πράγματι το μεγαλύτερο πρόβλημα που προκαλούν αυτά τα αντισώματα είναι να καθιστούν σχεδόν όλες τις μονάδες των δοτών ασύμβατες κατά τη διάρκεια της διασταύρωσης στα πλαίσια του προμεταγγισιακού ελέγχου.

β. ΟΡΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΩΝ ΗΤΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

Τα ορολογικά χαρακτηριστικά που μοιράζονται αυτά τα αντισώματα συνοψίζονται στα εξής:

- Είναι συνήθως υψηλού τίτλου αλλά χαμηλής συγγένειας³¹.
- Είναι όλα IgG στη φύση τους αλλά δεν φαίνεται να δεσμεύουν το συμπλήρωμα.

Ένδειξη για την παρουσία αυτών των αντισωμάτων είναι η ποικιλία των ασθενών θετικών αντιδράσεων που προκύπτουν με τη δοκιμασία του αντισφαιρινικού ορού με την πλειοψηφία των ερυθρών αιμοσφαιρίων ελέγχου. Αυτές οι αντιδράσεις σχεδόν ποτέ δεν παρατηρούνται σε θερμοκρασία δωματίου ή σε δοκιμασίες 37° C με την προσθήκη αλβουμίνης. Θετικές αντιδράσεις σπάνια ενισχύονται και μπορεί να καταργηθούν από τη διαδικασία κατεργασμένων ερυθρών με ένζυμο. Μια ποικιλία περιγραφών έχουν χρησιμοποιηθεί για να χαρακτηρίσουν την εικόνα της συγκόλλησης που προκύπτει από αυτά τα αντισώματα συμπεριλαμβανομένου <frothy> , <fragile> , <nebulous> ,or <grubby>.

Τα γενικά χαρακτηριστικά των ορολογικών αντιδράσεων των ΗΤΛΑ αποτυπώνονται στον πίνακα 2.

Πίνακας 1

Αντισώματα που γενικώς θεωρούνται ως ΗΤΛΑ και η συχνότητα των αντιγόνων που τα ορίζουν :

Αντι-	Η συχνότητα των κάτωθι αντιγόνων στον τυχαίο πληθυσμό
Chido (Cha)	98%
Rodgers (Rga)	97%
Cost (Csa)	98%

York (Yka)	92%
Knops (Kna)	99%
McCoy (McCa)	>99%
Holley (Hy)	>99%
Gregory (Gya)	>99%
John Milton Hagen (JMH)	>99%
Swain Langley (SI)	>98%

Πίνακας 2

ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΟΡΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΝ ΗΤΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

- 1) Ασθενής αντίδραση με αντισφαιρινικό ορό με τα περισσότερα από τα ερυθροκύτταρα.
- 2) <Grubby > or <nebulous> («νεφελώδης») αντίδραση συγκόλλησης.
- 3) Ερυθρά ενισχυμένα με ένζυμο μπορεί να ενισχύσουν ή να καταργήσουν την αντιδραστικότητα.
- 4) Ερυθροκύτταρα ελέγχου από διαφορετικούς ενήλικες μπορεί να αντιδράσουν ισχυρά, μέτρια, ή ασθενώς.
- 5) Οι αντιδράσεις μπορεί να είναι λιγότερο ισχυρές ή αρνητικές με τα ερυθρά του ομφαλίου λώρου.
- 6) Αντιδράσεις μπορεί να είναι λιγότερο ισχυρές με αποθηκευμένα ερυθροκύτταρα από ότι με φρέσκα.
- 7) Θετικές αντιδράσεις είναι συχνά δύσκολο να αναπαραχθούν.
- 8) IgG αντισώματα που δεν συνδέουν το συμπλήρωμα.
- 9) Πολλά παραδείγματα είναι υψηλού τίτλου χαμηλής συγγένειας.

Η εικόνα αυτή που δίνουν τα αντισώματα αυτά στις συγκολλητινοαντιδράσεις αντικατοπτρίζει τα ασυνήθιστα χαρακτηριστικά τους αλλά και των αντίστοιχων αντιγόνων τους. Οι αντιγονικοί επίτοποι που αναγνωρίζουν τα ΗΤΛΑ δεν εκ-

φράζονται στον ίδιο βαθμό στα ερυθρά όλων των ενηλίκων. Μέσα σε ένα δεδομένο πληθυσμό μπορεί να βρεθούν άτομα των οποίων τα ερυθροκύτταρα να δίνουν ισχυρές συγκολλητινοαντιδράσεις, κάποια μέτρια και μερικά ασθενείς αντιδράσεις με αυτά τα αντισώματα. Το γεγονός αυτό μπορεί να κάνει δύσκολη τη διάκριση των αντιδρώντων ασθενώς κυττάρων από αυτά που είναι πραγματικά αρνητικά ή που δεν αντιδρούν. Οι αντιδράσεις που προκύπτουν όταν ο έλεγχος πραγματοποιείται με ερυθρά ομφαλίου λώρου επίσης αντανακλούν διαφορετικούς βαθμούς της αντιγονικής έκφρασης πάνω στα ερυθρά ελέγχου. Τα περισσότερα HTLA αντισώματα δεν συγκολλούν ή συγκολλούν ασθενώς τα ερυθρά ελέγχου ομφαλίου λώρου και χαρακτηριστικά εμφανίζουν ασθενέστερες αντιδράσεις απ' ό,τι με τα ερυθροκύτταρα ελέγχου ενηλίκων.

Επιπρόσθετα η μη σταθερότητα των συγκολλητινοαντιδράσεων των HTLA σχετίζεται με την αστάθεια των αντίστοιχων αντιγόνων, δεδομένου ότι αυτά τα αντιγόνα επηρεάζονται από την διαδικασία της ψύξης και παύουν να εκφράζονται στα κατεψυγμένα ερυθροκύτταρα. Ασθενώς αντιδρώντα ερυθρά μπορεί να χάσουν την ικανότητα συγκόλλησης με το αντίστοιχο HTLA αντίσωμα ακόμη και μετά από λίγες μόνο μέρες αποθήκευσής τους στους 4⁰ C.

Ερυθρά ελέγχου με ισχυρή αντιγονική έκφραση μπορεί να χρειαστούν περισσότερο χρόνο για να γίνουν αντιγονοαρνητικά ή να δίνουν ασθενείς αντιδράσεις με τα αντίστοιχα HTLA αντισώματα. Είναι προφανές ότι η ταυτοποίηση της ειδικότητας ενός HTLA αντισώματος καθίσταται δυσχερής αν χρησιμοποιηθούν παλιά ερυθρά ελέγχου ακόμη και αν δεν έχουν λήξει. Σε αυτές τις περιπτώσεις πάντα πρέπει να προτιμάται η χρήση φρέσκων ερυθρών ελέγχου. Γεγονός που δυστυχώς δεν είναι πάντα εφικτό σε επίπεδο ρουτίνας.

Σύνεπεια αυτών των χαρακτηριστικών των HTLA αντισωμάτων και των αντίστοιχων αντιγόνων είναι η έλλειψη επαναληψιμότητας των ορολογικών δοκιμασιών και ειδικά η αναπαραγωγή των θετικών αποτελεσμάτων. Το πρόβλημα της επαναληψιμότητας αναδεικνύεται περισσότερο όταν διαφορετικά άτομα πραγματοποιούν τον έλεγχο ακόμη και αν χρησιμοποιηθούν τα ίδια δείγματα

και από τους δύο λόγω των διακυμάνσεων και της ελάχιστης μεταβολής της τεχνικής σωληναρίου, του χρόνου επώασης, και της ποσοτικής σχέσης ορού – ερυθρών.

Σχεδόν όλα τα HTLA αντισώματα έχουν βρεθεί στον ορό ασθενών με ιστορικό πολλών μεταγγίσεων⁵³⁻⁵⁴. Με εξαιρέσεις τα αντι - Ηγα^{49,55} και αντι - Gya⁵⁶ τα αντισώματα δεν φαίνεται να σχετίζονται με ιστορικό προηγούμενης κύησης.

Τα περισσότερα αντισώματα αυτής της ομάδας φαίνεται ότι σχηματίζονται μέσα σε λίγες εβδομάδες μετά τη μετάγγιση. Η ισχύς τους φαίνεται να μειώνεται ταχέως αν δεν υπάρχει περαιτέρω έκθεση στο αντίστοιχο αντιγόνο^{53,57}. Ωστόσο υπάρχουν και εξαιρέσεις. Το κλασικό αντι-Κηα αναφέρθηκε από τον Helgeson ότι παρέμεινε αμετάβλητο κατά τη διάρκεια τεσσάρων χρόνων μελέτης δειγμάτων από τον ασθενή που είχε αναπτύξει αυτό το αντίσωμα.

Η μη διαθεσιμότητα σπανίων αντιδραστηρίων (ερυθρών ελέγχου) που απαιτούνται για την ταυτοποίηση HTLA αντισωμάτων αποτελεί συχνά την αιτία της αποτυχίας ανάδειξης της ειδικότητας των HTLA. Σε αυτές τις περιπτώσεις ο συνδυασμός πρόσθετων εργαστηριακών διαδικασιών μπορεί να βοηθήσει και να περιορίσει τις πιθανές διαγνώσεις αναφορικά με την ειδικότητα του HTLA αντισώματος.

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως ο όρος HTLA αναφέρεται σε ένα από τα κυριότερα χαρακτηριστικά της πλειονότητας αυτών των αντισωμάτων δηλαδή στο ότι αντιδρούν ακόμη και σε μεγάλες αραιώσεις (high titer) δίνοντας ασθενείς αντιδράσεις (low avidity) ανεξάρτητα από την αραιώση του ορού (ακόμη και στις μικρές αραιώσεις)²⁸.

Η τιτλοποίηση είναι μια ημιποσοτική μέθοδος για την εκτίμηση της συγκέντρωσης ενός αντισώματος στον ορό. Η τελική τιμή του τίτλου είναι το αντίστροφο της υψηλότερης αραιώσης που εξακολουθεί να προκαλεί μακροσκοπικά συγκολλήσεις. Οι περισσότερες αιμοδοσίες χρησιμοποιούν διπλάσιες α-

ραιώσεις (1, ½, ¼, 1/8 κτλ) κατά τη διάρκεια της διερεύνησης. Ένα αντίσωμα με υψηλό τίτλο γενικά θεωρείται αυτό που προκαλεί συγκόλληση των ερυθροκυττάρων σε αραιώσεις μεγαλύτερες του 1/64.

Η ευαισθησία εξαρτάται από την ταχύτητα της συγκόλλησης και το μέγεθος των συγκολλήσεων που προκύπτει από ένα αντίσωμα σε μια δεδομένη χρονική στιγμή με ερυθροκύτταρα που περιέχουν το αντιγόνο έναντι του οποίου στρέφεται⁵⁸. Πρέπει να εκτιμάται η ένταση των συγκολλήσεων όχι μόνο στην δοκιμασία του σωληναρίου αλλά και με τη χρήση των καρτών με gel.

Σε αντίθεση με πολλά άλλα αντισώματα των ομάδων αίματος τα ΗΤΛΑ αντισώματα σχεδόν ποτέ δεν παράγουν γρήγορη ή ισχυρή συγκόλληση με τα κατάλληλα ερυθροκύτταρα με τις καθιερωμένες ορολογικές τεχνικές. Παρατεταμένος χρόνος επώασης συχνά είναι αναγκαίος για να επιτρέψει σε αυτά τα αντισώματα να συνδεθούν στα ερυθρά. Οι θετικές αντιδράσεις που προκύπτουν σε δοκιμασίες αντισφαιρινικού ορού γενικά είναι ασθενείς και εύκολα διαλύονται. Ο Giles και συν¹⁰¹ έχουν δείξει ότι τα αντισώματα γρήγορα και αυτόματα εκλούονται από πλυμμένα ευαισθητοποιημένα ερυθροκύτταρα. Οποιαδήποτε καθυστέρηση στην εκτέλεση της τελικής φάσης της δοκιμασίας του αντισφαιρινικού ορού μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική μείωση σε αυτό που ήδη παρουσιάζει ασθενή αντίδραση ή ακόμη και να προκαλέσει ψευδώς αρνητική αντίδραση.

γ. ΜΕΛΕΤΕΣ ΤΙΤΛΟΠΟΙΗΣΗΣ

Ο πίνακας 1 παρουσιάζει κάποια αποτελέσματα που μπορεί να προκύψουν από μελέτες τιτλοποίησης ΗΤΛΑ ή άλλων αντιερυθροκυτταρικών αντισωμάτων. Οι οροί 1 και 2 παρουσιάζουν τις αντιδράσεις που προκύπτουν με αντισώματα υψηλής συγγένειας. Τίτλοι σαν και αυτούς είναι συχνοί όταν πρόκειται για το σύστημα ABO, Rh, MN, ή Kell.

Αποτελέσματα σαν αυτά της περίπτωσης 3 στον πίνακα 1 λαμβάνονται όταν ένα αντίσωμα από τα παραπάνω βρίσκεται σε μικρή συγκέντρωση. Ωστόσο αυτό το πρότυπο αντίδρασης (το 3) μπορεί επίσης να παρατηρηθεί και σε μερικές περιπτώσεις αντισωμάτων χαμηλής συγκέντρωσης των ΗΤΛΑ, η τυπική εικόνα των οποίων είναι η περίπτωση 4 στον ίδιο πίνακα.

πίνακας 1

Συγκρίσεις τιτλοποίησης ανάμεσα σε διάφορα αντιερυθροκυτταρικά αντισώματα.

ΟΡΟΙ	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	ΤΙΤΛΟΣ	ΣΥΓΓΕΝΕΙΑ
1	4+	4+	4+	4+	3+	3+	3+	2+	2+	1+	High	high
2	3+	2+	1+	0	0						Low	high
3	1+	1+	0	0							Low	low high
4	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	w+	w+	w+	High	low

πίνακας 2

Έκλυση ενός ΗΤΛΑ αντισώματος από ευαισθητοποιημένα ερυθροκύτταρα

Ο χρόνος που έχει παρέλθει πριν από την ολοκλήρωση της δοκιμασίας του

Ερυθροκύτταρα αντισφαιρινικού ορού

	0'		30'
θετ.control	3+		2+
θετ.control	2+		+w
θετ.control	+		+-
αρν.control	0		0

Εάν μια μελέτη τιτλοποίησης γίνεται σε ένα ασθενές αντίσωμα και έχει βρεθεί ότι το αντίσωμα δίνει τις ίδιες ισχύος θετικές αντιδράσεις σε όλες σχεδόν τις αραιώσεις όπως στο παράδειγμα 1 τότε πρέπει να υπάρξει υποψία παρουσίας HTLA αντισώματος. Τα περισσότερα άλλα αντιερυθροκυτταρικά αντισώματα εάν είναι αρκετά ισχυρά ώστε να έχουν ένα τίτλο πάνω από 64 θα παράγουν ισχυρές αντιδράσεις σε πιο πυκνές αραιώσεις του ορού $\frac{1}{2}$ ή $\frac{1}{4}$. Αντιστρόφως ένα αντίσωμα που αντιδρά ασθενώς όταν δεν είναι αραιωμένο γενικά δεν θα αντιδρά σε περαιτέρω αραιώσεις.

HLA αντισώματα έναντι των λευκών αιμοσφαιρίων όπως εκείνα του Bg συστήματος επίσης δίνουν υψηλό τίτλο χαμηλής συγγένειας αντιδράσεις όπως αυτή που απεικονίζεται ως ορός 4. Ωστόσο σε αντίθεση με τα περισσότερα HTLA αντισώματα αυτές οι ειδικότητες ανιχνεύουν αντιγόνα χαμηλής συχνότητας. Η αρχική μελέτη του panel θα αναδείξει ασθενώς θετικές αντιδράσεις με προσθήκη αντισφαιρινικού ορού με λίγα μόνο ερυθροκύτταρα του αντιδραστηρίου.

Ο τίτλος και τα χαρακτηριστικά της συγγένειας των περισσότερων HTLA αντισωμάτων μπορεί εν μέρει να οφείλονται στη χαμηλή πυκνότητα των αντιγονικών επιτόπων, ή φτωχή έκφραση αυτών των θέσεων στην ερυθροκυτταρική επιφάνεια. Η κατάσταση μπορεί να είναι ανάλογη με αυτήν που υφύσταται με ορισμένα από τα λευκοκυτταρικά αντιγόνα που ανιχνεύονται στα ερυθρά^{43,59}.

Πολλά αντιγόνα λευκοκυττάρων είναι παρόντα στη μεμβράνη των προδρόμων κυττάρων της ερυθράς σειράς⁶⁰ αλλά δεν μπορούν να ανιχνευθούν στα ώριμα ερυθροκύτταρα. Οι επίτοποι αυτοί χάνονται όταν τα ερυθρά ωριμάζουν. Στην περίπτωση του Bga (ή HLA – B7), Bgb (ή HLA – Bw 17) και Bge (HLA – A 28), ορισμένα κατάλοιπα από αυτά τα αντιγόνα μπορεί ακόμη να είναι ανιχνεύσιμα σε ώριμα ερυθροκύτταρα. Τα αντισώματα έναντι αυτών των επιτόπων μπορεί να είναι υψηλού τίτλου αλλά οι αντιδράσεις τους ακόμη και όταν είναι χωρίς αραιώση είναι ασθενείς και με έλλειψη ευαισθησίας λόγω του χαμηλού αριθμού των διαθέσιμων αντιγονικών θέσεων. Όταν οι αντιοροί αραιώνονται αρκετά μόρια αντισωμάτων εξακολουθούν να υπάρχουν και προκαλούν συγκόλληση.

Αυτή η συγκόλληση έχει την ίδια ισχύ με εκείνη που προέκυψε όταν ο ορός δεν ήταν αραιωμένος επειδή ο ίδιος αριθμός αντιγονικών θέσεων δεσμεύεται από το αντίσωμα. Ως εκ τούτου, οι ασθενείς αντιδράσεις αντιπροσωπεύουν όχι ασθενή αντισώματα αλλά περιορισμένες αντιγονικές θέσεις.

Δεν υπάρχει απόδειξη ότι τα αντιγόνα έναντι των οποίων στρέφονται τα ΗΤΛΑ αντισώματα εξασθενούν και εξαλείφονται ή διαμοιράζονται στα λευκά καθώς τα ερυθρά ωριμάζουν. Ωστόσο οι μελέτες τιτλοποίησης φαίνεται να υποδηλώνουν ότι τα αντιδρώντα αντισώματα είναι σε περίσσεια σε σχέση με μια περιορισμένη ποσότητα αντιγόνων στη μεμβράνη του ερυθρού. Ωστόσο αυτό το συμπέρασμα πρέπει να το δούμε με προσοχή. Αν είναι σωστό τότε θα πρέπει να αναμένεται μια περιστασιακή αντίδραση προζώνης ανάμεσα σε ένα ΗΤΛΑ αντίσωμα και παραδείγματα ασθενών αντιδρώντων ερυθρών. Προζώνη είναι μια κατάσταση κατά την οποία ένα αντίσωμα λόγω της υψηλής συγκέντρωσής του αντιδρά καλύτερα σε αραιώση παρά όταν δεν υπάρχει αραιώση. Επί του παρόντος για τα ΗΤΛΑ αντισώματα το φαινόμενο της προζώνης δεν έχει περιγραφεί. Φαίνεται δηλαδή ότι τα αποτελέσματα των τιτλοποιήσεων στα ΗΤΛΑ αντισώματα αντανακλούν αντιστρόφως φτωχή έκφραση των αντιγονικών επιτόπων.

δ. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΕΣ ΠΑΓΙΔΕΣ ΣΤΗΝ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΤΩΝ ΗΤΛΑ

Η ταυτοποίηση πρέπει να είναι πολύ προσεκτική όσον αφορά την παρουσία των ΗΤΛΑ αντισωμάτων ιδιαίτερα όταν δεν γίνονται δοκιμασίες όπου χρησιμοποιούνται σπάνια ερυθροκύτταρα που στερούνται τα αντίστοιχα αντιγόνα.

Οι σημαντικότερες διαγνωστικές παγίδες στην ταυτοποίηση των ΗΤΛΑ αφορούν τα παρακάτω θέματα:

1. Είναι διακινδυνευμένο να υποθέσουμε ότι όλες οι ποικίλες ή ασθενώς θετικές αντιδράσεις στη δοκιμασία της έμμεσης coombs οφείλονται

στην παρουσία ενός HTLA αντισώματος. Η παρουσία πολλαπλών ασθενών αλλοαντισωμάτων, λιγότερο ισχυρά παραδείγματα από άλλα αντισώματα έναντι υψηλής συχνότητας αντιγόνων, ή ακόμη και θερμά ή ψυχρά αυτοαντισώματα μπορεί να δώσουν αποτελέσματα στις αρχικές μελέτες ερυθροκυτταρικών panel που είναι παρόμοια με εκείνα που παρατηρούνται κατά την εξέταση των HTLA αντισωμάτων.

2. Είναι λάθος να ισχυριστούμε ότι κάθε αντίσωμα υψηλού τίτλου και χαμηλής συγγένειας στις αντιδράσεις του με τα περισσότερα ερυθροκύτταρα ανήκει στην ομάδα των HTLA. Αντισώματα που ανιχνεύουν άλλα ερυθροκυτταρικά αντιγόνα όπως του συστήματος Lutheran μπορεί επίσης να είναι υψηλού τίτλου με χαμηλή συγγένεια.
3. Τα HTLA αντισώματα αντιδρούν λιγότερο καλά ή μπορεί να μην αντιδρούν με ερυθροκύτταρα ομφαλίου λώρου απ' ότι με ερυθροκύτταρα ενηλίκων. Αυτό το χαρακτηριστικό επίσης το μοιράζονται με μερικά παραδείγματα του αντι-Lub ή αντι-Vel τα οποία θεωρούνται κλινικά σημαντικά κάθε φορά που θα τα συναντήσουμε.
4. Δεν πρέπει να βγάζουμε το συμπέρασμα ότι ένα αντίσωμα δεν είναι κλινικά σημαντικό επειδή είναι ασθενές, αλλά με υψηλό τίτλο.

Συμπερασματικά τα περισσότερα HTLA αντισώματα δίνουν τις χαρακτηριστικές εικόνες τιτλοποίησης που περιγράφηκαν. Ωστόσο πρέπει να έχουμε στη σκέψη μας ότι δεν είναι όλα τα παραδείγματα υψηλού τίτλου ή χαμηλής συγγένειας.

ε. HTLA ΚΑΙ ΑΛΛΕΣ ΟΝΟΜΑΣΙΕΣ

Επειδή δεν ανευρίσκονται σε όλα τα παραδείγματα των HTLA αντισωμάτων τα χαρακτηριστικά του υψηλού τίτλου σε συνδυασμό με τη χαμηλή συγγένεια διάφοροι άλλοι τίτλοι έχουν προταθεί για την καλύτερη κατηγοριοποίηση αυτής της

ομάδας. Ο Giles χρησιμοποίησε τον όρο « Serologically Difficult Antibodies».Ο Judd ⁵⁴ τους έδωσε την ονομασία «Serum Hemagglutinins of Inscrutable Type» ενώ ο Moltan “ Frustrating antibodies Requiring Tedious Technics”. Όλες αυτές οι ετικέτες περιγράφουν σίγουρα σε κάποιο βαθμό τα εν λόγω αντισώματα, αλλά μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για να περιγράψουν συγκολλητίνες των άλλων συστημάτων ομάδων αίματος. Με αυτή την έννοια αυτοί οι ορισμοί δεν είναι κατάλληλοι όπως εξ’ άλλου και ο ορισμός HTLA.

Ένας καλός ορισμός αναφερόταν στο παρελθόν σαν λευκοσυγκολλητίνη. Τα χαρακτηριστικά του τίτλου και οι ποικίλες ασθενώς θετικές αντιδράσεις με τα ερυθροκύτταρα μοιάζουν στενά με αυτά που έχουν κάποια αντισώματα έναντι αντιγόνων που υπάρχουν και στα λευκοκύτταρα και στα ερυθροκύτταρα. Υπάρχει διαφωνία για τη χρήση της ονομασίας HTLA γιατί μπορεί να γίνει σύγχυση με τα HLA και να δείχνουν συσχετισμούς που δεν υπάρχουν.

Η σύγχυση μεταξύ των HTLA αντισωμάτων και των λευκοσυγκολλητινών προέκυψε στο τέλος του 1960 και νωρίς το 1970. Το 1967 ο Harris ⁶¹ πρώτα περιέγραψε το αντι-Cha που έχει παρόμοια ορολογικά χαρακτηριστικά με το αντι-λευκοκυτταρικό αντίσωμα HLA αντι-Bg. Επιπρόσθετα πολλές περιπτώσεις αντι-Cha δίνουν ποικίλες αντιδράσεις με την πλειοψηφία των ερυθροκυτταρικών αντιδραστηρίων του εμπορίου με αποτέλεσμα την ακόμη μεγαλύτερη δυσκολία στην ταυτοποίηση τους.

Το 1970 αναφέρθηκε ότι κάποια από τα HLTΑ αντιγόνα θα μπορούσαν να απομονωθούν σε διαλυτή μορφή στο πλάσμα ή στον ορό ⁶³. Δύο χρόνια αργότερα ανακαλύφθηκε διαλυτή Cha ουσία στο πλάσμα. Το αντι-Cha μπορεί να εξουδετερωθεί εντελώς από πλάσμα ενός Cha(+) ατόμου. Από την άλλη μεριά αντι-Cha απέτυχε να αντιδράσει με κατεργασμένα με ένζυμο ερυθρά Cha(+) ενώ αντίθετα αντι-HLA αντισώματα (που συχνά μοιμούνται τα HTLA) έδωσαν ενισχυμένες αντιδράσεις με τέτοια κατεργασμένα κύτταρα⁶⁴.

Αξίζει να αναφερθεί ότι η υφιστάμενη σύγχυση ενισχύθηκε από το γεγονός ότι ορισμένα πρώιμα παραδείγματα αντι-Cha, αντι-Yka και αντι-Csa αρχικώς αξιο-

λογήθηκαν λανθασμένα. Για παράδειγμα όποιο αντίσωμα απέτυχε να συγκολληθεί ένα γνωστό Cha αρνητικό ερυθροκύτταρο ταυτοποιήθηκε ως αντι-Cha. Ωστόσο ερυθροκύτταρα στα οποία λείπει ένα από τα HTLA αντιγόνα συχνά στερούνται και αρκετά από τα άλλα HTLA αντιγόνα ^{49,62}. Ένα Cha αρνητικό ερυθροκύτταρο θα μπορούσε να είναι και Csa αρνητικό - ή Yka αρνητικό. Αντισώματα που αποτυγχάνουν να αντιδράσουν με ένα Cha αρνητικό ερυθρό δεν θα ήταν κατ' ανάγκη αντι-Cha αλλά αντίθετα θα μπορούσε να είναι αντι-Csa ή αντι-Yka. Ως εκ τούτου θετική ταυτοποίηση ενός HTLA αντισώματος απαιτεί τη χρήση περισσότερων από ένα δείγματα ερυθροκυττάρων που δεν έχουν το αντίστοιχο αντιγόνο.

Ο παρακάτω πίνακας αποτυπώνει την παρουσία ή όχι HTLA αντιγόνων στο πλάσμα ως διαλυτές ουσίες και στην επιφάνεια των λευκοκυττάρων. Από τα εν λόγω αντιγόνα μόνο το Cha και Rga βρίσκονται ως διαλυτές ουσίες στο πλάσμα. Όπως θα συζητηθεί παρακάτω το Cha και Rga αποτελούν καθοριστικούς παράγοντες για το ανθρώπινο συμπλήρωμα⁷. Επειδή οι ερυθροκυτταρικές μεμβράνες διαθέτουν υποδοχείς για τον παράγοντα του συμπληρώματος C4, ειδικά για το C4b, ερυθρά αιμοσφαίρια είναι δυνατό να προσροφήσουν στην επιφάνειά τους C4 μαζί με τα HTLA αντιγόνα Cha και Rga.

		παρουσία		παρουσία	
	αντιγόνο	στο πλάσμα		στα λευκοκύτταρα	
	Cha	yes		no	
	Rga	yes		no	
	Csa	no		no	
	Yka	no		no	
	Kna	no		*	
	McCa	no		*	
	Hy	no		no	
	Gya	no		*	
	JMH	no		no	

Προσπάθειες προσρόφησης των HTLA αντισωμάτων Csa, Υka, Hy, και JMΗ από λευκοκύτταρα υπήρξαν γενικά ανεπιτυχείς^{47,48}. Η αναφερόμενη ανικανότητα των λευκοκυττάρων να προσροφήσουν αντι-Cha επίσης υποδεικνύει ότι οι καθοριστικοί αυτοί παράγοντες λείπουν από τις μεμβράνες των λευκοκυττάρων. Άλλοι ερευνητές όπως ο Ferrone⁶⁶ έχουν δημοσιεύσει στοιχεία που να υποδηλώνουν ότι το C4 μόριο μπορεί στην πραγματικότητα να είναι παρόν στην μεμβράνη των λεμφοκυττάρων αν και μόνο σε μικρές ποσότητες. Αυτό το μόριο μπορεί να προσροφηθεί παθητικά ή να παραχθεί από το λευκοκύτταρο το ίδιο. Έτσι μπορεί να είναι απαραίτητο να χρησιμοποιηθούν τεχνικές που είναι πιο ευαίσθητες από τις διαδικασίες προσρόφησης / αναστολής για να αποκλειστεί οριστικά η παρουσία του Cha ή Rga ή οποιουδήποτε από τα άλλα αναφερόμενα αντιγόνα από την επιφάνεια των λευκοκυττάρων.

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

B.1. ΗΤΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΚΑΙ ΤΑ ΑΝΤΙΓΟΝΑ ΠΟΥ ΤΑ ΟΡΙΖΟΥΝ

B.1.A. ΗΤΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΠΟΥ ΕΞΟΥΔΕΤΕΡΩΝΟΝΤΑΙ ΜΕ ΠΡΟΣΘΗΚΗ

ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ

- ANTI-CHIDO ΚΑΙ ANTI-RODGERS

Τα αντιγόνα Chido/Rodgers έχουν αναγνωρισθεί ως το 017 σύστημα ομάδων αίματος στο ISBT. Είναι IgG και κυρίως IgG2 και IgG4. Το αντίσωμα Chido αντιδρά με σχεδόν όλα τα διαθέσιμα ερυθρά ελέγχου καθώς το αντίστοιχο αντιγόνο είναι υψηλής συχνότητας και εκφράζεται στα ερυθρά της πλειοψηφίας των αιμοδοτών.

Μια σημαντική επιτυχία επιτεύχθηκε όταν ανακαλύφθηκε ότι το πλάσμα όλων των Cha(+) ατόμων περιέχει την ουσία (αντιγόνο) Chido που είναι ικανό να αναστείλει ειδικά το αντι-Chido αντίσωμα^{7,28,38}.

Το αντι-Rodgers μοιάζει πολύ με τα χαρακτηριστικά του αντι-Chido. Η ομοιότητα επεκτείνεται στην ειδική αναστολή του αντισώματος από το πλάσμα Rga(+) ατόμων.

Ο ορός των περισσότερων τυχαίων αιμοδοτών περιέχει διαλυτές Cha και Rga αντιγονικές ουσίες, που είναι σε θέση να εξουδετερώσουν αντι-Cha ή αντι-Rga αντισώματα. Αυτά τα δύο αντισώματα αποτυγχάνουν να αντιδράσουν με ερυθρά επεξεργασμένα με ένζυμο. Αν ένα ΗΤΛΑ αντίσωμα παρουσιάζει και τα δύο αυτά τα χαρακτηριστικά μπορεί να υπάρχουν υποψίες ότι το αντίσωμα μπορεί να είναι αντι-Cha ή αντι-Rga. Επιπλέον η χρήση των τεχνικών αναστολής του ορού και / ή η χρήση επεξεργασμένων με ένζυμο ερυθρών μπορεί να βοηθήσει περαιτέρω στην ανίχνευση άλλων αλλοαντισωμάτων ομάδων αίματος⁴. Τα Chido και Rodgers έχει αποδειχθεί ότι συνδέονται στενά με το σύστημα HLA και ότι και τα δύο αντιγόνα εντοπίζονται στο C4 συστατικό του συμπληρώματος⁹. Και τα δύο αντισώματα είναι αναγνωρίσιμα αντισώματα που ανήκουν στην ο-

μάδα των HTLA. Μολονότι φαίνεται στον πίνακα 1 να είναι παρόμοια ορολογικά το αντι-Chido και αντι-Rodgers έχει φανεί ότι έχουν διαφορετική ειδικότητα δηλαδή αναγνωρίζουν διαφορετικούς αντιγονικούς επιτόπους.

ΟΡΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Και τα δύο αντισώματα βρίσκονται στον ορό πολυμεταγγιζόμενων ατόμων ή πολύτοκων γυναικών και ανιχνεύονται με την τεχνική του αντισφαιρινικού ορού και με IGg αντιορούς. Συνήθως δεν δεσμεύουν το συμπλήρωμα⁹. Και τα δύο συνδέονται ασθενώς με τα ερυθροκύτταρα και υπόκεινται σε αυτόματη έκλυση. Εκτός από την πολύ εύθραυστη συγκόλληση εύκολα διασπώνται. Η επεξεργασία με ένζυμο επηρεάζει δυσμενώς την αντίδραση και των δύο αντισωμάτων και οι αντιδράσεις μπορεί να είναι ασθενέστερες ή ανύπαρκτες. Δεν βρέθηκαν αντι-Chido στα eluates που παρασκευάστηκαν με τη μέθοδο Landsteiner ή με την τεχνική του αιθέρα του Rubins. Αργότερα το αντίσωμα εκλύθηκε με μέθοδο εν θερμώ.

Συμπερασματικά τα αντι-Chido και αντι-Rodgers μπορεί να αναγνωριστούν α) από τις εύθραυστες συγκολλήσεις β) ασθενείς αντιδράσεις με ερυθρά ομφαλίου λώρου ή ερυθρά ενηλίκων κατεργασμένα με ένζυμο και γ) με μερική ή πλήρη αναστολή τους από πλάσμα ασύμβατων δοτών, αλλά όχι από σίελο.

ΔΙΑΛΥΤΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ

Η ανακάλυψη της ουσίας Chido στο πλάσμα έδωσε τη δυνατότητα να γίνει μεγαλύτερη πρόοδος για το χαρακτηρισμό αντι-Chido και αντι-Rodgers³³.

Πίνακας 1

Ορολογικά χαρακτηριστικά των anti-Cha και anti-Rga

Τάξη ανοσοσφαιρίνης	IgG
Σύνδεση με το συμπλήρωμα	όχι
Αντίδραση με	
Ερυθροκύτταρα ενηλίκων	~ 98%
Ερυθρά ομφαλίου λώρου	ασθενή
Ερυθρά επεξεργασμένα με ένζυμο	ασθενή(αρν)
Ισχύς της συγκόλλησης	μεταβλητή

Πίνακας 2

Αναστολή του αντι-Cha (Rga)

Αραίωση του αντι-Cha (Rga)

Ουσίες που προστίθενται 1 2 4 8 16 32 φ.ο

+ φ.ο 2 1 1 w 0 0 0

+ Ch(Rg)(a-) ορός 2 1 1 1 w 0 0

+ Ch(Rg)(a+) ορός 0 0 0 0 0 0 0

W= ασθενές

Αν και τα δύο αντισώματα μπορεί να ανασταλούν από τις διαλυτές ουσίες του πλάσματος (πίνακας 2) υπάρχουν λεπτές διαφορές σε αυτό το χαρακτηριστικό. Αν και η ισχύς του αντιγόνου στα Cha(+) κύτταρα ποικίλει (πίνακας 3) η ποσότητα της ουσίας του Chido στο πλάσμα είναι σχετικά σταθερή σε διαφορετικά άτομα. Αυτό ισχύει επίσης και για τα Cha(+) ερυθρά ομφαλίου λώρου τα οποία έχουν στον ορό τους ουσίες Chido σε επίπεδο ενηλίκων σε αντίθεση με τα ασθενέστερα αντιγόνα Chido που βρίσκονται στα ερυθροκύτταρα των ενηλίκων.

Οι οροί από μερικά Rga(+) άτομα μπορεί να αναστείλουν πλήρως αντι-Rga ενώ οι οροί από άλλα τα αναστέλλουν μερικώς (πίνακας 4). Αυτό έχει αποδοθεί στην εξασθενημένη αντιγονική έκφραση Rga στα ερυθρά κύτταρα αυτών των ατόμων. Η μερική έκφραση Rga μπορεί να επιβεβαιωθεί μοριακά με την ανίχνευση της παρουσίας του γονιδίου Rg .

Μερική αναστολή μπορεί να ανιχνευθεί μόνο με αραιώσεις αντι-Rodgers. Το αντίσωμα δεν αναστέλεται από το σάλιο, τα ούρα ή το ανθρώπινο γάλα. Η διαδικασία για την αναστολή του πλάσματος είναι μια απλή τεχνική. Χρειάζεται προσοχή όταν ερμηνεύουμε τα αποτελέσματα των δοκιμασιών ιδιαίτερα αν πρόκειται για μερική αναστολή. Μερική αναστολή επίσης μπορεί να προκληθεί αν το ειδικό αντίσωμα δεν είναι επαρκώς αραιωμένο ώστε να επιτευχθεί πλήρης αναστολή, ή εάν ο ορός έχει περισσότερες από μία ειδικότητες αντισώματος⁴.

Έχει προταθεί ότι ο μόνος αξιόπιστος τρόπος για να γίνει διάκριση μεταξύ ασθενώς Chido ή Rodgers θετικών κυττάρων και πραγματικά αρνητικών κυττάρων είναι να εκτελεστεί μια δοκιμασία αναστολής με πλάσμα χρησιμοποιώντας ένα γνωστό δείγμα πλάσματος με το ειδικό αντίσωμα.

Η εξουδετέρωση του αντι-Ch ή αντι-Rg γίνεται με την επώαση του πλάσματος του ασθενή με ροοί AB πλάσματος αιμοδοτών πριν τη διασταύρωση. Συνήθως καταργείται η αντιδραστικότητα αυτών των αντισωμάτων. Μια αραιώση control γίνεται με το πλάσμα του ασθενούς και με το ειδικό διάλυμα PBS (phosphate-

buffered saline) παράλληλα με το εξουδετερωμένο πλάσμα που γίνεται με τη δοκιμή της ανάμιξης με pool AB αιμοδοτών⁴¹.

Πίνακας 3

Αντιδράσεις δοτών με αραιωμένο αντι-Cha

<u>Πολύ ισχυρή</u>	<u>ισχυρή</u>	<u>μέτρια</u>	<u>ασθενής</u>	<u>πολύ ασθενής</u>	<u>αρνητική</u>
6.3%	42%	31%	12.8%	6.3%	0

Πίνακας 4

Μερική αναστολή από ορό Rg(a+)

Αραίωση του αντι-Rga

<u>Ουσίες που προστίθενται</u>	<u>8</u>	<u>16</u>	<u>32</u>	<u>64</u>	<u>128</u>	<u>φ.ο</u>
+ φ.ορός	3	3	3	2	2	0
+ Rg(a-) ορός	3	3	3	2	2	0
+ Rg(a+) ορός	0	0	0	0	0	0
+ Rg(a+) ορός (μερική)	2	1	w	0	0	0

W= ασθενές

HLA ΣΥΝΔΕΣΗ

Έγινε μελέτη 156 οικογενειών που είχαν ταυτοποιηθεί ως προς HLA και Chido⁶⁹. Φάνηκε ότι υπήρχε πολύ ισχυρή σύνδεση ήταν $> 0,000001$. Ο HLA φαινότυπος HLA – B12, Bw35 συσχετίστηκε με Cha(-) περισσότερο συχνά απ' ό,τι στον πληθυσμό ελέγχου. Οι ερευνητές εξέφρασαν την άποψη ότι το Chido είναι μια ανεξάρτητη γονιδιακή θέση στο χρωμόσωμα 6 στενά στο HLA.

Ισχυρή συσχέτιση μεταξύ Rodgers και HLA παρουσιάστηκε για πρώτη φορά όταν αναφέρθηκε ότι οκτώ από τα εννιά Rga(-) άτομα είχαν το φαινότυπο HLA-A1, B8¹⁰⁷. Το 9^ο Rga(-) που μελετήθηκε ήταν HLA –A1, B8 Bw35. Μια συνδυασμένη μελέτη από οκτώ ερευνητές σε πέντε χώρες έδειξε σύνδεση μεταξύ Rodgers και της περιοχής HLA. Προτάθηκε ότι Rodgers και Chido μπορεί να έχουν την ίδια κατά προσέγγιση θέση στο χρωμόσωμα 6 όπως το Bf (παράγοντας B της προπερδίνης). Φαίνεται ότι κωδικοποιούνται από διαφορετικά μέρη του σιστρονίου και είναι στενά συνδεδεμένα με το HLA- B:C. Τα γονίδια Chido και Rodgers δεν έχουν αποκλειστεί ως μέρη της B ή C γονιδιακής θέσης. Η γενετική συσχέτιση των δύο Chido και Rodgers με HLA δείχνει μια άλλη σύνδεση στην αλυσίδα των ομοιοτήτων μεταξύ των δύο αντιγόνων.

ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑ

Σε αναφορά για το αντι-Rodgers⁹¹ αντίσωμα παρατηρήθηκε ότι σε διήθηση με γέλη sephantex G200 το αντιγόνο του πλάσματος που είναι ικανό να εξουδετερώσει το αντι-Rodgers εκλούστηκε με το κλάσμα που περιείχε α και β σφαιρίνες. Διαπιστώθηκε επίσης ότι τα αντι-Rodgers αντέδρασαν περισσότερο έντονα με κύτταρα που ήταν σε πήγμα από ότι με κύτταρα με ACD ή EDTA³⁸ δείγματα από τα ίδια άτομα. Και οι δύο αυτές οι παρατηρήσεις μπορεί να συνδέονται με το συμπλήρωμα. Μειωμένη δραστικότητα του Rodgers σε δείγματα με αντιπηκτικό πιθανότατα προκύπτει από την έλλειψη ασβεστίου

που εμποδίζει την ενεργοποίηση του συμπληρώματος και την επακόλουθη πρόσληψη του C4 από τα ερυθροκύτταρα.

Έχουν συσχετιστεί φαινότυποι του Chido και Rodgers με ηλεκτροφορητικό πολυμορφισμό του C4 στοιχείου του ανθρώπινου συμπληρώματος^{9,39}. Η τυποποίηση για Chido και Rodgers έδειξε ότι υφίστανται οι φαινότυποι Cha(-)Rga(+), Cha(+)Rga(-) και Cha(+)Rga(+). Ένας ασθενής με λειτουργική και ανοσοχημική –ποιοτική C4 ανεπάρκεια βρέθηκε να είναι Cha(-) Rga(-).

Αποδείχτηκε ότι το C4 αντιγόνο που απομονώθηκε ανέστειλε το αντι-Rodgers και το αντι-Chido, και ότι Chido και Rodgers εντοπίζονται στην πραγματικότητα στο C4d κλάσμα του C4 συστατικό του συμπληρώματος⁹.

Ενώ τα αντι-Chido/ Rodgers συνήθως αντιδρούν μόνο στη φάση του αντι-σφαιρινικού ορού, μπορούν να ανιχνευθούν εύκολα με άμεση συγκόλληση σε φυσιολογικό ορό όταν τα C4 αντιγόνα μεταφέρονται σε ερυθροκύτταρα σε διάλυμα χαμηλής ιονικής ισχύος (10% σουκρόζη). Επώαση του δείγματος σε 10% σουκρόζη είναι μια καλή μέθοδος για να ευαισθητοποιηθούν κύτταρα με συμπλήρωμα in vitro. Η ενίσχυση των αντιγόνων Chido και Rodgers σε σουκρόζη προκύπτει μόνο όταν χρησιμοποιείται ορός ή ACD πλάσμα αλλά όχι με EDTA πλάσμα.

Η ανεπάρκεια του C4 και η σχέση του με το φαινότυπο Ch/Rg null είναι σπάνια και συνήθως συνοδεύεται από αυτοάνοσο νόσημα συνήθως συστηματικό ερυθματώδη λύκο(ΣΕΛ)⁸⁶. Αυτός ο συνδυασμός μπορεί να προκύψει από μη αποτελεσματική διαλυτότητα και απομάκρυνση άνοσων συνσωματωμάτων σε απουσία του C4. Υπάρχει μια σημαντικά μεγαλύτερη παρουσία του ΣΕΛ σε άτομα που τους λείπει το γονίδιο C4A απ' ότι στο γενικό πληθυσμό³⁴.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ

ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ ΝΕΟΓΝΟΥ

Τα αντι- Chido και αντι-Rodgers είναι IgG αντισώματα και ικανά να διαπεράσουν τον πλακούντα. Ωστόσο δεν είναι πιθανή η ευαισθητοποίηση των

ερυθρών του νεογνού λόγω του ελεύθερου αντιγόνου στο πλάσμα και της ασθενούς έκφρασης των αντιγόνων στα ερυθρά του νεογνού. Καμία περίπτωση αιμολυτικής νόσου του νεογνού (HDN) λόγω αντι-Chido ή αντι-Rodgers δεν έχει αναφερθεί ακόμη⁶⁷.

Ch/Rg αυτοαντισώματα είναι υπεύθυνα για θετική DAT που εμφανίστηκε σε γυναίκα στην 35^η εβδομάδα της κύησης και εξαφανίστηκε λίγους μήνες μετά τον τοκετό. Αυτό συνέβη σε δύο εγκυμοσύνες, και στις δύο περιπτώσεις τα νεογνά είχαν DAT αρνητική.

ΜΕΤΑΓΓΙΣΗ

Παρατηρήθηκε σε μια περίπτωση που εξετάστηκε ότι ο τίτλος αντισώματος του ασθενούς αυξήθηκε από 8 σε 2048 μετά από μετάγγιση με Cha(+) ερυθρά που ήταν συμβατά στη διασταύρωση. Ο ασθενής μετά τη μετάγγιση είχε άμεση coombs αρνητική⁹².

Παρόλα αυτά έχει προταθεί ότι είναι σημαντικό να επιλέγονται Chido αρνητικοί δότες για ασθενείς που έχουν κάνει αντι-Chido αντίσωμα⁷⁰.

Σε δύο ασθενείς που είχαν μεταγγιστεί με Cha(+) ερυθρά δεν παρατηρήθηκαν ανεπιθύμητες αιμολυτικές αντιδράσεις μετά τη μετάγγιση. Στον ένα από αυτούς η άμεση coombs μετά τη μετάγγιση έγινε θετική και το αντι-Chido εκκλούστηκε από τα ερυθρά. Σε μια περίπτωση μελετήθηκε η επιβίωση των ερυθρών με Cr 51 και η 24ωρη επιβίωση ήταν φυσιολογική⁷⁰.

Σεσημασμένα με ράδιο ισχυρά αντιδραστικά Cha(+) ερυθρά εγχύθηκαν σε δύο ασθενείς με αντι-Chido. Τα κύτταρα επιβίωσαν φυσιολογικά κατά τη διάρκεια μιας περιόδου 7 ημερών σε μία περίπτωση και για 16 μέρες σε μία άλλη.

Προέκυψε το συμπέρασμα ότι τουλάχιστον σε αυτούς τους δύο ασθενείς τα αντισώματα δεν ήταν κλινικά σημαντικά. Δεν έχουν αναφερθεί μελέτες επιβίωσης των Rga(+) ερυθροκυττάρων σε ασθενείς με αντι-Rodgers. Είναι πολύ

πιθανό ότι όπως στην περίπτωση με αντι-Chido, έτσι και ασθενείς με αντι-Rodgers στον ορό τους, μπορεί να έχουν μεταγγιστεί με Rga(+) αίμα χωρίς να έχουν αρνητικές επιπτώσεις.

Τα αντι-Ch και Rg έχουν ενοχοποιηθεί για σοβαρές αναφυλακτικές αντιδράσεις μετά την μετάγγιση FFP ή PLT^{7,86}.

Το αντι-Chido αρχικά περιγράφηκε σαν <nebulous>(νεφελώδες) λόγω της εξαιρετικά ποικίλης αντίδρασης με ερυθροκύτταρα από ενήλικες.

Μεταγενέστερα το αντι-Chido και το αντι-Rodgers τοποθετήθηκαν σε μια τάξη με άλλα αντισώματα παρόμοιας δραστηριότητας. Τα μέλη αυτής της ομάδας είναι γνωστά ως HTLA αντισώματα. Το Chido και Rodgers διαφοροποιούνται από άλλα αντισώματα στην τάξη των HTLA γιατί όπως αναφέρθηκε παραπάνω εξουδετερώνονται με την προσθήκη πλάσματος.

B.1.B. HTLA ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΕΞΟΥΔΕΤΕΡΩΝΟΝΤΑΙ ΜΕ ΠΡΟΣΘΗΚΗ

ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ

Τα HTLA αντισώματα που δεν εξουδετερώνονται με προσθήκη πλάσματος παρουσιάζουν τα χαρακτηριστικά που αναγράφονται στον πίνακα 1. Όπως φαίνεται τα αντιγόνα αυτά που έχουν οριστεί από τα μη εξουδετερώσιμα HTLA αντισώματα –Cartwright (Yta), Cost (Csa), York (Yka), Gregory (Gya) Holley (Hy), Knops (Kna), και Mc Coy (Mc Ca) μοιράζονται πολλά από τα ίδια ορολογικά χαρακτηριστικά⁷¹. Επι πλέον η παρουσία ή η απουσία μερικών από αυτά τα αντιγόνα στα ερυθρά φαίνεται να σχετίζεται φαινοτυπικά με την παρουσία ή την απουσία άλλων. Συσχετίσεις έχουν βρεθεί ότι υπάρχουν μεταξύ Hy και Gya, Kna και McCa, Yka και Csa και τελικά μεταξύ των αντιγόνων Yka, Csa, Kna και McCa. Τα γονίδια που παράγουν αυτά τα αντιγόνα φαίνονται να κληρονομούνται με βάση τον επικρατούντα Μενδέλειο χαρακτήρα. Απαντώνται στο

97,5% του πληθυσμού εκτός από το Υka (πίνακας 2). Στους καυκάσιους το Υka έχει μια συχνότητα περίπου 92% .

Τα αντιγόνα Υta-Υtb, Holley-Gregory(Hy-Gga), JMΗ και Dombrock, απουσιάζουν από τα ερυθροκύτταρα των ασθενών με παροξυντική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία (PNH). Η παροξυντική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία είναι μια επίκτητη διαταραχή που σχετίζεται με την απουσία έκφρασης της φωσφατιδυλινοσιτόλης (GPI). Αυτά τα αντισώματα συνδέονται με τις GPI-linked proteins που απουσιάζουν πλήρως από τα PNH III ερυθροκύτταρα, μερικώς από τα PNH II αλλά όχι από τα PNH I ερυθροκύτταρα²⁵.

Η ισχύς των αντιγόνων στα ερυθρά αιμοσφαίρια ποικίλει από άτομο σε άτομο σημαντικά και όταν πρόκειται να συνδεθούν με ασθενή αντισώματα είναι δύσκολο να γίνει διάκριση μεταξύ πραγματικά αρνητικών ερυθρών και ερυθρών που εκφράζουν ασθενή αντιγόνα. Τα περισσότερα από αυτά τα αντιγόνα με εξαίρεση το Υta και το JMΗ δεν καταστρέφονται με πρωτεολυτικά ένζυμα. Όλα τα στοιχεία δείχνουν ότι αυτά τα αντιγόνα βρίσκονται στα ερυθρά και δεν βρίσκονται στα λευκοκύτταρα ή στα αιμοπετάλια⁶². Επιπλέον δεν υπάρχουν αποδείξεις ότι οι ουσίες της ομάδας αίματος που μοιάζουν με οποιοδήποτε από αυτά τα αντιγόνα μπορεί να βρεθούν στο φυσιολογικό πλάσμα ή σε άλλες εκκρίσεις του σώματος. Δηλαδή η επώαση των αντισωμάτων έναντι καθενός από τα αντιγόνα που περιγράφονται στον πίνακα 1 με ροοί φυσιολογικών ορών ή άλλων σωματικών υγρών δεν θα οδηγήσει σε αναστολή ή εξουδετέρωση της δραστηριότητας του αντισώματος.

Για το λόγο αυτό ταξινομούνται σαν μη εξουδετεώσιμα HTLA αντισώματα.

Πίνακας 1

Χαρακτηριστικά των αντιγόνων Υka , Csa , Kna , McCa , Υta , Hy , Gya, JMΗ⁶

- 1 . Κληρονομούμενα με τη μενδέλιο επικρατούσα κληρονομικότητα.
- 2 . Υψηλής συχνότητας ερυθροκυτταρικά αντιγόνα.

- 3 . Γενικά ανεπτυγμένα στα κύτταρα ομφαλίου λώρου.
- 4 . Δεν εξουδετερώνονται από πρωτοελυτικά ένζυμα, (με φυσίνη ή παπαίνη) με εξαίρεση το Υτα και το JMΗ.
5. Καταστρέφονται με θρυψίνη(Knops, JMΗ).
- 6 . Δεν βρίσκονται στα λευκοκύτταρα και τα αιμοπετάλια.
- 7 . Δεν βρίσκονται σαν διαλυτά αντιγόνα.

Πίνακας 2

Ποσοστιαία συχνότητα των αντιγόνων στον πληθυσμό

	Αντιγόνο	Καυκάσιοι	Μαύροι	
	Υτα	99.8	99.8	
	Υka	92	98	
	Csa	97.5	99.9	
	Kna	99.8	99.8	
	McCa	98.5	96.7	
	Hy	99.9	99.9	
	Gya	99.9	100	
	SI	98	60	

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

Ένα κοινό χαρακτηριστικό που μοιράζονται αυτά τα αντισώματα (πίνακας 3) είναι η ικανότητά τους να αντιδρούν σε υψηλές αραιώσεις ενώ εμφανίζουν σχετικά ασθενή συγκόλληση. Ο όρος HTLA έχει εφαρμοστεί για να τα διακρίνει από τα πιο συνηθισμένα ερυθροκυτταρικά αντισώματα τα οποία συνήθως είναι χαμηλού τίτλου και υψηλής συγγένειας.

Η μελέτη των αντισωμάτων που ορίζονται από τα αντιγόνα Υτα , Υκα ,Csa, Kna, McCa, Hy, και Gya είναι δύσκολη. Όπως έχει ήδη αναφερθεί η παρουσία των αρνητικών αποτελεσμάτων μπορεί να είναι παραπλανητική. Αυτά τα αντισώματα μπορεί να έχουν μια μεγάλη μεταβλητότητα όταν εξετάζονται με ερυθρά ελέγχου θετικών κυττάρων ως προς τα αντίστοιχα αντιγόνα σε δοκιμασία αντισφαιρινικού ορού. Θετικές αντιδράσεις μπορεί να κυμαίνονται από μέτρια αντίδραση 2+ έως πολύ ασθενείς αντιδράσεις –μόνο μικροσκοπικά. Ισχυρότερα αντισώματα έχουν περιγραφεί αλλά είναι σπάνια.

Μια εξήγηση για τη μεγάλη ποικιλία της ισχύος του αντιγόνου μπορεί να είναι ότι τα ειδικά αντισώματα επιδεικνύουν το φαινόμενο δόσης δηλαδή αντιδρούν ισχυρότερα με ομόζυγα ερυθροκύτταρα από ότι με ετερόζυγα⁷³. Φαίνεται να υποστηρίζεται αυτή την ιδέα για τα Hy και Gya αντιγόνα, δεν αποδείχθηκε όμως για το Csa⁴⁹.

Άλλη εξήγηση για αυτές τις ποικίλες αντιδράσεις θα μπορούσε να ερμηνευθεί χρησιμοποιώντας το I και το P σύστημα σαν πρότυπο. Εδώ η ποικιλία στην ισχύ του αντιγόνου θα μπορούσε να είναι ένας σταθερά κληρονομήσιμος παράγοντας, με κάθε άτομο να ποικίλει η ποσότητα των κληρονομούμενων αντιγονικών θέσεων. Η περιεκτικότητα σε αντιγόνο θα είναι σταθερή στη διάρκεια της ζωής των ατόμων, αλλά ποικίλει από άτομο σε άτομο. Όποια και αν είναι η σωστή εξήγηση η ποικιλία των αντιδράσεων τείνει να προσθέσει περαιτέρω δυσκολία στη μελέτη αυτών των αντισωμάτων. Αυτή η ποικιλία αντιδραστικότητας μπορεί να μιμηθεί αντιδράσεις πολλαπλών αντισωμάτων.

Αυτή η συγκεκριμένη ομάδα αντισωμάτων δεν μπορεί να εξουδετερωθεί με ροοι φυσιολογικών ορών ή άλλων σωματικών υγρών. Εδώ βρίσκεται μια πολύ σημαντική διάκριση. Αυτή η δοκιμή εξουδετέρωσης, σε συνδυασμό με δοκιμασίες λευκοκυττάρων και αιμοπεταλίων, διαχωρίζει τα αντισώματα που έχουν συζητηθεί από τα αντιλευκοκυτταρικά και αντιαιμοπεταλιακά αντισώματα⁶². Τα Υτα, Υκα, Csa, Hy, Kna και McCa αντιγόνα είναι όλα αντιερυθροκυτταρικά αντι-

γόνα. Δεν τα μοιράζονται με τα λευκοκύτταρα, ούτε κατευθύνονται τα αντίστοιχα αντισώματα έναντι αντιγόνων που αλληλεπιδρούν με αντιγονικές θέσεις στα λευκοκύτταρα και στα αιμοπετάλια.

Ως αποτέλεσμα της χαμηλής συγγένειας αυτών των αντισωμάτων οι μελέτες προσρόφησης και έκλουσης συχνά δεν είναι ικανοποιητικές ή δίνουν ασθενείς αντιδράσεις στο έκλουμα. Οι μελέτες προσρόφησης πρέπει να γίνονται χρησιμοποιώντας ισχυρά αντιδρώντα κύτταρα, και μεγάλη ποσότητα ορού. Δεδομένου ότι αυτή η διαδικασία δεν είναι πάντα επιτυχής, δεν είναι διαδικασία που συνίσταται για έλεγχο ασθενών αντιδρώντων ή αρνητικών ερυθροκυττάρων ώστε να προσδιοριστεί αν αυτά είναι αντιγονο-θετικά ή αντιγονο-αρνητικά.

Τα μη εξουδετερώσιμα HTLA αντισώματα είναι όλα IgG ανοσοσφαιρίνες³¹. Δεν δεσμεύουν το συμπλήρωμα και γενικά αντιδρούν καλά με ερυθρά κατεργασμένα με ένζυμο καθώς και με μη κατεργασμένα ερυθρά. Το αντι-Υτα μπορεί να είναι η εξαίρεση δεδομένου ότι πολλά δείγματα μπορεί να μην αντιδρούν με ερυθρά κατεργασμένα με ένζυμο.

Η ανάπτυξη αυτών των αντισωμάτων εξαρτάται από προηγούμενη ευαισθητοποίηση με αντιγονοθετικά ερυθροκύτταρα από μετάγγιση ή εγκυμοσύνη. Δεν παρατηρήθηκαν κλινικά σημαντικές περιπτώσεις αιμολυτικής νόσου του νεογνού που να έχουν αποδοθεί σε κάποιο από αυτά τα αντισώματα. Τα δείγματα ομφαλίου λώρου των αντιγονοθετικών παιδιών που γεννήθηκαν από ευαισθητοποιημένες μητέρες συνήθως έχουν ασθενώς θετική την DAT, αλλά κανένα άλλο κλινικό εύρημα ή σύμπτωμα δεν βρέθηκε σε αυτά τα νεογνά.

Οι μεταγγίσεις με αντιγονο-θετικά ερυθρά, όταν υπάρχουν αυτά τα αντισώματα είναι ως επί το πλείστον χωρίς δυσμενές αποτέλεσμα. Λίγες αντιδράσεις κατά τη μετάγγιση έχουν αναφερθεί^{49,62,90}. Η συνηθισμένη απάντηση σε ασθενείς με HTLA αντισώματα είναι μια αύξηση της ισχύς της δράσης του αντισώματος. Επίσης μπορεί να αναπτύξουν μια ασθενώς θετική DAT, χωρίς αύξηση της καταστροφής των ερυθρών.

Πίνακας 3

Χαρακτηριστικά αντισωμάτων που στρέφονται έναντι των αντιγόνων⁶

Yka , Csa , Kna , McCa , Yta , Hy , Gya , JMΗ

- 1 . Ο τίτλος εξαρτάται από τα επίπεδα CR1
- 2 . Υψηλού τίτλου και χαμηλής συγγένειας.
- 2 . Χαρακτηρίζονται από μεταβαλλόμενες αντιδράσεις.
- 3 . Δεν εξουδετερώνονται από ροοί φυσιολογικών ορών ή από άλλα υγρά του σώματος.
- 4 . Δυσκολία στην προσρόφηση και έκλουση.
- 5 . Είναι IgG ανοσοσφαιρίνη που αντιδρά στη φάση του αντισφαιρινικού ορού.
- 6 . Δεν δεσμεύει το συμπλήρωμα.
- 7 . Συνήθως δεν επηρεάζονται όταν ελέγχονται με ερυθρά επεξεργασμένα με ένζυμο (με εξαίρεση το Yta, και το JMΗ).
- 8 . Συνήθως δεν είναι κλινικά σημαντικά.

α. Yta (Cartwright)

Έχει αναγνωριστεί ως το 011 σύστημα ομάδων αίματος στο ISBT. Αποτελείται από δύο αντιγόνα το Yta (υψηλής συχνότητας) και το Ytb (χαμηλής συχνότητας). Υπάρχουν τρεις φαινότυποι Yt(a+b-), Yt (a+b+) και Yt(a-b+). Δεν έχει παρατηρηθεί κανένας φαινότυπος null Yt(a-b)³. Το αντιγόνο Yta περιγράφηκε το 1956, και ήταν η πρώτη αναφορά στην οποία ένα αντιγόνο αναγνωρίστηκε ως υψηλού τίτλου – χαμηλής συγγένειας. Το Ytb περιγράφηκε το 1964. Το Cartwright, είναι μια ομάδα αίματος που αποτελείται μέχρι σήμερα από δύο αντιγόνα το Yta και το Ytb. Περίπου το 98% του τυχαίου πληθυσμού

είναι Yta(+) και περίπου 8% του πληθυσμού είναι Ytb(+)⁴. Συμπληρωματικές μελέτες έχουν αποδείξει ότι το σύστημα Cartwright είναι ανεξάρτητο από το σύστημα ABO, MNSs, Lutheran, Rhesus, P, Kell, Secretor, Duffy, Dombrock, Scianna, και το σύστημα Colton. Το αντιγόνο Yta αν και είναι ανεπτυγμένο κατά τη γέννηση μπορεί να μην είναι τόσο καλά ανεπτυγμένο όσο στα ερυθρά των ενηλίκων³.

Το 1990 αποκαλύφθηκαν οι μοριακές διαφορές μεταξύ των δύο αντιγόνων Yt και η σημασία της απουσίας τους σε σχέση με το PNH. Φαινότυπος null που ορίζεται Yt(a-b-) δεν έχει ανιχνευθεί. Ωστόσο σε άτομα που έχουν προσβληθεί από PNH, τα αντιγόνα Yt εκφράζονται πολύ ασθενώς.

Το αντίσωμα Yta έχει όλα τα χαρακτηριστικά των μη εξουδετερώσιμων HTLA αντισωμάτων που έχουν συζητηθεί. Τα αποτελέσματα των πρωτοελυτικών ενζύμων σε αυτό το αντιγονικό σύστημα αποτελούν θέμα διαμάχης. Ο Eaton και οι συν. ανέφεραν ότι το αντι-Yta αντέδρασε με επεξεργασμένα με θρυψίνη ερυθρά αλλά η αντιγονική θέση καταστράφηκε με την παπαίνη⁹³. Ο Giles ανέφερε ότι τα αντιγόνα Cartwright δεν καταστρέφονται με την επεξεργασία με ένζυμο, αλλά παρέμεναν ανεπηρέαστα ή παρουσίασαν αύξηση της αντιδραστικότητας με το αντίστοιχο αντίσωμα. Τα περισσότερα αν όχι όλα τα παραδείγματα του αντι-Yta δεν θα αντιδράσουν ή θα εμφανίσουν μειωμένη δραστηριότητα όταν εξεταστούν με ερυθρά επεξεργασμένα με ένζυμο⁸.

Πολλά παραδείγματα αντι-Yta έχουν βρεθεί σε συνδυασμό με άλλες ειδικότητες αντισωμάτων. Έτσι είναι απαραίτητο να έχουμε υπόψιν ότι υπάρχει πιθανότητα να υπάρχει και άλλο αλλοαντίσωμα.

Το αντι-Yta γενικά θεωρείται ένα κλινικά μη σημαντικό αντίσωμα¹⁰.

Yta(+) παιδιά που γεννήθηκαν από μητέρες με αντι-Yta συνήθως θα προκύψει να έχουν μια ασθενώς θετική DAT κατά τη γέννηση, όμως τα νεογνά δεν παρουσιάζουν αιμολυτική αναιμία. Έχει βρεθεί ότι Yta ερυθροκύτταρα σεσημασμένα με χρώμιο έχουν εξαληφθεί γρήγορα από την κυκλοφορία μερικών ασθενών με αντι-Yta. Παρ' όλα αυτά πολλές μεταγγίσεις με ασύμβατα ερυθρά

σε ασθενείς με αντι-Υτα δεν είχαν σημεία αιμόλυσης. Μερικές φορές όμως ενοχοποιήθηκαν για επιβραδυνόμενες αιμολυτικές αντιδράσεις.

β. Csa (Cost)

Το Csa αντιγόνο πρωτοαναφέρθηκε το 1965. Ονομάστηκε έτσι από τα ονόματα των δύο ασθενών Mrs Coperland και Mrs Sterling που είχαν αναπτύξει αντι-Csa. Το αντιγόνο⁴² βρέθηκε σε περίπου 98% του πληθυσμού και επίσης βρέθηκε ότι ήταν καλά ανεπτυγμένο στα ερυθρά ομφαλίου λώρου. Το Csa αντιγόνο δεν σχετιζόταν με το Rhesus, Duffy, ή το Kidd σύστημα, και το γονίδιο του δεν είχε διαχωριστεί με το χρωμόσωμα.

Αντι-Csa προκύπτει αρκετά σπάνια, αλλά τα αντισώματα βρέθηκαν να έχουν τα περισσότερα από τα χαρακτηριστικά που αναφέρθηκαν στον πίνακα 3. Το αντι-Csa δεν έχει βρεθεί να προκαλεί HDN ούτε έχει ενοχοποιηθεί σαν αιτιολογικός παράγοντας για αντίδραση από μετάγγιση. Τα αντι-Csa έχουν θεωρηθεί μη κλινικά σημαντικά αντισώματα. Το Csb ~ 34%, ανακαλύφθηκε το 1987. Το Csa δεν βρίσκεται στο CR1(ο υποδοχέας του συμπληρώματος τύπου 1 – CR1- είναι γνωστός ως υποδοχέας C3b/C4b ή CD35 είναι μια πρωτεΐνη που στον άνθρωπο κωδικοποιείται από το γονίδιο CR1)¹⁰². Έτσι το Csa και το Csb έχουν παραμείνει μία «συλλογή» όπως ορίζεται στο ISBT.

γ. Yka (York)

Το αντιγόνο York έχει αναγνωριστεί ως το 022 σύστημα ομάδων αίματος στο ISBT²³. Το αντιγόνο York βρέθηκε στο 92% και στο 98% των καυκάσιων και μαύρων αντίστοιχα³⁸. Είναι ανεξάρτητο από το ABO, MNSs, Rhesus, Duffy Sector, και Cartwright συστήματα και δεν έχει χ φυλοσύνθετο χαρακτήρα. Έχει

προταθεί μια φαινοτυπική σχέση μεταξύ Υτα και Csa⁶². Παρατηρήθηκε ότι ενώ περίπου το 2% του τυχαίου καυκάσιου πληθυσμού δεν είχε το Csa αντιγόνο, 12,5% από όλους τους Υka(-) ήταν επίσης Csa(-). Αν αυτά τα αντιγόνα δεν συνδέονταν κατά κάποιο τρόπο, ένα άτομο Υka(-), Csa(-), θα μπορούσε να βρεθεί μόνο σε 0,05% του πληθυσμού. Αυτή η αύξηση των Csa(-) ατόμων μέσα σε Υka(-) πληθυσμό είναι ενισχυτική απόδειξη φαινοτυπικής συσχέτισης μεταξύ τους.

Το αντι-Υka σε αντίθεση με το αντι-Csa είναι ένα αρκετά κοινό αντίσωμα. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως το αντι-Υka, όπως τα άλλα HTLA αντισώματα συχνά έχει βρεθεί σε συνδυασμό με άλλα επιπλέον ερυθροκυτταρικά αντισώματα². Αναφέρεται ότι από 169 δείγματα που μελετήθηκαν αντι-Υka, Csa, Kna, και McCa, μόνο 62 βρέθηκαν να μην έχουν επιπλέον ερυθροκυτταρικά αντισώματα. Περαιτέρω επεξήγηση του αριθμού και της ποικιλίας των επιπλέον αλλοαντισωμάτων που βρέθηκαν σε συνδυασμό με HTLA αντισώματα, αναφέρονται παρακάτω.

Το αντι-Υka αποτυγχάνει να αντιδράσει με επεξεργασμένα με ένζυμα ερυθρά. Ωστόσο αυτά τα δεδομένα αμφισβητήθηκαν στη συνέχεια. Το Υka δεν καταστρέφεται από πρωτοελυτικά ένζυμα, ένα χαρακτηριστικό που το μοιράζεται με το Csa αντιγόνο²³.

Η κυρία York ήταν η πρώτη ασθενής στην οποία προσδιορίστηκε το αντι-Υka. Ανέπτυξε επίσης αντι-Fya και αντι-E. Μεταγγίστηκε με 64 Fya(-) και E(-) αρνητικές μονάδες το 1969. Από αυτές τις 64 μονάδες είκοσι ήταν Υka θετικές. Δεν έκανε αντίδραση σε μετάγγιση και δεν φάνηκε οποιαδήποτε μικρότερη επιβίωση των μεταγγισμένων μονάδων ερυθρών. Ωστόσο είχε αναπτύξει για μια σύντομη χρονική περίοδο μια ασθενώς θετική DAT. Το αντι-Υka επίσης φάνηκε να ενισχύεται μετά τη μετάγγιση με Υka(+) μονάδες. Δεν ανιχνεύθηκε καμία μείωση της επιβίωσης των ερυθροκυττάρων. Έχει παρατηρηθεί φυσιολογική επιβίωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων σε Υka(+) ερυθρά σε ασθενείς με αντι-Υka.

δ. Kna (Knops)

Το αντιγόνο Knops έχει αναγνωρισθεί ως το 022 σύστημα ομάδων αίματος και αποτελείται από το αντιγόνο York (Yk) και από τα ακόλουθα ζεύγη αλληλίων:

- Knops (Kn)a,b
- McCoy (McC)a,b
- Swain-Langley (Sl) 1,2

Το 1970 ο Helgeson ανέφερε ένα υψηλής συχνότητας αντιγόνο Knops - (Kna), που δεν σχετιζόταν με τα συστήματα ABO, MNSs, Rhesus, Lutheran, Secretor, ή Kidd. Το αντιγόνο Kna βρέθηκε περίπου σε 99,8% του πληθυσμού.

Η πρωτεΐνη που φέρει τα αντιγόνα ομάδων αίματος Knops είναι υποδοχέας του συμπληρώματος 1 (CR1). Οι κύριες λειτουργίες του CR1 είναι η δέσμευση της C4d/C3b, καθώς και η ρύθμιση του συμπληρώματος^{19,27}. Το CR1 είναι γνωστός ως υποδοχέας του C3b/C4b ή του CD35.

Σε ασθενή που ταυτοποιήθηκε σαν Kna(-) βρέθηκε ότι πολλοί αντιορροί δεν αντιδρούν με τα ερυθροκύτταρά του, ενώ αντέδρασαν με μερικά δείγματα άλλων γνωστών Kna(-) ερυθροκυττάρων. Μετέπειτα μελέτες με αυτά τα αντισώματα οδήγησαν στην ταυτοποίηση του αντιγόνου Mc Coy και την ταξινόμηση των ερυθρών σαν Kna(-) και McCa(-).

Αυτή τη στιγμή το Kna εμφανίζεται να είναι ένα ειδικό ερυθροκυτταρικό αντιγόνο που φαινοτυπικά σχετίζεται με το Mc Coy²⁹. Από πολλές αναφορές έχουν προκύψει αποδείξεις ότι μεταγγίζοντας Kna(+) ερυθρά σε άτομα με αντι-Kna δεν προκύπτουν δυσκολίες στη μετάγγιση ή μείωση της επιβίωσης των ερυθροκυττάρων. Αιμολυτική αναιμία του νεογνού δεν έχει αναφερθεί λόγω του αντι-Kna. Όπως και με τα άλλα αντισώματα που αναφέρθηκαν προηγουμένως, Kna(+) νεογνά που γεννήθηκαν από μητέρες με αντι-Kna, μπορεί να έχουν μια ασθενώς θετική DAT όπως μπορεί να έχουν και οι ασθενείς με αντι-Kna που έχουν μεταγγιστεί με Kna(+) ερυθρά. Αυτά τα νεογνά και οι ασθενείς δεν έχουν ενδείξεις αυξημένης καταστροφής ερυθρών εξαιτίας αυτού του αντισώματος.

Ο συστηματικός ερυθματώδης λύκος και το HIV μπορεί να προκαλέσουν αυξημένη απώλεια του E-CR1 με αποτέλεσμα να αποδυναμωθεί η ισχύς του αντιγόνου Knpors.

Η ικανότητα του θετικού ερυθροκυτταρικού αντιγόνου να προσροφήσει αντισώματα Knpors πιθανότατα σχετίζεται με την ισχύ του E-CR1, και του αριθμού των κληρονομούμενων αντιγονικών θέσεων στα ερυθρά⁴².

ε. Mc Ca (Mc Coy)

Το αντιγόνο McCoy έχει αναγνωρισθεί ως το 022 σύστημα ομάδων αίματος στο ISBT. Το 1978 αναφέρθηκε ένα νέο αντιγόνο το McCa και αναδείχθηκε η σχέση του³⁹ με το αντιγόνο Kna. Το αντιγόνο McCa βρέθηκε σε 98,5% στους καυκάσιους και στο μαύρο πληθυσμό και δεν συνδέεται με τα συστήματα ABO, P, Kell, Duffy, Kidd, MNSs, Rhesus, Lutheran, Lewis, Cartwright, ή Chido.

Η ανακάλυψη ότι 33% και 74% του McCa(-) μαύρων και καυκασίων αντίστοιχα, ήταν επίσης Kna(-) είναι πολύ μεγαλύτερη από την αναμενόμενη συχνότητα του 0,02% από ότι θα ήταν αν τα αντιγόνα δεν συνδέονταν φαινοτυπικά. Τα ευρήματα (πίνακας) καθιερώνουν επίσης μια φαινοτυπική σχέση μεταξύ Υka – Csa και Kna – McCa αντιγόνων. Έχουν βρεθεί στο 24% των καυκασίων, 0,9% των μαύρων, και 23% των μαλαισιανών πληθυσμών άτομα που έχουν και τα τέσσερα αντιγόνα Υka(-), Csa(-), Kna(-), McCa(-) αρνητικά. Δεν έχουν βρεθεί στους ινδούς στην ανατολή. Αν αυτά τα αντιγόνα δεν συσχετιζόνταν, η ανεύρεση των καυκάσιων πληθυσμών με τα τέσσερα αρνητικά αντιγόνα θα ήταν σε συχνότητα 0,0003% όχι 24%.

Αυτά τα δεδομένα παρέχουν μια πειστική απόδειξη της συσχέτισης μεταξύ των τεσσάρων αντιγόνων Υka, Csa, Kna, και McCa⁴². Τα δεδομένα για τους Μαλαισιανούς βασίζονται σε μια μικρή μελέτη 13 ατόμων από τους οποίους ήταν 3 αρνητικοί και στα τέσσερα αντιγόνα. Το εκπληκτικά υψηλό ποσοστό

των τεσσάρων αρνητικών ατόμων έχει πυροδοτήσει το ενδιαφέρον για πρόθετα τεστ στον πληθυσμό των μαλαισιανών.

Μελέτες σε McCa(-), Kna(-), άτομα υποδεικνύουν ότι το McCa αντιγόνο μπορεί να είναι περισσότερο ανοσογόνο από το Kna. Από 29 McCa(-), Kna(-) ασθενείς 13 έκαναν αντι-McCa, αλλά μόνο επτά έκαναν αντι-Kna, ενώ τέσσερις έκαναν αντι-Kna και αντι-McCa. Επιπρόσθετες ιδιαιτερότητες αντισωμάτων, όπως αντι-Fya, αντι-Yka, αντι-Csa και αντι-Cha επίσης αναφέρθηκαν στους ορούς αυτών των ατόμων. Αντι-Kna και αντι-McCa βρέθηκαν συχνά με άλλα επιπλέον αντισώματα. Το αντι-McCa όπως το αντι-Kna δεν είναι γνωστό να προκαλεί μειωμένη επιβίωση των ερυθροκυττάρων μετά από μετάγγιση με αντιγονοθετικές μονάδες ούτε να προκαλεί αιμολυτική νόσο του νεογνού³⁸.

Η φαινοτυπική σχέση μεταξύ των Kna, McCa, Yka, και Csa φαίνεται στον πίνακα που ακολουθεί.

Μελέτες που δείχνουν τη σύνδεση των Yka, Csa, Kna, και McCa				
Ποσοστό του πληθυσμού που είναι αρνητικοί				
Αντιγόνο	Yka(-)	Csa(-)	McCa(-)	Kna(-)
Μαύροι				
Yk(a-)		26	18	17
Cs(a-)	31		67	33
McC(a-)	3	17		33
Kη(a-)	6	24	95	
Τυχαίοι	1.7	< 1	3.5	1
Καυκάσιοι				
Yk(a-)		27	13	19
Cs(a-)	59		21	23
McC(a-)	33	33		74
Kη(a-)	36	29	76	
Τυχαίοι	8	2.5	1.5	1

στ. Gya (Gregory)

Το αντιγόνο Gregory έχει αναγνωρισθεί ως το 014 σύστημα ομάδων αίματος στο ISBT. Ανήκει στο σύστημα Dombrock²⁵. Το Gregory περιγράφηκε το 1966. Το Gya είναι ανεξάρτητο από τα συστήματα ABO, MNSS, P, Rhesus, Duffy, και Kidd και δεν εμφανίστηκε να είναι ένας χ-φιλοσύνθετος χαρακτήρας. Ο φαινότυπος null του συστήματος Dombrock Do null εντοπίστηκε όταν διαπιστώθηκε ότι Gya(-) ερυθροκύτταρα επίσης στερούνται Do(a), Do(b), Hy, και Jo(a) αντιγόνα. Το αντιγόνο Gya βρέθηκε σε περίπου 99.9%⁵ του πληθυσμού των καυκάσιων και μαύρων. Gya(-) άτομα βρέθηκαν σε μια οικογένεια Τσεχοσλοβάκων που ζούν στη Μινεάπολη, σε μέλη οικογενειών που ζούν στο Newfoundland στον Καναδά και επίσης σε μια εγγλέζικη οικογένεια. Δεν βρέθηκαν Gya- άτομα στο μαύρο πληθυσμό.

Το αντίσωμα αντι-Gya ανιχνεύθηκε κατά τη διάρκεια προγεννητικού ελέγχου στον ορό της Mrs Gregory και αργότερα στον ορό της Gya(-) αδελφής της. Επτά Gya(+) παιδιά γεννήθηκαν από αυτές τις δύο ευαισθητοποιημένες γυναίκες και κανένα από τα παιδιά δεν παρουσίασε αιμολυτική νόσο.

Δύο Gya(-) γυναίκες μεταγγίστηκαν με Gya(+) ερυθρά και οι δύο παρουσίασαν αντίδραση στη μετάγγιση⁷³. Φαίνεται ότι η κλινική σημασία του αντι-Gya θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν και θα πρέπει να δίνεται συμβατό αίμα όποτε είναι δυνατό.

ζ. Hy (Holley)

Το αντιγόνο Holley έχει αναγνωρισθεί ως το 014 σύστημα ομάδων αίματος στο ISBT και ανήκει στο αντιγονικό σύστημα Dombrock²⁴. Το αντιγόνο Holley πρωτοαναφέρθηκε το 1967. Λίγα ήταν γνωστά γι' αυτό το αντιγόνο μέχρι το 1975 όταν αναφέρθηκε η φαινομενική σχέση μεταξύ Holley και Gregory⁴⁹. Παρατηρήθηκε ότι όλα τα Gya(-) άτομα ήταν επίσης Hy(-) και ότι ο φαινότυπος Gya(-) Hy(-) βρέθηκε μόνο στους καυκάσιους. Hy(-) άτομα που βρέθηκαν στον μαύρο πληθυσμό

είχαν όλοι ταυτοποιηθεί σαν Gya+w. Ο φαινότυπος Gy (a+w) Hy(-) βρέθηκε επίσης στους ινδιάνους απάτσι. Κανένας μαύρος Gya(-) Hy(-) ούτε καυκάσιος Gya+w Hy(-) δεν έχει αναφερθεί.

Η συχνότητα ατόμων με Gya(-) ή Hy(-) ερυθρά είναι λιγότερο από 0,01%, και η στατιστική ότι αυτοί οι δύο παράγοντες θα απουσιάζουν στο ίδιο άτομο είναι πολύ χαμηλή. Μέχρι στιγμής αντι-Hy παράγεται μόνο από μαύρους Hy(-) άτομα.

Αιμολυτική νόσος του νεογνού δεν έχει αναφερθεί λόγω του Hy, αν και όπως στην περίπτωση με τα άλλα HTLA αντισώματα, αυτά τα νεογνά έχουν εμφανίσει DAT θετική⁵⁴. Σε αντίθεση με άλλα αντισώματα υπάρχουν δύο αναφορές κατάστροφής ερυθρών in vivo που προκλήθηκαν από αντι-Hy^{47,48}. Έγιναν μελέτες επιβίωσης χρησιμοποιώντας Hy(+) και Hy(-) ερυθρά σε ασθενείς με αντι-Hy. Παρατηρήθηκε μία καμπύλη που έδειξε αρχικά ταχεία απομάκρυνση των Hy(+) ερυθρών, ακολουθούμενη από μια πιο σταδιακή απομάκρυνση των Hy(+) ερυθρών που είχαν απομείνει. Η επιβίωση των Hy(-) ερυθρών έδειξε επίσης μία καμπύλη με μία αρχικά γρήγορη απομάκρυνση τμήματος των ερυθροκυττάρων, ακολουθούμενη από αρκετά φυσιολογική επιβίωση. Αυτή η καμπύλη θα μπορούσε να υποδείξει την παρουσία ενός πρόσθετου αλλοαντισώματος, που συνέβαλλε στην αρχική γρήγορη απομάκρυνση των Hy(-) κυττάρων, καθώς επίσης και Hy(+) κυττάρων. Οι αντιδράσεις από αντι-Hy και αντι-Gya ενισχύονται ελαφρώς σε δοκιμασίες αντιγονοθετικών κύτταρων που έχουν προηγουμένως επεξεργαστεί με πρωτεολυτικά ένζυμα.

η. John Milton Hagen (JMH)

Το αντιγόνο JMH έχει αναγνωριστεί ως το 026 στο σύστημα ομάδων αίματος στο ISBT. Το σύστημα ομάδων αίματος JMH βασίζεται τουλάχιστον εν μέρει στην πα-

ραλλαγή του γονιδίου που κωδικοποιεί την semaphorin-7A (SEMA7A; 607961) στο χρωμόσωμα 15q22.2-q23. Τα αντιγόνα του συστήματος JMΗ κωδικοποιούνται από τη SEMA7A, μια μεμβράνη της πρωτεΐνης που παίζει σημαντικό ρόλο στο νευρικό σύστημα και στην ανοσολογική απάντηση¹⁰³.

Το αντιγόνο JMΗ βρέθηκε σε περίπου 99,9% του πληθυσμού. Δεν βρέθηκε στα λευκοκύτταρα ή στα αιμοπετάλια.

Έχουν ταυτοποιηθεί 3 διαφορετικοί φαινότυποι JMΗ με βάση την παρουσία ή την απουσία του υψηλής συχνότητας αντιγόνου JMΗ. Είναι μια IgG ανοσοσφαιρίνη που δεν αντιδρά με ερυθρά επεξεργασμένα με ένζυμο. Το αντίσωμα δεν εξουδετερώνεται με pool φυσιολογικών ορών ή άλλων σωματικών υγρών.

Η μετάγγιση ασθενών (που ανέπτυξαν αντίσωμα) με JMΗ θετικά ερυθρά δεν έχει προκαλέσει αιμολυτικές αντιδράσεις¹⁰⁶.

JMΗ weak, JMΗ negative, και JMΗ variant.

Οι φαινότυποι JMΗ-weak και JMΗ- negative, μπορεί να είναι επίκτητοι ή κληρονομικοί και χαρακτηρίζονται από μία μείωση ή πλήρη έλλειψη της έκφρασης JMΗ στα ερυθρά αιμοσφαίρια, συχνά με ταυτόχρονη εμφάνιση των αντισωμάτων JMΗ.

Οι επίκτητοι φαινότυποι JMΗ-weak και JMΗ(-) βρίσκονται συνήθως σε ηλικιωμένα άτομα και μπορεί να είναι παροδικοί.

Ο κληρονομούμενος JMΗ(-) φαινότυπος βρέθηκε μόνο σε μία οικογένεια. Οι μηχανισμοί που διέπουν τους φαινότυπους JMΗ-weak και JMΗ(-) δεν έχουν ακόμη προσδιοριστεί. Τα άτομα με το φαινότυπο JMΗ-variant είναι συνήθως JMΗ(+) και έχουν συμβατά αλλοαντισώματα με JMΗ(-) ερυθρά. Ο φαινότυπος JMΗ-variant είναι αποτέλεσμα missense μεταλλάξεων στο SEMA7A γονίδιο. (summary by Seltsam et al. (2007) and Richard et al. (2011)).

Κλινικά χαρακτηριστικά

Ο Seltsam και οι συν. προσδιόρισαν 3 διαφορετικούς ερυθροκυτταρικούς φαινότυπους με ασυνήθιστη έκφραση JMΗ σε 33 από 44 άτομα με παθολογικά α-

ντιγόνα JMΗ και στα μέλη των οικογενειών τους. 11 άτομα είχαν φαινότυπο JMΗ- variant που έλειπε επίτοπος JMΗ, 18 άτομα είχαν JMΗ(-) φαινότυπο, και 4 άτομα είχαν JMΗ- weak φαινότυπο.

Στις περισσότερες περιπτώσεις αυτοί οι JMΗ φαινότυποι συνοδεύονται με την παρουσία του JMΗ ή JMΗ like αντισωμάτων στον ορό. Τα υπόλοιπα 11 άτομα τα οποία ήταν μέλη της οικογένειας των ατόμων με JMΗ-variant ή JMΗ(-) φαινοτύπων ήταν φυσιολογικά αντιγόνα του JMΗ¹⁰⁴.

JMΗ- variant

Ο προσδιορισμός του JMΗ-variant βασίστηκε σε μεταβλητές θετικές ή αρνητικές αντιδράσεις των ερυθρών με anti- JMΗ ορούς .

JMΗ- negative

Εντοπίστηκαν 18 άτομα με αρνητικό φαινότυπο.

Ο JMΗ(-) φαινότυπος ταυτοποιήθηκε από την αρνητική αντίδραση ερυθρών ατόμων με αντιορούς JMΗ από ανοσοποιημένους ασθενείς. Επιπλέον δεν ανιχνεύθηκε JMΗ αντιγόνο στην επιφάνεια των JMΗ αρνητικών ερυθροκυττάρων. Αντισώματα JMΗ εντοπίστηκαν σε 14 από τα JMΗ αρνητικά άτομα.

JMΗ- weak

Εντοπίστηκαν 4 άτομα με weak φαινότυπο.

Τα ερυθρά αυτών των ατόμων επιδεικνύουν ασθενείς αντιδράσεις με JMΗ αντισώματα και JMΗ αντισώματα είναι παρόντα στους ορούς τους. Στα δυο άτομα βρέθηκε θετική DAT.

θ. Swain Langley (SI)

Το αντιγόνο Swain Langley έχει αναγνωρισθεί ως το 022 σύστημα ομάδων αίματος στο ISBT.

Το 1991 αναφέρθηκε ότι το αντιγονικό σύστημα Swain Langley εδράζει στο C3b/C4b υποδοχέα^{27,102}. Στην ονοματολογία των CD αντιγόνων στην πρωτεΐνη

έχει δοθεί η ονομασία CD35. Το αντιγόνο βρίσκεται στο 98% των καυκάσιων και στο 60% των μαύρων. Έχει βρεθεί ότι άτομα Fy(a-b-) φαίνεται να είναι Sla(-).

ι. Miscellaneous

Το 1976 αναφέρθηκαν τρία καινούργια προφανώς σχετικά, υψηλής συχνότητας αντιγόνα το Kir, Oca, και Mil³⁸. Τα αντισώματα που ορίζουν αυτά τα αντιγόνα παρουσίασαν όλα τα χαρακτηριστικά των μη εξουδετερώσιμων HTLA αντισωμάτων. Αντισώματα στον ορό δύο γυναικών μελετήθηκαν εκτενώς από το 1965. Τα αντισώματα στους ορούς αυτών των γυναικών υποδεικνύουν ποικίλη αντιδραστικότητα με τα περισσότερα ερυθρά που ελέγχθηκαν. Διασταυρώσεις με αυτούς τους ορούς με διάφορα ερυθρά βρέθηκαν να είναι συμβατά με τον έναν ή και τους δύο ορούς, πράγμα που συνηγορεί υπέρ μιας πιθανής συσχέτισης μεταξύ του αντιγόνου που ορίζεται από τον ορό της μιας γυναίκας και το αντιγόνο που ορίζεται από τον ορό της άλλης. Αργότερα προστέθηκαν αυτοί οι οροί στην ομάδα αντισωμάτων Kna – McCa. Είδαν ότι ο ορός της μιας γυναίκας έχει ειδικότητα αντι-McCa και ο ορός της άλλης έχει την ειδικότητα αντι-Kna. Από το 1970 ένας αριθμός εργαστηρίων αναφοράς έχει αναφερθεί σε μία ομάδα αντισωμάτων που μοιάζουν να ορίζουν το ίδιο αντιγόνο, όπως <The Boys >, <The Over-Sixties>, ή <The Cat>.

ΣΥΝΟΨΗ

Τα μη εξουδετερώσιμα HTLA αντισώματα Yta, Csa, Yka, Kna, McCa, Gya και Hy όλα αναγνωρίζουν αντιγόνα που βρίσκονται περίπου στο 97% του πληθυσμού. Εξ' ορισμού αυτά τα αντισώματα συνήθως είναι υψηλού τίτλου χαμηλής συγγένειας. Είναι όλα IgG ανοσοσφαιρίνες. Τα αντι-Yka, αντι-Csa, αντι-Kna και αντι-McCa δεν έχουν ενοχοποιηθεί για αντιδράσεις στην μετάγγιση

ή αιμολυτική νόσο του νεογνού. Μερικά παραδείγματα του αντι-Hy και αντι-Gya έχουν ενοχοποιηθεί για αντιδράσεις στη μετάγγιση και ασθενείς με αυτά τα αντισώματα θα πρέπει να μεταγγίζονται με ερυθρά αρνητικά για το αντίστοιχο αντιγόνο.

Έχουν βρεθεί συσχετίσεις μεταξύ του Hy και του Gya αντιγόνου, του Csa και του Yka αντιγόνου και του Kna και του McCa αντιγόνων. Διάφορα άτομα αρνητικά ως προς αυτά [Csa(-), Yka(-), Kna(-), McCa(-)] έχουν βρεθεί στον πληθυσμό των μαύρων και των καυκάσιων. Ένα εκπληκτικά υψηλό ποσοστό των μελανησίων επίσης έχει ταυτοποιηθεί ως αρνητικό για αυτά τα τέσσερα αντιγόνα. Ίσως ένα από τα πιο σημαντικά γεγονότα για να θυμόμαστε για τα αντισώματα που περιγράφηκαν είναι ότι βρίσκονται συχνά σε συνδυασμό με άλλες ειδικότητες αντισωμάτων. Εξαιτίας αυτού, στην ταυτοποίηση αυτών των αντισωμάτων πρέπει να προσέξουμε για πρόσθετα υποκείμενα αντισώματα. Η μετάγγιση των Yka(+), Csa(+), Kna(+), ή McCa(+) ερυθρών σε ασθενείς με το αντίστοιχο αντίσωμα μπορεί να είναι ασφαλής, με την προϋπόθεση ότι έχει πραγματοποιηθεί μια ασφαλής διερεύνηση αντισώματος.

B.2. ΕΙΔΙΚΕΣ ΟΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΧΡΗΣΙΜΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΗΤΛΑ

Γιατί διερευνούμε και ταυτοποιούμε τέτοιου είδους αντισώματα;

Στην αιμοδοσία παρουσιάζεται ένας ασθενής του οποίου ο ορός αντιδρά ασθενώς με όλα τα ερυθρά ελέγχου στη φάση του αντισφαιρινικού ορού και οι προσπάθειες να βρεθεί συμβατό αίμα μεταξύ των τυχαίων αιμοδοτών έχουν αποδειχθεί άκαρπες.

Τα ερωτήματα είναι τα εξής :

- ❖ Έχει ο ορός του ασθενή ένα υψηλής συχνότητας αντίσωμα, πολλαπλά αντισώματα, ή και τα δύο;
- ❖ Είναι του ασθενή το αντίσωμα/ματα κλινικά σημαντικά;

- ❖ Θα πρέπει ο ασθενής να μεταγγιστεί με συμβατά αίματα ή με το λιγότερο ασύμβατο;

Αυτά τα ερωτήματα θα πρέπει να λυθούν πριν τη μετάγγιση. Πρέπει να βρεθούν συμβατά αίματα ακόμη και αν αυτό δεν εξασφαλίζει ότι ο ασθενής θα μεταγγιστεί χωρίς να υπάρξουν ανεπιθύμητες αντιδράσεις.

Τα ΗΤΛΑ αντισώματα ή τα αντιδρώντα ασθενώς στην coombs συχνά έχουν διασταυρούμενη αντίδραση με λευκοκυτταρικά αντισώματα ή ΗΤΛΑ αντισώματα που δεν έχουν κλινική σημασία³⁸. Η εσφαλμένη εντύπωση που συχνά δημιουργείται είναι ότι αυτά τα δύσκολα στη διασταύρωση αντισώματα μπορούν να αντιμετωπιστούν επιτυχώς από μια τιτλοποιημένη διασταύρωση και να δώσουν τις λιγότερο ασύμβατες μονάδες, ή με τη χρήση ειδικά φαινοτυπημένων κατεψυγμένων πλυμμένων ερυθροκυττάρων.

Σε αυτή την ομάδα υπάρχουν αντισώματα που έχουν ενοχοποιηθεί για αιμολυτικές αντιδράσεις μετά μετάγγιση και μειωμένη επιβίωση των ερυθρών (ιδιαίτερα το αντι-Hy). Υπάρχουν επίσης άλλα κλινικά σημαντικά υψηλής συχνότητας αντισώματα όχι σε αυτή την ομάδα ΗΤΛΑ που μπορεί να είναι ασθενή στην αντίδραση, αλλά προκαλούν καταστροφή των ερυθρών *in vivo*. Επίσης εξαιρετικής σημασίας είναι η πιθανότητα ότι κλινικά σημαντικό αντίσωμα-αντισώματα μπορεί να συνυπάρχει με ΗΤΛΑ αντισώματα.

Ο πίνακας 1 παραθέτει την εμφάνιση συνυπαρχόντων αντισωμάτων σε ΗΤΛΑ ορούς που ερευνήθηκαν από την Consultation Service of Gamma Biologicals, Inc. Αυτοί είναι οι κύριοι λόγοι οι οποίοι ΗΤΛΑ αντισώματα πρέπει να ερευνοούνται και να ταυτοποιούνται. Μια πρακτική προσέγγιση για την επίλυση αυτών των προβλημάτων είναι αναγκαία για την διευκόλυνση χορήγησης επιτυχών και γρήγορων θεραπευτικών μεταγγίσεων. Διαδικασίες για την ενίσχυση της δραστηριότητας των αντισωμάτων, μέθοδοι για την διάκριση των ΗΤΛΑ αντισωμάτων από τις ψυχροσυγκολλητίνες, αντισώματα σε άλλα υψηλής συχνότητας αντιγόνα που δεν υπάρχουν σε αυτή την ομάδα, και πολλαπλά αντισώματα, ειδικές τεχνικές που περιλαμβάνουν την αναστολή του πλάσμα-

τος, ένζυμα, επενδυμένα κύτταρα με C4d θα βοηθήσουν στην διευκόλυνση της κατάστασης κατά τη διερεύνηση αυτών των δύσκολα ορολογικών αντισωμάτων¹.

Πίνακας 1

Εμφάνιση υποκείμενων αντισωμάτων σε HTLA ορούς

HTLA	Περιπτώσεις	Συνύπαρξη με άλλα αντισώματα	Ταυτότητα των άλλων αντισωμάτων
Αντισώματα			
Cha	22	4	Vel , K, E, S , Fya
Rga	6	1?	?
Yka	22	6	Jka , E , Bg ,Fya ,c , D , Lea
Csa	4	1	Fya
Kna	10	3	E , Lea , Jka , M ,K
McCa	4	1?	E ?
Hy	5	2	Lea , Leb , C
Gya	0	0
JMH	6	1	P1
Kna/McCa	2	0
Unresolved	12	4?	E ,c , C , K , Jkb
Σύνολο	93	23	23 93 25%

α . ΚΑΛΥΤΕΡΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

Όπως υποδηλώνει ο ορισμός τους αυτά τα αντισώματα δεν είναι ισχυρά και συχνά μπορεί να αγνοηθούν λόγω της αδύναμης δραστηριότητάς τους. Μόλις ανιχνευθούν, ταυτοποίηση της ειδικότητας είναι συχνά δύσκολη εξαιτίας της μεταβλητότητας της αντιγονικής ισχύος από άτομο σε άτομο, και γι' αυτό το λόγο είναι αναγκαία η χρήση φρέσκων ερυθρών.

β . ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΗΤΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΑΠΟ ΑΛΛΟΥΣ ΤΥΠΟΥΣ

ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

ΨΥΧΡΟΣΥΓΚΟΛΛΗΤΙΝΕΣ

Το αντιγόνο Chido είναι ασθενέστερο στα ερυθρά ομφαλίου λώρου απ' ότι στα ερυθρά ενηλίκων, όπως και σε μερικά από τα άλλα ΗΤΛΑ αντιγόνα. Για παράδειγμα σε 21 περιπτώσεις αντι-Cha τα ερυθρά rooi ομφαλίου λώρου δεν αντιδρούσαν σε 12 περιπτώσεις και αντιδρούσαν ασθενέστερα από των ενηλίκων σε 9 περιπτώσεις. Το 20% των ερυθρών ομφαλίου λώρου που εξετάστηκαν αντιδρούσαν ασθενώς με αντι-Cha και το 80% δεν αντιδρούσαν καθόλου. Τα αντίστοιχα μητρικά κύτταρα έδειξαν ότι 13% είχαν ισχυρότερη αντιδραστικότητα με αντι-Cha, 67% είχαν μέτρια αντιδραστικότητα, 13% ήταν ασθενή και μόνο 7% δεν αντιδρούσαν. Έτσι, μερικά από τα ΗΤΛΑ αντιγόνα δεν ήταν καλά ανεπτυγμένα κατά τη γέννηση και γι' αυτό το rooi ερυθρών ομφαλίου λώρου αντέδρασε ασθενέστερα από τα ερυθρά των ενηλίκων ή καθόλου με μερικούς ορούς ΗΤΛΑ.

Ένα ΗΤΛΑ αντίσωμα συχνά μπορεί να μιμηθεί μια ψυχροσυγκολλητίνη εάν χρησιμοποιηθούν ερυθρά ομφαλίου λώρου στη ρουτίνα ανίχνευσης των αντισωμάτων. Μια ψυχροσυγκολλητίνη μπορεί ή δεν μπορεί να αντιδράσει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος αλλά είναι ικανή να δεσμεύσει το συμπλήρωμα. Το αντίσωμα εκλούεται από ερυθρά στους 37⁰C, αλλά το συμπλήρωμα παραμένει προσδεμένο και αντιδρά στη δοκιμασία του αντισφαιρινικού ορού¹. Το rooi ομφαλίου λώρου θα είναι ασθενέστερο απ' ότι αν χρησιμοποιηθούν τα ερυθρά ενηλίκων, ή δεν θα αντιδράσουν στη δοκιμασία του αντισφαιρινικού ορού. Το ίδιο ισχύει για μερικούς ορούς ΗΤΛΑ που αντιδρούν ασθενέστερα ή δεν αντιδρούν με ερυθρά ομφαλίου λώρου. Επίσης η χρήση των ενζύμων συχνά μπορεί να δώσει ένδειξη για την παρουσία ψυχροσυγκολλητινών ή ενός ΗΤΛΑ αντισώματος καθώς η ψυχροσυγκολλητίνη

συνήθως αντιδρά με ερυθρά επεξεργασμένα με ένζυμο με άμεση φυγοκέντρηση. Λίγα ή κανένα HTLA αντισώματα μπορεί να παρουσιάσουν αυτή την αντιδραστικότητα.

ΑΛΛΑ ΥΨΗΛΗΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

Τα αντι- V_{el} , - T_{ja} , - Ge , κ.τ.λ. μπορεί να είναι υψηλού τίτλου χαμηλής συγγένειας, αλλά συχνά αντιδρούν στους $20^{\circ}C$ τόσο καλά όσο στη φάση του αντισφαιρινικού ορού. Σπάνια ή ποτέ τα HTLA αντισώματα αντιδρούν στους $20^{\circ}C$. Αυτά τα αντισώματα συχνά εμφανίζουν αιμόλυση στις δοκιμασίες, σε διάφορες φάσεις των εξετάσεων (αιμολυσίνες). Τα HTLA αντισώματα ποτέ δεν κάνουν αιμόλυση.

ΠΟΛΛΑΠΛΑ ΑΛΛΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

Τα HTLA αντισώματα παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλία στην αντιδραστικότητα με τα ερυθρά ελέγχου και τα ερυθρά των αιμοδοτών, και συχνά μιμούνται πολλαπλά αλλοαντισώματα, ή αντίστροφα. Ωστόσο με προσεκτική εξέταση όλων των φάσεων των δοκιμασιών μπορεί να φανεί η παρουσία πολλαπλών ειδικοτήτων. Η αντιδραστικότητα στους $20^{\circ}C$ σε φυσιολογικό ορό μπορεί να υποδείξει αντι- P_1 , αντι- Lea κ.τ.λ. , άμεση φυγοκέντρηση με αλβουμίνη μπορεί να δείξει αντι- M , Rh αντισώματα κ.τ.λ. και με φυγοκέντρηση με ένζυμο στους $37^{\circ}C$ μπορεί να υποδείξει μια εικόνα από αντι- $Kell$ και Rh αντισώματα. Τα HTLA αντισώματα γενικά αντιδρούν μόνο στη φάση του αντισφαιρινικού ορού.

Είναι αρκετά κοινή η παρουσία HTLA αντισωμάτων και αλλοαντισωμάτων μαζί. Μερικά από τα υποκείμενα αντισώματα είναι κλινικά σημαντικά: Το αντι- V_{el} , αντι- $Kell$, αντι- E , αντι- C , αντι- c , αντι- S , αντι- F_{ya} , αντι- Jka , αντι- Jkb ⁹⁴.

γ . ΕΙΔΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΧΡΗΣΙΜΕΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΚΑΘΟΡΙΣΜΟ ΤΩΝ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΩΝ

Στις έρευνες αυτής της ομάδας αντισωμάτων βοηθούν η αναστολή με πλάσμα και οι ενζυμικές τεχνικές. Το αντι-Chido και αντι-Rodgers αναστέλλονται με ανθρώπινο πλάσμα⁷. Δεν αντιδρούν καθόλου ή αντιδρούν αισθητά ασθενέστερα όταν χρησιμοποιούνται ένζυμα για την εξέταση με αυτά τα αντισώματα. Το αντι-JMH δεν αναστέλλεται με το ανθρώπινο πλάσμα, αλλά δεν αντιδρά καθόλου ή αντιδρά ασθενώς με ένζυμο. Το αντι-Kna / McCa δεν αναστέλλεται με ανθρώπινο πλάσμα, αλλά τα περισσότερα παραδείγματα από αυτό το υψηλής συχνότητας αντίσωμα knobs δεν αντιδρούν καθόλου ή αντιδρούν ασθενώς με ένζυμο³⁸.

Τα αντι-Kna, αντι-McCa, αντι-Υka, αντι-Csa, αντι -Hy και αντι-Gya δεν εξουδετερώνονται με ανθρώπινο πλάσμα, αλλά γενικά αντιδρούν στον ίδιο βαθμό ή ενισχύονται με τα ένζυμα, συγκριτικά με τη φάση λευκωματίνης – αντισφαιρινικού ορού (ανάλογα με την ισχύ του αντισώματος).

I. ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΜΕ ΠΛΑΣΜΑ

Η αναστολή του πλάσματος είναι μια ορολογικά χρήσιμη τεχνική και μπορεί να επιβεβαιώσει την ειδικότητα του αντισώματος και να βοηθήσει στον καθορισμό της τυποποίησης του τύπου Chido και Rodgers ενός ατόμου. Πλήρη αναστολή υποδεικνύει συνήθως αντι-Cha και αν προκύψει μόνο μερική αναστολή το αντίσωμα πιθανώς είναι αντι-Rga, ή μπορεί αυτό να υποδηλώνει ότι συνυπάρχει υποκρυπτόμενο αλλοαντίσωμα – τα. Εάν το αντίσωμα δεν αναστέλλεται δεν είναι αντι-Cha ή Rga αλλά μπορεί να είναι αντι-JMH, ή αντι-Kna / McCa. Εάν το αντίσωμα δεν αντιδρά με ένζυμο μπορεί να είναι και αντι-Kna, αντι-McCa, αντι-Csa, αντι-Υka, αντι-Gya, ή αντι-Hy εάν αντιδρούν με ένζυμο.

Αναστολή του αντι-Cha και αντι-Rga μπορεί και να σημαίνει υποκρυπτόμενα αλλοαντισώματα. Ασθενώς αντιδρώντα ερυθρά Chido μπορεί να μην δώσουν καλή συγκόλληση με τα αντίστοιχα αντισώματα στον ορό, αλλά το πλάσμα

τους θα αναστείλει τα αντισώματα στον ορό όπως και το πλάσμα από ισχυρά αντιδρώντα ερυθρά Chido (φαίνεται να υπάρχει μεγάλη περιεκτικότητα Chido στο πλάσμα από ασθενώς αντιδρώντα ερυθρά όπως στο πλάσμα των ισχυρά αντιδρώντων ερυθρών). Ωστόσο η ποσότητα της ουσίας Rodgers στο πλάσμα είναι ποικίλη. Τα πλάσματα των ατόμων με μόνο ασθενή θετικά ερυθρά Rodgers (μερικοί αναστολείς) μοιάζουν να έχουν σχετικά μικρή ποσότητα ουσίας Rodgers όταν συγκρίνονται με τα πλάσματα των οποίων τα ερυθρά έχουν ισχυρή έκφραση του Rodgers⁴.

Το πλάσμα που χρησιμοποιείται για την αναστολή πρέπει να είναι ελεύθερο από ανεπιθύμητα αντισώματα. Το πλάσμα μερικών δοτών είναι καλύτερος αναστολέας από το πλάσμα άλλων δοτών. Τα pool ερυθρά δεν είναι τόσο αποτελεσματικά όπως τα screening δύο ξεχωριστών κυττάρων που ταιριάζουν στην ανίχνευση ασθενών αντισωμάτων στον ορό, το pool πλάσμα δεν είναι τόσο αποτελεσματικό όσο ο ένας δότης πλάσματος στην αναστολή του αντι-Chido και / ή Rodgers. Εάν το αντίσωμα (Chido ή Rodgers) είναι υψηλού τίτλου μπορεί να προκύψει $\frac{1}{4}$ ή μεγαλύτερη αραιώση για να φανεί αναστολή και τότε είναι πιθανό ένα υποκρυπτόμενο ασθενές αντι-Fya κ.τ.λ. να αραιωθεί και να χαθεί. Τα αντι-Rodgers μπορεί να εμφανίσουν μερική αναστολή πράγμα που μπορεί να κάνει δύσκολη την ταυτοποίηση. Εάν δεν υπάρχουν τα αντίστοιχα αρνητικά ή θετικά πλάσματα ελέγχου μπορεί να χρησιμοποιηθεί 6% αλβουμίνη ή φυσιολογικός ορός σαν control αραιώσης. Ο διαχωρισμός μεταξύ του αντι-Cha ή αντι-Rga δεν θα είναι δυνατός.

II. ENZYMA

Τα αντι-Cha, αντι-Rga, αντι-JMH, αντι-Kna / McCa καθώς και παραδείγματα των αντι-Fya, αντι-S, αντι-M κ.τ.λ. γενικά δεν αντιδρούν, ή αντιδρούν ασθενώς με ένζυμο στη διαδικασία αντισφαιρινικού ορού⁶⁸. Συχνά ενισχύεται η αντίδραση με αντισώματα Rh και Kidd και ειδικότερα η χρήση των ενζύμων μπορεί να

είναι χρήσιμη στην αναγνώριση των αντισωμάτων. Για παράδειγμα η αντίχνευση συνύπαρξης ενός συνδυασμού από αντι-Cha, αντι-E και αντι-K μπορεί ίσως να είναι πετυχημένη εάν χρησιμοποιηθούν και οι δύο μέθοδοι (ένζυμα και η αναστολή του πλάσματος). Το αντι-Cha θα μπορούσε να αντιδράσει στη φάση της αλβουμίνης - αντισφαιρινικού ορού και να μην αντιδράσει στη φάση του ενζύμου ενώ το αντι-E και αντι-Kell θα δείξει μία σαφή εικόνα στη διαδικασία ενζύμου, αλλά μπορεί να μην είναι εμφανής εικόνα στη φάση της αλβουμίνης - αντισφαιρινικού ορού.

Η αναστολή με πλάσμα θα μπορούσε να είναι χρήσιμη στην επιβεβαίωση του αντι-Cha, και στο να αποκλειστούν άλλα αλλοαντισώματα που μπορεί να αντιδρούν στη φάση της αλβουμίνης - αντισφαιρινικού ορού, αλλά να μην αντιδρούν με τα ένζυμα (αντι-Fya, αντι-S κ.τ.λ.)⁴¹

III. ΚΥΤΤΑΡΑ ΕΠΕΝΔΥΜΕΝΑ ΜΕ C 4d ΣΤΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΗΤΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

Όσον αφορά τη θέση που καταλαμβάνουν τα αντιγόνα Chido και Rodgers στο κλάσμα C4d του C4 φάνηκε ότι τα παραδείγματα του αντι-Cha και αντι-Rga συγκολλούν τα επενδυμένα με C4d κύτταρα, ενώ άλλα παραδείγματα όπως αντι-JMH , αντι-Kna , αντι-Hy κ.τ.λ. δεν τα συγκολλούν.

Η ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑ ΤΩΝ C4d ΕΠΕΝΔΥΜΕΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Εάν έχουμε θετικά αποτελέσματα με τα επενδυμένα κύτταρα με C4d και το αντίσωμα φαίνεται να στρέφεται κατά αντιγόνου υψηλής συχνότητας είναι πιθανόν να πρόκειται για το αντι-Cha ή Rga⁹. Εάν ο ορός σε κάθε ύποπτη περίπτωση για ασθενή αντίδραση στην coombs υψηλής συχνότητας αντισωμάτων ελέγχεται με επενδυμένα κύτταρα με C4d, είναι πιθανή ταχύτερη αναγνώριση ή αποκλεισμός μιας αντι-Cha ή Rga ειδικότητας.

ΠΑΓΙΔΕΣ ΣΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΕΝΔΥΜΕΝΩΝ ΜΕ C4d ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Είναι πιθανό και άλλα αντισώματα ότι μπορεί να αντιδράσουν με κύτταρα επενδυμένα με C4d (το αντι-Lea;) δίνοντας την εσφαλμένη εντύπωση ότι το συ-
νυπάρχων υψηλής συχνότητας αντίσωμα είναι το αντι-Cha ή Rga. Ένα ασθενής
αντι-Cha ή αντι-Rga μπορεί να μην είναι ισχυρά δραστικό ώστε να συγκολλη-
λήσει τα C4d καλυμμένα ερυθρά. Τα γερασμένα επενδυμένα με C4d ερυθρά
μπορεί να δώσουν εσφαλμένα αρνητική αντίδραση. Συνιστάται η χρήση των
φρέσκων παρασκευασμένων επενδυμένων με C4d⁷⁴.

Δ . ΕΙΔΙΚΕΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ ΣΤΟ ΧΕΙΡΙΣΜΟ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ ΗΤΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑ ΤΩΝ

Θα πρέπει να συγκεντρωθούν όσο το δυνατόν περισσότερες πληροφορίες για το
ιστορικό του ασθενούς. Η ηλικία, η φυλή, το φύλλο, εγκυμοσύνη, και ιστορικό
μετάγγισης, διάγνωση, και φαρμακευτική αγωγή κ.τ.λ. είναι σημαντικά. Η έ-
ρευνα των μελών της οικογένειας του ασθενή θα μπορούσε να είναι μια πηγή
συμβατών δοτών.

Τυποποίηση των ερυθρών του ασθενούς

Εάν ο ασθενής δεν έχει μεταγγιστεί πρόσφατα θα πρέπει να γίνει τυπο-
ποίηση των αντιγόνων του ασθενούς ειδικά του συστήματος Rh.

Στην προσπάθεια εντοπισμού άτυπων αντισωμάτων χρησιμοποιώντας ε-
ρυθρά ελέγχου (panel) του εμπορίου, θα πρέπει να γνωρίζουμε ότι συχνά μπο-
ρεί να εμφανιστούν στο panel Cha(-), Yka(-), Kna(-) και να μην μπορούν να ταυ-
τοποιηθούν. Η ειδική τυποποίηση σπάνια σημειώνεται καθώς ο κατασκευα-
στής του panel πρέπει να είναι ικανός να τυποποιήσει όλα τα κύτταρα του
panel για το συγκεκριμένο αντιγόνο υπό διερεύνηση με αξιόπιστα αντιδρα-

στήρια και αυτό συνήθως δεν είναι εφικτό λόγω της έλλειψης επαρκούς ποσότητας των κατάλληλων αντιορών.

HTLA	Αναστολή με πλάσμα	Ερυθρά με ένζυμο (φισίνη)*	Ερυθρά ομφαλίου λώρου*	Αντίδραση με κύτταρα επενδυμένα με C4d
Ab				
Cha	ναι	N,W	N, W	ναι
Rga	ναι	N,W	N, W	ναι
Υka	όχι	N, W, S	N,W ,S	όχι
Csa	όχι	S	S	όχι
JMH	όχι	N	W, S	όχι
Kna	όχι	S	W , S	όχι
McCa	όχι	S	W ,S	όχι
Gya	όχι	S , SE	W, S	όχι
Hy	όχι	S, SE	S	όχι

N=αρνητικό W=ασθενέστερο S=ίδιο S=ελαφρώς ενισχυμένη

* ο βαθμός της αντίδρασης παρουσιάζεται σε σχέση με την αντίδραση με τα μη επεξεργασμένα ερυθρά ελέγχου ενηλίκων.

ΔΟΤΗΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΜΕ ΟΡΟ ΑΣΘΕΝΟΥΣ

Ο έλεγχος με τον ορό του ασθενούς μπορεί να βοηθήσει στην εύρεση συμβατού δότη ειδικά με αντι-Υka αφού 8% των καυκάσιων είναι Υka(-)³⁸. Φυσικά πρέπει να ελεγχθούν τα ερυθρά με τον ορό του ασθενούς εάν είναι ABO συμβατά. Ελέγχονται δότες της ίδιας φυλής με του αρρώστου, για να μπορούμε να έχουμε καλύτερα αποτελέσματα στο να βρεθούν συμβατοί δότες. Για παράδειγμα, Hy(-) και McCa(-) δότες μπορούν να αναζητηθούν στο μαύρο πληθυσμό. Πρέπει να είναι όσο το δυνατόν πιο πλήρες το ιστορικό του ασθενούς και πρέπει να υπάρχει και το κατάλληλο δείγμα από κάθε μέλος της οικογένειας.

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΧΡΕΙΑΖΕΤΑΙ ΓΙΑ ΑΚΡΙΒΗ ΕΛΕΓΧΟ ΤΩΝ ΗΤΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

Τα εργαστήρια αναφοράς που συμμετέχουν στην αναγνώριση των αντισωμάτων πρέπει να έχουν μεγάλη ποικιλία από σπάνια και ασυνήθη ερυθρά ελέγχου και ορών για την κατάλληλη διερεύνηση αυτών των συχνών προβλημάτων που μπορεί να υποκρύπτουν και πολλαπλά αντισώματα. Όταν διερευνάται ακριβής ειδικότητα μέσα στην ομάδα των ΗΤΛΑ αντισωμάτων είναι δύσκολο να υπάρχουν τα κατάλληλα αντιδραστήρια αλλά είναι αναγκαίο.

Η αναγνώριση του αντισώματος που θα στηρίζεται αποκλειστικά και μόνο σε ένα μη αντιδραστικό κύτταρο είναι επικίνδυνη, ειδικά όταν τα προς διερεύνηση αντισώματα ανήκουν στην ομάδα των ΗΤΛΑ. Ένα κύτταρο αρνητικό για ένα από τα ΗΤΛΑ αντιγόνα συχνά είναι αρνητικό ή ασθενές για ένα ή περισσότερα από τα άλλα ΗΤΛΑ αντιγόνα. Αρκετά ερυθρά McCa(-) είναι και Hy(-) και / ή Jsb(-). Τα ερυθρά που διαθέτουν διακεκριμένα εργαστήρια είναι Yka(-) και Csa-. Τα ερυθρά ενός άλλου εργαστηρίου τυποποιήθηκαν ως Rga(-), Yka(-) και Csa(-) όταν χρησιμοποιήθηκαν σαν υποθετικό θετικό control για την ταυτοποίηση αυτών των αντισωμάτων. Ακόμη και πιο πρόσφατα τα ερυθρά ενός άλλου εργαστηρίου ταυτοποιήθηκαν να είναι Kna(-) και Csa(-), κατόπιν μιας πρόκλησης του να βρεθεί κάτι <σπάνιο> . Ταυτόχρονα όλων των εργαστηρίων τα ερυθρά ήταν Ο αρνητικά¹.

Τα ΗΤΛΑ συχνά συνοδεύονται από άλλα αλλοαντισώματα, και εάν περισσότερα από ένα κύτταρα βρεθεί να είναι αρνητικά με τον ορό του ασθενούς αυτά τα άλλα αλλοαντισώματα μπορεί να χαθούν. Συχνά είναι τα συνυπάρχοντα αλλοαντισώματα που προκαλούν αντιδράσεις στη μετάγγιση και δεν είναι τα ΗΤΛΑ αντισώματα από μόνα τους. Έχει προκληθεί σοβαρή αιμολυτική αντίδραση σε μετάγγιση εξαιτίας του συνυπάρχοντος αντι-Fya και όχι του αντι-Yka⁹⁶. Επίσης έχει παρατηρηθεί ταχεία καταστροφή των ερυθρών λόγω του αντι-Jka και όχι λόγω του συνυπάρχοντος αντι-Kna, και μία προκληθείσα αιμόλυση από αντι-E από μια μελέτη κυτταρικής επιβίωσης σε ένα ασθενή που

είχε παράλληλα αναπτύξει αντι-Csa. Οποιαδήποτε αντίδραση από τη μετάγγιση παρατηρηθεί μετά τη μελέτη της κυτταρικής επιβίωσης θα πρέπει να ερευνάται πλήρως για να εντοπίσουμε το αντίσωμα που την προκάλεσε.

Δεν είναι αναγκαία μόνο η ανίχνευση των υποκείμενων αλλοαντισωμάτων για να βρεθούν συμβατά αίματα για τους ασθενείς, αλλά αν ο ορός του ασθενή πρόκειται να χρησιμοποιηθεί για μελλοντική έρευνα των προβλημάτων των ΗΤΛΑ η παρουσία ή η απουσία των επιπρόσθετων αντισωμάτων στον ορό πρέπει να είναι γνωστή. Ένα καθαρό anti-Kna είναι σπάνιος ορός.

ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΩΝ Bg ANΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΣΤΟΥΣ ΟΡΟΥΣ ΤΩΝ ΗΤΛΑ

Άλλο ένα πρόβλημα που προέκυψε στον εντοπισμό της ειδικότητας των αντισωμάτων στην ομάδα των ΗΤΛΑ είναι η συνύπαρξη στους ορούς αντι-Bg⁴⁰ (ειδικά στους πολυμεταγγιζόμενους ασθενείς). Έχει αναφερθεί ότι στους νοσοκομειακούς ασθενείς 1,5 % των ορών τους περιέχουν anti-Bg και στους ορούς που περιέχουν ισχυρά αντιερυθροκυτταρικά αντισώματα το ποσοστό φθάνει το 34%⁷⁸.

Τα ΗΤΛΑ μερικές φορές διαφεύγουν στην ταυτοποίηση εξαιτίας:

- 1 . Ασθενών αντιδράσεων.
- 2 . Της παρουσίας άλλων αλλοαντισωμάτων.
- 3 . Της παρουσίας περισσότερων από ένα ΗΤΛΑ αντισωμάτων.
- 4 . Λάθος στην ταυτοποίηση αντιγόνων ή ασθενή αντιγόνα στα επιλεγμένα ερυθρά ελέγχου.

Η τυποποίηση ερυθρών με ΗΤΛΑ ορούς είναι μερικές φορές δύσκολη εξαιτίας :

- 1 . Παλαιότητας των κυττάρων.
- 2 . Ασθενούς έκφρασης των αντιγόνων.

3 . Παρουσία και άλλων αντισωμάτων σε ΗΤΛΑ ορούς.

4 . Λάθος ταυτοποίηση των ΗΤΛΑ ορών.

ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΕΡΥΘΡΩΝ ΤΟΥ ΑΣΘΕΝΟΥΣ

Η τυποποίηση των ερυθρών του ασθενούς, και των άλλων μελών της οικογένειας καθώς και των πιθανών συμβατών δοτών, μπορεί να είναι δύσκολη γιατί οι αντιορροί των ΗΤΛΑ αντιγόνων δεν είναι διαθέσιμοι στο εμπόριο, και συχνά δεν είναι για όλες τις ομάδες ΑΒΟ. Επίσης περιορισμένες ποσότητες αυτών των αντισωμάτων είναι διαθέσιμες λόγω των προβλημάτων που προκύπτουν στην απόκτηση επαρκών αντιορρών για έλεγχο screening.

Ειδικές παρατηρήσεις

Σε μελέτες για τον πληθυσμό και για την οικογένεια, και την κληρονομική πρόβλεψη αυτών των ΗΤΛΑ αντιγόνων θα πρέπει να θυμόμαστε ότι τα αλληλία αυτών των υψηλής συχνότητας αντιγόνων (ie , K_{nb} , McCb, Y_{kb} , κ.τ.λ.) μπορεί να ανιχνευθούν με τη χρήση αρνητικών κυττάρων για τα ΗΤΛΑ αντιγόνα στην έρευνα των αντισωμάτων που αντιδρούν με χαμηλής συχνότητας αντιγόνα.

Συμπερασματικά όταν η παρουσία ενός πιθανού ΗΤΛΑ αντισώματος ανιχνευθεί στον ορό ενός ασθενούς, θα πρέπει να επιληφθούμε μια πρακτική προσέγγιση για τον προσδιορισμό της ακριβούς ειδικότητας του αντισώματος. Θα πρέπει να διερευνηθεί η παρουσία ή η απουσία άλλων υποκρυπτόμενων αλλοαντισωμάτων. Με τη συγκεντρωμένη προσπάθεια ομάδας των ανοσοαιματολόγων, με την εμπειρία τους και με ειδικές τεχνικές μπορούν να επιλυθούν αυτά τα ασθενώς αντιδρώντα στην coombs υψηλού τίτλου χαμηλής συγγένειας αντισώματα.

Γ . ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΗΤΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗΣ

Πρόκειται για γυναίκα με ημερομηνία γέννησης 1952. Από το ιστορικό της αναφέρονται: Ομάδα αίματος: 0 ccdd ee Kell(+). Ο φαινότυπος των ερυθρών της ασθενούς ταυτοποιήθηκε ως: K_{ra}(-), K_{rb}(+), F_{ya}(+), F_{yb}(-), J_{ka}(+), J_{kb}(-), Lea(-), Leb(+), P₁(+), M(+), N(-), S(+), s(+), Lua(-), Lub(+). Ο φαινότυπός της είχε προσδιοριστεί στο προηγούμενο νοσοκομείο στο οποίο μεταγγιζόταν. Πάσχει από ενδιάμεση μορφή β μεσογειακής αναιμίας. Άρχισε να μεταγγίζεται περιοδικά από τότε που ήταν ενός έτους μέχρι το 1978 όταν υποβλήθηκε σε σπληνεκτομή και χολοκυστεκτομή. Από το 1978 μέχρι το 1991 δεν έλαβε καμία μετάγγιση, αλλά από το 1991 και μετά μεταγγίζεται περιοδικά ανάλογα με τις ανάγκες της (περίπου μία φορά το μήνα). Από το ιστορικό της αναφέρεται ότι είχε αναπτύξει αντι-D και αντι-C.

Το 2011 απευθύνθηκε στη μονάδα μεσογειακής αναιμίας του νοσοκομείου ΓΝΝΠ Άγιος Παντελεήμων για παρακολούθηση και αντιμετώπιση. Πραγματοποιήθηκε πλήρης έλεγχος αλλοανοσοποίησης κατά τον οποίο ταυτοποιήθηκαν τα αναφερόμενα από το ιστορικό αντισώματα αντι-D, αντι-C. Επιπρόσθετα ταυτοποιήθηκε αντι-K_{ra} και τέθηκε η υποψία και τέταρτου αλλοαντισώματος που δεν μπορούσε να ταυτοποιηθεί με τις διαθέσιμες τεχνικές. Δεδομένου ότι η άμεση coombs (DAT) και το autocontrol της ασθενούς ήταν κατ'επανάληψη αρνητικά και το γεγονός ότι ο ορός της ασθενούς αντιδρούσε με όλα σχεδόν τα ερυθρά ελέγχου των πάνελ και στις δύο φάσεις (περίπου 1 αρνητική αντίδραση / 110 θετικές) τέθηκε ισχυρά η υποψία αντισώματος έναντι αντιγόνου υψηλής συχνότητας.

Όσον αφορά την επιβίωση των μεταγγισμένων ερυθροκυττάρων τα μόνα δεδομένα που υπήρχαν από το ιστορικό της ασθενούς είναι ότι στο παρελθόν έχει μεταγγιστεί με ασύμβατη μονάδα (AHG:O,5+) χωρίς προφανή ανεπιθύμητα συμβάντα.

Για την ολοκλήρωση του ελέγχου και την ταυτοποίηση του 4^{ου} αλλοαντισώματος που προκαλούσε την ασυμβατότητα τα δείγματα της ασθενούς στάλθηκαν για διερεύνηση σε εργαστήριο αναφοράς του εξωτερικού. Το εργαστήριο επιβεβαίωσε τα αντισώματα αντι-D, αντι-C, και αντι-Kra. Επιπρόσθετα με την χρήση κατεψυγμένων ερυθρών ελέγχου σπανίων αντιγονικών φαινοτύπων ταυτοποιήθηκε ένα αντι-HTLA αντίσωμα με ειδικότητα αντι-Ch(a). Δεδομένου ότι το αντι-Ch(a) δεν είναι κλινικά σημαντικό, παρεμβαίνει ωστόσο στη διαδικασία της διασταύρωσης, συστήθηκε κατά τον προμεταγγισιακό έλεγχο και πριν την διαδικασία της διασταύρωσης να πραγματοποιείται η μέθοδος εξουδετέρωσης του αντισώματος Chido που ήδη έχει αναφερθεί.

Έκτοτε η ασθενής μεταγγίζεται με O ccddee, Kra(-) ερυθρά. Ακολουθώντας την παραπάνω μεταγγισιοθεραπευτική τακτική είναι δυνατή ανεύρεση συμβατών μονάδων προς μετάγγιση και η ασθενής δεν έχει επί του παρόντος παρουσιάσει ανεπιθύμητο σύμβαμα σχετιζόμενο με την μετάγγιση.

Δ . ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΤΕΥΞΗ ΤΗΣ ΒΕΛΤΙΣΤΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ

ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ

Α . ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΟΚΙΜΗΣ¹

- 1 . Βάζουμε 3 σταγόνες ορού σε ένα σωληνάριο.
- 2 . Προσθέτουμε 1 σταγόνα εναιωρήματος ερυθρών 2-3% (περίσσεια αντιγόνου δίνει εσφαλμένα θετικά αποτελέσματα).
- 3 . Προσθέτουμε 2-3 σταγόνες αλβουμίνης.
- 4 . Επωάζουμε στους 37⁰ C για 60 λεπτά.
- 5 . Πλένουμε 3-4 φορές με φ.ο. και προσθέτουμε αντισφαιρινικό ορό.

ΠΡΟΣΟΧΗ

- 1 . Χρησιμοποιούμε φρέσκα ή προσφάτως αποψυγμένα ερυθρά ελέγχου ή ερυθρά δοτών και όχι αποθηκευμένα ερυθρά.
- 2 . Διαβάζουμε τα αποτελέσματα αμέσως μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας. Αντισώματα αυτής της ομάδας εκλούνται γρήγορα από τα ερυθρά.
- 3 . Χρησιμοποιούμε απαλές κινήσεις, χτυπάμε προσεκτικά τα σωληνάκια και διαβάζουμε μακροσκοπικά και επί αρνητικού αποτελέσματος διαβάζουμε μικροσκοπικά.

ΒΑΣΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ ΜΕ ΠΛΑΣΜΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗ

ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗΣ Η ΜΗ ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΕΝΟΣ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ¹

A . ΕΡΥΘΡΑ ΚΑΙ ΟΡΟΙ ΠΟΥ ΧΡΕΙΑΖΟΝΤΑΙ

- 1 . Ορός ασθενούς.
- 2 . Ερυθρά screening ή ερυθρά τυχαίων δοτών.
- 3 . Πλάσμα ή ορός από αντιδρώντα κύτταρα δοτών.

B . ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

- 1 . 2 σταγόνες ορού + 1 σταγόνα πλάσμα δότη (ή ορός)
- 2 . 2 σταγόνες ορού + 1 σταγόνα φ . ο .

Το παραπάνω μείγμα μένει στους 20⁰ C για 15' πριν τα κύτταρα του screening προστεθούν / ή προστεθούν τα κύτταρα του δότη.

Το μίγμα συν τα κύτταρα επωάζονται στους 37⁰ C για το λιγότερο 60' πλένονται 3-4 φορές με φ . ο . και μετά προστίθεται αντισφαιρινικός ορός.

Γ . ΕΡΜΗΝΕΙΑ

- 1 . Εάν και οι 2 δοκιμασίες είναι θετικές το αντίσωμα είναι μη εξουδετερόσημο.
- 2 . Εάν και οι 2 δοκιμασίες είναι αρνητικές στο αντίσωμα θα υφίσταται λόγος να γίνει αραίωση.
- 3 . Εάν η πρώτη δοκιμασία είναι αρνητική και η δεύτερη θετική το αντίσωμα είναι εξουδετερώσιμο.
- 4 . Παγίδες σε αυτή τη διαδικασία είναι πολλές.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ ΜΕ ΠΛΑΣΜΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ

ΕΞΟΥΔΕΤΕΡΩΣΙΜΩΝ Η ΜΗ ΕΞΟΥΔΕΤΕΡΩΣΙΜΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ¹

A . ΟΡΟΙ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΑ

1 . Ορός ασθενούς (εάν το αντίσωμα έχει ισχυρή αντιδραστικότητα γίνεται αραιώση $\frac{1}{4}$ με 6% αλβουμίνη).

2 . Ερυθρά ελέγχου (πλήρες panel από γνωστούς δότες).

3 . Γνωστό πλάσμα δοτών Chido και Rodgers

A) Cha(+) Rg(-) πλάσμα

B) Cha(-) Rga(+) πλάσμα

Γ) Cha(+) Rga(+) πλάσμα

B . ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1 . Χωρίς αραιώση (ή $\frac{1}{4}$ αραιώση) ο ορός ασθενή επιάζεται με διάφορα πλάσματα γνωστών δοτών σε θερμοκρασία δωματίου για 15' .

α) 2 σταγόνες ορός + 1 σταγόνα Cha(+) Rga(-) πλάσμα

β) 2 σταγόνες ορός + 1 σταγόνα Cha(-) Rga(+) πλάσμα

γ) 2 σταγόνες ορός + 1 σταγόνα Cha(+) Rga(+) πλάσμα

2 . Παίρνουμε ένα σετ επιλεγμένων κυττάρων ελέγχου γίνεται επώαση με αυτές τις τρεις προσμίξεις στους 37° C για 60' . Οι προσμίξεις κατόπιν πλένονται 3 φορές με φ.ο. και προστίθενται αντισφαιρινικός ορός.

3 . Αν υπάρχει η υποψία πολλαπλών αντισωμάτων μετά την ανάγνωση των αποτελεσμάτων, πλήρως γονοτυπημένα ερυθρά ελέγχου δοτών θα πρέπει να ελεγχθούν με την κατάλληλη πρόσμιξη.

Γ. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

- 1 . Εάν στην πρώτη πρόσμιξη υπάρχει αντίδραση και με τα δύο κύτταρα ελέγχου και με τη δεύτερη και την τρίτη πρόσμιξη δεν αντιδρούν το αντίσωμα είναι αντι-Rga και δεν υπάρχουν άλλα αλλοαντισώματα στον ορό.
- 2 . Εάν η δεύτερη πρόσμιξη παρουσιάσει αντίδραση και οι άλλες δύο προσμίξεις δεν παρουσιάσουν αντίδραση με τα κύτταρα ελέγχου, το αντίσωμα είναι αντι-Cha και δεν ανιχνεύονται άλλα αλλοαντισώματα στον ορό.
- 3 . Εάν η τρίτη πρόσμιξη παρουσιάσει αντίδραση ενώ η πρώτη ή η δεύτερη πρόσμιξη δεν παρουσιάσει αντίδραση αυτό θα μπορούσε να σημαίνει ότι δεν υπάρχει επαρκής ποσότητα ουσίας Cha ή Rga στο πλάσματος Cha(+)Rga(+) δότη για να αναστείλει το αντίσωμα αλλά υπάρχει επαρκής ποσότητα στο πρώτο ή το δεύτερο πλάσμα.
- 4 . Εάν και στις τρεις προσμίξεις δεν υπάρχει αντίδραση υπάρχουν ενδείξεις ότι το αντίσωμα του ασθενούς ήταν ασθενές.
- 5 . Εάν με το ένα κύτταρο ελέγχου είναι θετικό και με το άλλο κύτταρο ελέγχου είναι αρνητικό με οποιαδήποτε από τις προσμίξεις τότε αντι-Cha ή Rga και ένα πιθανό άλλο αλλοαντίσωμα –τα βρίσκεται στον ορό.

ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ ΜΕ ΠΛΑΣΜΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ CHIDO ΚΑΙ

RODGERS

A . Διαδικασία δοκιμής¹

1 . Υλικά

α) Ερυθρά ελέγχου ομάδος O Cha(+) ισχυρά αντιδρώντα.

β) Αντι-Cha αραιωμένο σε φ.ο. ώστε να δώσει (++) θετική αντίδραση με τα ερυθρά ελέγχου. (είναι πλεονέκτημα να χρησιμοποιείς αραιωμένο αντι-Cha, να κρατάς αντιορό και να προλάβεις το σχηματισμό ινικής που θα συμβεί όταν ορός χωρίς αραιώση αναμιχθεί έστω και με ελάχιστο δείγμα από το πλάσμα του δότη).

2 . Μέθοδος

α) Σε ένα σωληνάριο βάζουμε 1 σταγόνα πλάσμα ή ορό του δότη.

β) Προσθέτουμε 2 σταγόνες αντι-Cha.

γ) Για μάρτυρες σημειώνουμε 3 σωληνάκια i , ii , και iii , αντίστοιχα .

δ) Φτιάχνουμε τους μάρτυρες ως εξής :

(i) 1 σταγόνα φ.ο. + 2 σταγόνες αντι-Cha

(ii) 1 σταγόνα Cha(-) πλάσμα ή ορό + 2 σταγόνες αντι-Cha

(iii) 1 σταγόνα Cha(+) πλάσμα ή ορό + 2 σταγόνες αντι-Cha

ε) Επωάζουμε τα τεστ και τους μάρτυρες για 5' σε θερμοκρασία δωματίου.

ζ) Προσθέτουμε 1 σταγόνα 5% εναιώρημα πλυμένων ερυθρών ελέγχου.

η) Επωάζουμε για 60' στους 37° C .

θ) Πλένουμε τα κύτταρα 4 φορές με φ. ο. και συνεχίζουμε με δοκιμασία αντισφαιρινικού ορού.

B . Ερμηνεία

1 . Απουσία συγκόλλησης: Του δότη το πλάσμα περιέχει Cha το οποίο ανέστειλε το αντι- Cha.

2 . Αυτό το συμπέρασμα είναι έγκυρο μόνο όταν οι μάρτυρες (i) και (ii) είναι θετικοί και ο μάρτυρας (iii) όχι .

3 . Του δότη το πλάσμα πρέπει να είναι ελεύθερο από παρεμβαίνοντα αντισώματα.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΓΙΑ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ C4d ΕΠΕΝΔΥΜΕΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Δοκιμασία¹

- 1 . Προσθέτουμε 1 σταγόνα επενδυμένων με C4d ερυθρών σε 2 σταγόνες ορό ασθενούς.
- 2 . Αναμειγνύουμε και αφήνουμε 5' σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.
- 3 . Φυγοκεντρούμε και διαβάζουμε.

Ερμηνεία

- 1 . 2-3+ συγκόλληση υποδεικνύει ότι το αντίσωμα πιθανώς είναι το αντι-Cha ή Rga.
- 2 . Απουσία συγκόλλησης υποδεικνύει ότι το αντίσωμα πιθανώς δεν είναι αντι-Cha ή αντι-Rga.

E . ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Suzan D. Rolih, Lois J. James and Rosanne Sheehan. Recognition and Resolution of High-Titer, Low-Avidity Antibodies. American Association of Blood Banks 1979;1-4:1-47.
2. 20 grove, w., et al. normal cr-51 red-cell survival of york (yka) positive blood in a patient with anti-yka. in: *transfusion*. 8101 glenbrook rd, bethesda, md 20814-2749: amer assoc blood banks, 1981. p. 607-608.7242, related citations] [full text: blackwell publishing
3. MR.George. Cartwright blood group system review. Immunohematology Basic & Applied Concepts of Immunohematology- Pageburst E- Book on vita2012 ; 28:49-52.
4. Tribute to J.Moulds.System 011-Yt System, 017-Ch/Rg System 026-JMH Immunohematology 2011; 27:124-126.
5. C. Lomas – Francis and M.E.Reid. The Dombrock blood group system: a review. Immunohematology 2010; 26: 71-72.
6. J.M.Moulds. The knops blood system. Immunohematology 2010 ;26: 2-5 .
7. R.Mongey A review of the Chido/Rodgers blood group. Immunohematology 2010; 26:30-35.
8. C.Levine, O. Asher, Shinar,and U. Tahlom. The JMH story, The Cartwright (Yt) story. Immunohematology 2006; 22:65-68.
9. H. Chaplin JR. Relation of Complement Components to Blood Group Serology. Immunohematology 2005; 21:90.
10. L.Yan, F.Zhu, Q.Fu et al: Yt blood group system in indigenous Chinese. Immunohematology 2005; 21:12.
11. J.R. Story Review. The function of blood group-specific RBC membrane components – Adhesion and Receptor Molecules. Immunohematology 2004; 20:210.
12. Γερασιωτάκη Φωτεινή, Μπόλλας Γεώργιος, Σοφούλης Νικόλαος. Αντιερυθροκυτταρικά αντισώματα. ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑ II 2001;4:56-62.

13. Ιπποκράτης Τσεβρένης, Ειρήνη Κοντοπούλου-Γρίβα. Φυσικά και άνοσα αντισώματα 1991;3:58-60.
14. Ελληνική Αιματολογική Εταιρεία. Πρακτικό βοήθημα αιμοδοσίας, τεύχος Β' 1990 Ανοσοαιματολογία σελ. 32-38.
15. K.M. Byrne and P.C. Byrne Review: Other blood group systems – Yt group system. *Immunohematology* 2004; 20:51-52.
16. C.Mogos, A.Schawalder, G.R.Halverson et al: Studies of the Dombrock blood group system in non-human primates. *Immunohematology* 2003; 19:77.
17. M.Liu, D. Jiang, S. Liu et al: Frequencies of the major alleles of the Diego, Dombrock, Yt blood group systems in the Chinese Han, Hui, and Tibetan nationalities. *Immunohematology* 2003; 19:22-23.
18. Awdeh, Z. L., Alper, C. A. Inherited structural polymorphism of the fourth component of human complement. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 77: 3576-3580, 1980. [PubMed: 6932037, related citations]
19. A.C. Petty, C.A. Green, J. Poole et al: Analysis of Knops blood group antigens on CR1 (CD 35) by the MAIEA test and by immunoblotting. *Transfusion Medicine* 1997;7:55-62.
20. Satish Gupte. Group antigens on the C3b/C4d receptor. *The Textbook of Blood Bank and Transfusion Medicine. J. Immunol.* 1991 146:3501-7.
21. J.M. Moulds, B.J Thomas, O. Doumbo et al: Identification of the Kna/Knb polymorphism and a method for Knops genotype. *Transfusion* 2004; 44:164-169.
22. WILSON, James G. et al: Mode of inheritance of decreased C3d receptors on erythrocytes of patients with systemic lupus erythematosus. *New England Journal of Medicine.* 1982,307.16:981-986.
23. Barbera Veldhuisen, Peter C. Ligthart, Gestur Vidarsson et al: Molecular analysis of the York antigen of the Knops blood group system. *Transfusion* 2011; 51:1389-1396.

24. Maria Rios, Kim Hue-Roye, Ragnhild Qyen et al: Insights into the Holley and Joseph phenotypes. *Transfusion* 2002; 42:52-58.
25. Rios M, Hue-RoveK, Storry JR, et al: Molecular basis of the Dombrock null phenotype. *Transfusion* 2001, 41:1405-1407.
26. Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine 2005, 6:232.
27. J.M. Moulds, J.J. Moulds, M. Brown et al: Antiglobulin testing for CR1-Related (Knops/Mc Coy/ Swain- Langley/York) Blood Group Antigens. Negative and weak reactions are caused by variable expression of CR1. *Vox. Sang.* 1992; 62:230-235.
28. W.J. Judd, K. Kramer, J.J. Moulds. The Rapid Identification of Chido and Rodgers Antibodies Using C4d-Coated Red Blood Cells. *Transfusion* 1981; 21:189-192.
29. Dr. Helmut Schenkel-Brunner. Knops system. *Human Blood Groups Springer Link* 1995 p.p. 405-409.
30. Moulds JM. A review of the Knops blood group. *Immunohematology* 2002, 18:1-8.
31. Moulds MK. Serological investigation and clinical significance of high-titer, low-avidity(HTLA) antibodies. *Am.J Med. Technol.* 1981 47:789-95.
32. Lange, C., Liehr, T., Goen, M., Gebhart, E., Fleckenstein, B., Ensser, A. New leukaryotic semaphorins with close homology to semaphorins of DNA viruses. *Genomics* 51: 340-350, 1998. [PubMed: 9721204, related citations] [Full Text: Elsevier Science.
33. Mougey, R. A review of the Chido/Rodgers blood group. *Immunohematology* 26: 30-38, 2010. [PubMed: 20795316, related citations]
34. Moulds JM. Incidence of Rodgers-negative individuals in systemic lupus erythematosus patients. *Immunohematology.* 1990;6:92-94
35. Sheryl Whitlock. *Immunohematology for Medical Laboratory Technicians* 2009;8:160.

36. Susan D. Rolih. High-Titer, Low-Avidity (HTLA) Antibodies and Antigens. *Transfusion Medicine Reviews* 1989;3:128-139.
37. By Dawn. HTLA antibodies. *Immunoematology Reference Laboratories* 2004 Jan 19.
38. Harvey G. Klein, David J. Anstee et al: Other red cell antigens. *Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine*.2013;6:231-240.
39. Denise M. Harmening. Antibody to a High-Prevalence Antigen. *Modern blood bankind and transfusion practices* 2012;9:234.
40. Kathy D. Blaney, Paula R. Howard. High-Titer, Low-Avidity antibodies. *Basic &Applied Concepts of Blood Banking and Transfusion Rractices* 2013;7:170.
41. Denise M, Harmening. Miscellaneous, Knops, Chido/Rodgers, Yt antigens. *Modern Blood Banking and Transfusion Practises* 2012;8:202-208.
42. George Garratty. Knops/McCoy/York and CR1. Rodgers/Chido and C4. *Immunobiology of Transfusion Medicine* 1993;10:281-283.
43. Author House. Bg Antibodies. *Essential of blood Transfusion Science* 2013;15:142.
44. Sheryl Whitlock. High Titer Low Avidity Antibodies. *Immunoematology for Medical Laboratory Technicians* 2009;8:160.
45. Geof Daniels. The Cost collection Csa & Csb. *Human Blood Groups* 2008;20:461.
46. Susan D. Rolih. High-Titer, Low-Avidity antibodies and antigens. *Transfusion Medicine Reviews* 1989;3:128-139.
47. Beattie KM, Castillo S: A case report of a hemolytic transfusion reaction caused by anti-Holley. *Transfusion*1975;15:476.
48. Hsu TCS, Jagathambal K, Sabo BH, et al; Anti- Holley(Hy) characterization of another example. *Transfusion* 1975;15:604.
49. Moulds JJ, Polesky HF, Reid M, et al; Observations on the Gya and Hy antigens and the antibodies that define them. *Transfusion* 1975;15:270.

50. Moore HC, Issitt PD, Pavone BG: Successful transfusion of Chido-positive blood to two patients with anti- Chido. *Transfusion* 1975;15:266.
51. Sabo B. Moulds JJ. McCreary J: Anti-JMH:Another high-titer, low-avidity antibody against a high frequency antigen abstracted. *Transfusion* 1978;18:387.
52. Shore GM. Steane EA: Survival of incompatible red cells in a patient with anti-Csa and three other antibodies to high-frequency red cell antigens, abstracted. *Transfusion* 1978;18:387.
53. Giles CM: Serologically difficult red cell antibodies with special reference to Chido and Rodgers blood groups in Mohn JF,et al:Human Blood Groups. Buffalo NY, Karger 1976 pp 268-276.
54. Lacey P. Moulds, M. Sobonya J: Clinical and serological observations in hemolytic disease of the newborn caused by anti-Holley, abstracted. *Transfusion* 1978;18:379.
55. Schmidt RP, Frank S, Baugh M. New antibodies to high incidence antigenic determinants(anti-So, anti-EI, anti-Hy and anti-Dp). *Transfusion* 1970;10:254-257.
56. Swanson J, Zweber M, Polesky HF. A new public antigenic determinant Gya(Gregory). *Transfusion* 1976;7:304.
57. Moulds M, Lacey P. Identification and Clinical Significance of High-Titer, Low-Avidity Antibodies. Association of Blood Banks Dallas 1978.
58. Solomon JM, Gibbs MB, Bowdler A. Methods in quarantine hemagglutination. *Vox Sang* 1965;10:54.
59. Morton J A, Pickles MM, Darley JH. Increase in strength of red cell Bga antigen following infectious mononucleosis. *Vox Sang* 1977;32:26.
60. Morton JA, Pickles MM, Sutton L. The correlation of the Bga blood group with the HL-A7 leukocyte group. Demonstration of antigenic sites on red cells and leukocytes. *Vox Sang* 1969;17:536.
61. Harris JP, Tegoli S, Swanson J, et al: A nebulous antibody responsible for crossmatching difficulties(Chido). *Vox Sang* 1967;12:140.

62. Molthan L, Giles CM. A new antigen, Yka (York), and its relationship to Csa(Cost). *Vox Sang* 1975;29:145.
63. Charlton RK, Zmijewski, CM. Soluble HL-A7 antigen. Localization in the b-lipoprotein fraction of human serum. *Science* 1970;170:636.
64. Nordhagen R. Association between HLA and red cell antigens. V. Further study of the nature and behavior of HLA antigens on the red blood cells and their corresponding haemagglutinins. *Vox Sang* 1978;35:49.
65. Swanson J. Laboratory problems associated with leukocyte antibodies in: A Seminar on Recent Advances in Immunohematology. Washington, DC, American Association of Blood Banks, 1973 p 121-155.
66. Ferrone S, Pelligrino MA, Cooper NR. Expression of C4 on human lymphoid cells and possible involvement in immune systems recognition, *Science* 1976;193:53.
67. Geoff Daniels BSc, Ph D,FRCP ath. Chido/Rodgers Blood Group System. Human Blood Groups 3rd edition 2013. DOI;10.1002/9781118493595.ch 17.
68. Christopher D. Hillyer, Christopher Hillyer, Ronald Strauss et al; Red Blood Cell Antigens and Human Blood Groups. Hand book of Pediatric Transfusion Medicine 2004;4:53-59.
69. Middleton J, Crookstone MC, Falk JA, et al;Linkage of Chido and HL-A. *Tissue Antigens* 1974;4:366-373.
70. Moore HC, Issitt PD, Pavone BG: Successful transfusion of Chido- positive blood to two patients with anti-Chido. *Transfusion* 1975;15:266-269.
71. Denise M. Harmening. The Red Cell Surface Antigen Terminology and Miscellaneous Blood Groups. *Modern Blood Banking & Transfusion Practices* 5th edition 2014;10:200-204.
72. Robert R. HARR Medical Laboratory Science Review 4th edition. *Immunohematology* 2012;4:137.
73. Moulds JJ, Polesky HF, Reid M, et al: Observations on the Gya and Hy antigens and the antibodies that define them. *Transfusion* 1975;15:270.

74. Moulds MK, Moulds JJ; The pitfalls in identification of weak Coombs-reactive antibodies. South Central Association of Blood Banks Meeting, Jackson, Mississippi, 1978.
75. Veldhuisen B, Ligthart et al; Molecular analysis of the York antigen of the knops group system. *Transfusion* 2011;51:1389-96 doi;10.1111/j. 1537-2995. 2010. 02999.
76. Gustafson M, Cable RG, Matthews EJ, et al; Anti-Chido following cancer immunotherapy, abstracted. *Transfusion* 1978;18:395.
77. Moulds JJ; Multiple and high-incidence antigens. Part A-Detection and identification, in *Transfusion With "Crossmatch-Incompatible" Blood*. Washington, DG, American Association of Blood Banks, 1975 pp 47-53.
78. Marshall JV; The Bg antigens and antibodies. *Canad J Med Tech* 1973;35:26.
79. Molthan L; Anti-York(Yka) and other HTLA antibodies (Csa, McCa, Kna) revisited, abstracted. *Transfusion* 1978;18:622.
80. Tilley CA, Crookston MC, Haddad SA, et al; Red blood cell survival studies in patients with anti- Cha, anti-Yka, anti-Ge, and anti-Vel. *Transfusion* 1977;17:169.
81. Moltan L. Moulds J: A new antigen, McCa(McCoy), and its relationship to Kna(Knops). *Transfusion* 1978;18:566.
82. Helgeson M, Swanson J, Polesky HF. Knops-Heldeson (Kna), a high-frequency erythrocyte antigen. *Transfusion* 1970;10:137.
83. Middleton J, Crookston MC: Chido substance in plasma. *Vox Sang* 1972;23:256-261.
84. Mallory DM. Problems in the hemmagglutination reactions in: *A Seminar on Polymorphisms in Human Blood*. Washington, DC, American Association of Blood Banks 1975 pp143.
85. O'Neil GJ, Yang SY, Tegoli J, et al: Chido and Rodgers blood groups are distinct antigenic components of human complement C4. *Nature* 1978;273:668.

86. Longster G, Giles CM: A new specificity, anti-Rga, reacting with a red cell and serum antigen. *Vox Sang* 1976;30:175.
87. Longster G, Diles CM. A new antibody specificity, anti-Rga, reacting with a red cell and serum antigen. *Vox Sang* 1976;30:177-180.
88. Denise M. Harmening. The Red Cell Surface Antigen Terminology and Miscellaneous Blood Groups. *Modern Blood Banking & Transfusion Practices* 5th edition 2014;10:200-204.
89. Tilley CA, Rommans DG, Crookston MC: Localization of Chido and Rodgers determinants to the C4d fragment of human C4. *Nature* 1978;276:713-715.
90. Ballas SK, Sherwood WC: Rapid in vivo destruction of Yt(a+) erythrocytes in a recipient with anti-Yta. *Transfusion* 1977;17:65.
91. Longster G, Giles CM: A new antibody specificity, anti-Rga, reacting with a red cell and serum antigen. *Vox Sang* 1976;30:175-180.
92. Middleton JI: Anti-Chido. A Crossmatching Problem. *Can J Med Tech* 1972;34:41-62.
93. Eaton BR, Morton JA, Pickles MM, et al; A new antibody anti-Yta, characterizing a blood group of high incidence. *Br J Haematol.* 1956;2:333.
94. Kathy D Blaney, Paula Howard. Other blood group systems. *Basic & Applied Concepts of Immunohematology- Pageburst E- Book on vital Source 2*, 2008;6:150-152.
95. Kathy D Blaney, Paula Howard. Antibody Detection and Identification. *Basic & Applied Concepts of Immunohematology- Pageburst E- Book on vital Source 2*, 2008;7:170-171.
96. Kim HH, Park TS, Oh SH et al; Delayed hemolytic transfusion reaction due to anti-Fyb caused by a primary immune response; a case study and a review of the literature. *Immunohematology* 2004;20:184-186.
97. Kathy D Blaney, Paula Howard. ABO blood group systems antibodies. *Basic & Applied Concepts of Blood Banking and Transfusion Practices* 2013;4:88.

98. Kathy D Blaney, Paula Howard. Characteristics of High-Titer, Low-Avidity Antibodies. *Basic & Applied Concepts of Blood Banking and Transfusion Practices* 2013;7:171.
99. Mollison. Characteristics of Immunoglobulins. *Blood Transfusion in Clinical Medicine* 2005;3:60-62.
100. Garraty, G. Evaluating the Clinical Significance of Blood Group Alloantibodies that are causing Problems in Pretransfusion Testing. *Vox. Sang.* 1998;74:285-290.
101. Giles CM, Huth MC, Wilson TE, et al: Three examples of a new antibody, anti-Csa, which reacts with 98% of red cell samples. *Vox Sang* 1965;10:405.
102. Moulds JM, Nickells MW, Moulds JJ et al; The C3b/C3b receptor is recognized by the Knops Mc Coy, Swain-Langley, and York blood group system. *J. Exp. Med.* 1991. 173(5):1159-63 doi:10. 1084.
103. Lange, C., Liehr, T., Goen, M., et al: New eukaryotic semaphorins with close homology to semaphorins of DNA viruses. *Genomics* 51: 340-350, 1998. [PubMed: 9721204, related citations] [Full Text: Elsevier Science]
104. Richard, M., St-Laurent, J., Perreault, J. et al; A new SEMA7A variant found in Native Americans with alloantibody. *Vox Sang.* 100: 322-326, 2011. [PubMed: 20854351, related citations] [Full Text: Blackwell Publishing]
105. Seltsam, A., Strigens, S., Levene, C., et al: The molecular diversity of Semaphorin 7A, the semaphorin that carries the JMH blood group antigens. *Transfusion* 47: 133-146, 2007. [PubMed: 17207242, related citations] [Full Text: Blackwell Publishing]
106. Christopher D. Hillyer, Christopher Hillyer, Ronald Strauss et al: JMH Blood Group System/Cost Blood Group collection. *Handbook of Pediatric Transfusion Medicine* 2004;4:59-60.
107. James J, Stiles P, Boyce F, et al: The HL-A type of Rg(-) individuals. *Vox. Sang* 1976;30:214-16.