

Klinický význam neinvazivního stanovení *KEL* genotypu plodu v managementu těhotenství s rizikem rozvoje hemolytické nemoci plodu a novorozence

¹MUDr. Veronika Durdová, ²MUDr. Iva Holusková, Ph.D., ¹MUDr. Tereza Kratochvílová, ¹MUDr. Petra Strašilová, ¹doc. MUDr. Marek Lubušský, Ph.D.

¹Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci, Fakultní nemocnice Olomouc, Porodnicko-gynekologická klinika

²Fakultní nemocnice Olomouc, Transfuzní oddělení

SOUHRN

V České republice (ČR) je u všech těhotných žen v I. trimestru prováděn screening nepravidelných antierytrocytárních protilátek. Klinicky významná aloprotilátka anti-K (Kell, KEL1) je diagnostikována u cca 0,1 % žen (v ČR ročně 100 žen). Plod je však ohrožen rozvojem hemolytické nemoci pouze v případě, že má na povrchu svých erytrocytů přítomen komplementární antigen, jedná se o cca 5 % plodů (pět plodů ročně), naopak 95 % plodů (95 plodů ročně) komplementární antigen přítomen nemá, a tudíž nejsou ohroženy rozvojem hemolytické nemoci plodu a novorozence. Přítomnost komplementárního antigenu lze vyšetřit neinvazivně stanovením *KEL* genotypu plodu z volné fetální DNA cirkulující v periferní krvi těhotné ženy.

KLÍČOVÁ SLOVA

těhotenství • erytrocytární aloimunizace • *KEL* genotyp • hemolytická nemoc

SUMMARY

Durdova, V., Holuskova, I., Kratochvilova, T., Strasilova, P., Lubusky, M. The clinical significance of the non-invasive fetal KEL genotype assessment in the management of pregnancies at risk of hemolytic disease of the fetus and newborn

In the Czech Republic, all pregnant women in their 1st trimester undergo the red blood cell antibody screening. The clinically significant alloantibody anti-K (Kell, KEL1) is diagnosed in about 0.1% of women (100 women a year in the Czech Republic). However, the fetuses are at risk of hemolytic disease only if the complementary antigen is present on their erythrocytes. This is the case of about 5% of them (5 fetuses a year) in contrast to 95% of them (95 fetuses a year) lacking the complementary antigen and thus not at risk of Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn. The presence of the complementary antigen can be assessed noninvasively by *KEL* genotyping from cell-free fetal DNA circulating in the peripheral blood of pregnant women.

KEY WORDS

pregnancy • red cell alloimmunization • *KEL* genotype • hemolytic disease

Hemolytickou nemoc plodu a novorozence (HDFN, Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn) mohou teoreticky způsobovat jakékoli antierytrocytární protilátky třídy IgG. S ohledem na riziko rozvoje HDFN ve vztahu k jednotlivým krevně skupinovým systémům lze antierytrocytární protilátky u těhotných žen rozdělit na klinicky „nejvýznamnější“, „významné“ a „nevýznamné“. Klinicky „nejvýznamnější“ jsou protilátky proti antigenům krevně skupinových systémů Rh a Kell.⁽¹⁾

KREVNĚ SKUPINOVÝ SYSTÉM Kell

Systém Kell je tvořen 27 antigeny a každý z nich je označen jménem, písmennou zkratkou a číslem (např. „Kell“, „K“ a „KEL1“). Tento antigenní systém byl objeven v roce 1946 hned po objevení antiglobulinového testu.⁽²⁾ Nejběžnější antigeny spojené s HDFN jsou alelické antigeny „Kell“ („K“, „KEL1“) a „Cellano“ („k“, „KEL2“). Další antigeny, které jsou asociovány s HDFN, jsou: „Penny“ („Kp^a“, „KEL3“), „Rautenberg“ („Kp^b“, „KEL4“), „Peltz“ („Ku“, „KEL5“), „Sutter“ („Js^a“, „KEL6“), „Matthews“ („Js^b“, „KEL7“), „Karhula“ („Ul^a“, „KEL10“) a „KEL22“.⁽³⁻⁷⁾ V následujícím textu budou již jednotlivé antigeny označovány vždy jen písmennou zkratkou.

DĚDIČNOST

KEL gen je lokalizován na 7. chromosomu, je organizován 19 exony v kódující sekvenci a je vysoce polymorfní. *KEL* gen má dvě hlavní kodominantní alely *Ka* a *k*, které jsou výsledkem jednonukleotidového polymorfismu (698T→C) a korespondující antigeny „K“ a „k“ se liší jednou aminokyselinou (M193T).⁽²⁾ *KEL* gen kóduje Kell glykoprotein, který prostupuje erytrocytární membránou pouze 1krát a extramembránově má velkou doménu, na které se exprimují všechny antigeny systému Kell. Kell glykoprotein je strukturální a sekvenční homolog s rodinou na zinku závislých neutrálních endopeptidáz, což naznačuje, že zřejmě hraje významnou roli

v růstu a diferenciaci erytrocytů.⁽⁸⁾ Kell glykoprotein je asociován s XK proteinem (produkt XK genu na X chromosomu), který 10krát prochází erytrocytární membránou a jsou na něm lokalizovány antigeny “K_x“ a “K_m“. Velmi vzácné chybění XK proteinu výhradně u chlapců je zodpovědné za tzv. McLeodův fenotyp, kdy chybí antigeny “K_x“ a “K_m“, a ostatní Kell antigeny jsou exprimovány velmi slabě. Přítomnost XK proteinu v membráně erytrocytů při současném chybění celého Kell glykoproteinu se označuje jako vzácný K₀ fenotyp. Jedinci s K₀ fenotypem mohou produkovat protilátku anti-Ku, která může způsobit hemolýzu všech erytrocytů, v jejichž membráně se Kell glykoprotein nachází.^(2, 9) V literatuře je uvedeno nejméně devět aloprotilátek proti Kell antigenům v souvislosti s rozvojem HDFN.^(8, 10)

ANTIGEN “K“/PROTILÁTKA Anti-K

Nejvíce imunogenním antigenem Kell systému je antigen “K“, který je po “D“ antigenem druhým nejvíce imunogenním antigenem.^(2, 11, 12, 13, 14) Prottilátky anti-K mohou způsobovat závažnou formu HDFN.⁽¹⁵⁾ Nejčastější příčinou aloimunizace v Kell systému je podání inkompatibilní krevní transfúze.⁽¹⁵⁾ Závažnost HDFN lze jen obtížně předpovědět, protože korelace mezi hladinou aloprotilátky anti-K a stupněm fetální anémie je jen velmi malá. Byl popsán i případ těhotenství s hydropssem plodu v 17. týdnu těhotenství, kdy titer anti-K byl v 16. týdnu pouze 2.⁽¹⁶⁾ HDFN způsobená mateřskou aloprotilátkou anti-K se liší od HDFN způsobené mateřskou aloprotilátkou anti-D, protože kromě hemolýzy inkompatibilních erytrocytů může aloprotilátka anti-K způsobovat ještě útlum krvetvorby jejich prekurzorů v kostní dřeni. Je jisté, že Kell glykoprotein se na membráně erytrocytů projevuje mnohem dříve než Rh proteiny.^(7, 17, 18) HDFN způsobená aloprotilátkou anti-K je spojena s nižší hladinou bilirubinu v plodové vodě než HDFN způsobená aloprotilátkou anti-D a ani postnatálně nebývá přítomna významná hyperbilirubinémie. Nižší je rovněž i hladina retikulocytů a erytroblastů. Tyto údaje nasvědčují tomu, že u stejně závažné HDFN způsobené anti-K ve srovnání s HDFN způsobené anti-D je menší podíl hemolýzy.⁽¹⁰⁾

INCIDENCE ANTIGENU “K“ V POPULACI

Antigen “K“ se vyskytuje u 10 % bělošské populace a u 2 % černošské populace. V Arábii a na Sinajském poloostrově je naopak incidence “K“ antigenu až 25 %. K-pozitivní jedinci se dělí na heterozygoty pro alelu K (Kk) – 98 % bělochů a prakticky 100 % Afroameričanů – a homozygoty pro alelu K (KK).⁽²⁾

INCIDENCE PROTILÁTKY anti-K U TĚHOTNÝCH ŽEN

Holusková a kolektiv uvádějí incidenci aloprotilátky anti-K 1,2 % (71/54 657).⁽¹⁹⁾ Geifman-Holtzman a kol.⁽²⁰⁾ uvádějí incidenci anti-K 3,0 % (115/37506). Výskyt anti-K protilátky se v posledních letech zvýšil z 1,6/100 v polovině 60. let 20. století na 3,2/1000 do roku 1995.^(8, 20) Příčina nebyla zatím zcela objasněna.

INCIDENCE “K“ INKOMPATIBILNÍCH TĚHOTENSTVÍ

Ubělošské populace má K negativní žena (90 %) pravděpodobnost 10 %, že její partner bude K pozitivní (většinou heterozygot pro alelu K) a tudíž 5% pravděpodobnost, že bude mít K pozitivní plod.^(2, 8)

ANTIGEN “k“/PROTILÁTKA anti-k

Jedná se o vysokofrekvenční antigen,^(2, 11) naopak incidence aloprotilátky anti-k u těhotných žen je velmi nízká. Z hlediska rizika rozvoje závažné formy HDFN je aloprotilátka anti-k řazena mezi významné aloprotilátky, avšak vzhledem k velmi nízkému výskytu u těhotných žen lze klinický význam pro riziko rozvoje HDFN jen velmi obtížně posoudit.^(21, 22) (Obr. 1-3).

ZÁVĚR

V České republice je u všech těhotných žen v I. trimestru prováděn screening nepravidelných antierytrocytárních protilátek. Klinicky významná aloprotilátka anti-K (Kell, KEL1) je diagnostikována u cca 0,1 % žen (v ČR ročně 100 žen). Plod je však ohrožen rozvojem hemolytické nemoci pouze v případě, že má na povrchu svých erytrocytů přítomen komplementární antigen, jedná se o cca 5 % plodů (pět plodů ročně), naopak 95 % plodů (95 plodů ročně) komplementární antigen přítomen nemá, a tudíž nejsou ohroženy rozvojem hemolytické nemoci plodu a novorozence. Přítomnost komplementárního antigenu lze vyšetřit neinvazivně stanovením KEL genotypu plodu z volné fetální DNA cirkulující v periferní krvi těhotné ženy. Naproti tomu klinicky významná aloprotilátka anti-k (Cellano, KEL2) je diagnostikována jen u cca 0,01 % žen (v ČR ročně deset žen) a komplementární antigen je přítomen u většiny plodů, u cca 95 % plodů (devět plodů ročně). Vyšetření přítomnosti komplementárního antigenu neinvazivně stanovením KEL genotypu plodu tudíž nemá klinický význam v managementu těhotenství s rizikem rozvoje HDFN. et al.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNOL, 00098892).

Prohlášení: autoři v souvislosti s tématem práce nemají střet zájmů.

KELL systém (ISBT 006)

systém KELL je tvořen 27 antigeny
každý z nich je označen jménem, písmennou zkratkou a číslem
"Kell", "K", "KEL1"
"Cellano", "k", "KEL2"

fenotyp		genotyp		aloprotilátka	
antigen	%	alely	%	anti-K	anti-k
"K"	10	K/K	0,2		ANO
"K" + "k"		K/k	9,8		
"k"	90	k/k	90,0	ANO	

na povrchu erytrocytů jsou přítomny antigeny "K" a/nebo "k"
alely **K** a **k** jsou konkomitantní

Aloprotilátku anti-K si může vytvořit pouze Kell (K) negativní žena po kontaktu s Kell (K) pozitivními erytrocyty (krevní transfúze, fetomaternální hemoragie); plod může být mateřskou aloprotilátkou ohrožen hemolytickou nemocí, pokud je Kell (K) pozitivní (incidence **Kell (K) pozitivních plodů** u Kell (K) negativních žen jen **4,59 %**).

Aloprotilátku anti-k si může vytvořit pouze Cellano (k) negativní žena po kontaktu s Cellano (k) pozitivními erytrocyty (krevní transfúze, fetomaternální hemoragie); plod může být mateřskou aloprotilátkou ohrožen hemolytickou nemocí, pokud je Cellano (k) pozitivní (incidence **Cellano (k) pozitivních plodů** u Cellano (k) negativních žen jen **0,19 %**).

management těhotenství s diagnostikovanou aloimunizací těhotné ženy erytrocytárním antigenem "K"

(přítomny aloprotilátky anti-K)

incidence aloprotilátky anti-K u těhotných žen **0,1 %** cca **100** těhotných žen ročně v České republice
pravděpodobnost přítomnosti antigenu "K" u plodu **5,1 %** **94,9 %** cca **95** plodů není ohroženo hemolytickou nemocí

management těhotenství s diagnostikovanou aloimunizací těhotné ženy s erytrocytárním antigenem "k"

(přítomny aloprotilátky anti-k)

incidence aloprotilátky anti-k u těhotných žen **0,0 %** cca **10** těhotných žen ročně v České republice
pravděpodobnost přítomnosti antigenu "k" u plodu **94,9 %** **5,1 %** cca **1** plod není ohrožen hemolytickou nemocí

Obr. 1 Klinický význam neinvazivního stanovení KEL genotypu plodu v managementu těhotenství s rizikem rozvoje hemolytické nemoci plodu a novorozence

V České republice je u všech těhotných žen v I. trimestru prováděn screening nepravidelných antierytrocytárních protilátek. Klinicky významná aloprotilátka anti-K (Kell, KEL1) je diagnostikována u cca **0,1 %** žen (v ČR ročně **100** žen). Plod je však ohrožen rozvojem hemolytické nemoci pouze v případě, že má na povrchu svých erytrocytů přítomen komplementární antigen, jedná se o cca 5 % plodů (5 plodů ročně), naopak 95 % plodů (**95** plodů ročně) komplementární antigen přítomen nemá a tudíž nejsou ohroženy rozvojem hemolytické nemoci plodu a novorozence. Přítomnost komplementárního antigenu lze vyšetřit neinvazivně stanovením KEL genotypu plodu z volné fetální DNA cirkulující v periferní krvi těhotné ženy. Naproti tomu klinicky významná aloprotilátka anti-k (Cellano, KEL2) je diagnostikována jen u cca 0,01 % žen (v ČR ročně 10 žen) a komplementární antigen je přítomen u většiny plodů, u cca 95 % plodů (9 plodů ročně). Vyšetření přítomnosti komplementárního antigenu neinvazivně stanovením KEL genotypu plodu tudíž nemá klinický význam v managementu těhotenství s rizikem rozvoje HDFN. Upraveno podle McKenna⁽¹⁵⁾ a Holusková⁽¹⁹⁾

Kell (K) aloimunizace u žen v I. trimestru těhotenství

1. trimestr 100.000 těhotných žen ročně

1,5 %

1.500 aloimunizovaných žen

screening antierytrocytárních protilátek

0,1 %

100

Kell (K) aloimunizovaných žen
(přítomna aloprotilátka **anti-K**)

stanovení KEL genotypu plodu

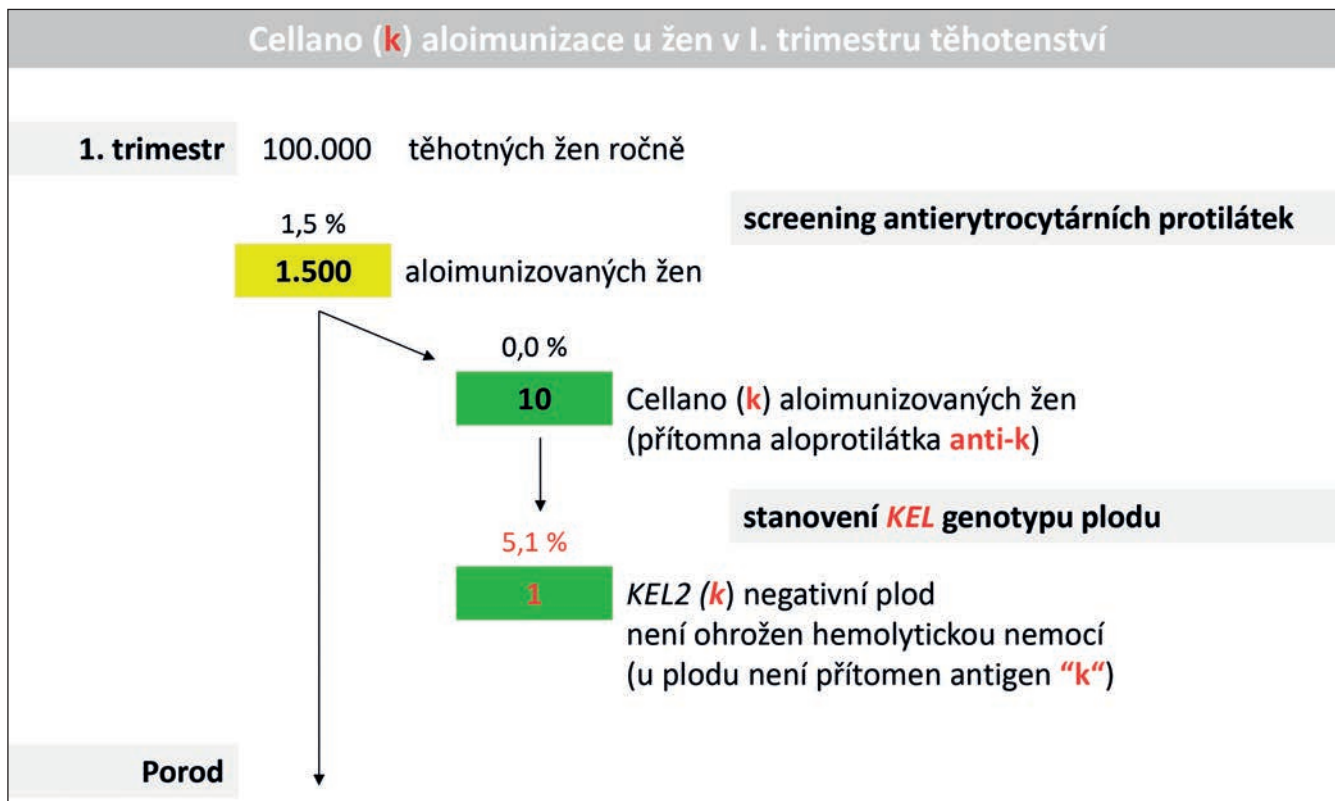
94,9 %

95

KEL1 (K) negativních plodů
není ohroženo hemolytickou nemocí
(u plodu není přítomen antigen "K")

Porod

Obr. 2 Klinický význam neinvazivního stanovení KEL genotypu plodu u KEL1 aloimunizovaných těhotných žen



Obr. 3 Klinický význam neinvazivního stanovení *KEL* genotypu plodu u *KEL2* aloimunizovaných těhotných žen

Literatura

- HOLUSKOVA, I., LUBUSKY, M., STUDNICKOVA, M., et al.** Erythrocyte alloimmunization in pregnant women, clinical importance and laboratory diagnostics. *Ces Gynekol*, 2013,78, p. 89–99.
- DEAN, L.** *Blood Groups and Red Cell Antigens*. National Center for Biotechnology Information, 2005.
- DACUS, JV., SPINNATO, JA.** Severe erythroblastosis fetalis secondary to anti-Kpb sensitization. *Am J Obstet Gynecol*, 1984, 150, p. 888–889.
- GORDON, MC., KENNEDY, MS., O'SHAUGHNESSY, RW., et al.** Severe hemolytic disease of the newborn due to anti-Js(b). *Vox sanguinis*, 1995, 69, p. 140–141.
- LEVENE, C., RUDOLPHSON, Y., SHECHTER, Y.** A second case of hemolytic disease of the newborn due to anti-Jsa. *Transfusion*, 1980, 20, p. 714–715.
- SAKUMA, K., SUZUKI, H., OHTO, H., ET AL.** First case of hemolytic disease of the newborn due to anti-Ula antibodies. *Vox sanguinis*, 1994, 66, p. 293–294.
- SOUTHCOTT, MJ., TANNER, MJ., ANSTEE, DJ.** The expression of human blood group antigens during erythropoiesis in a cell culture system. *Blood*, 1999, 93, p. 4425–4435.
- MOISE, K.** *Kell* aloimunizace matky může vést k rozvoji anémie plodu. *Gynekologie po promoci*, 2009, s. 24–31.
- DANIELS, G., POOLE, J., DE SILVA, M., et al.** The clinical significance of blood group antibodies. *Transfusion medicine*, 2002, 12, p. 287–295.
- DANIELS, G., BROMILOW, ID.** *Essential Guide to Blood Groups*. Blackwell Publishing, 2007.
- AHADED, A., BROSSARD, Y., DEBBIA, M., et al.** Quantitative determination of anti-K (KEL1) IgG and IgG subclasses in the serum of severely alloimmunized pregnant women by ELISA. *Transfusion*, 2000, 40, p. 1239–1245.
- COLLINET, P., SUBTIL, D., PUECH, F., et al.** Successful treatment of extremely severe fetal anemia due to Kell alloimmunization. *Obstet Gynecol*, 2002,100, p. 1102–1105.
- FERNANDEZ-JIMENEZ, MC., JIMENEZ-MARCO, MT., HERNANDEZ, D., et al.** Treatment with plasmapheresis and intravenous immunoglobulin in pregnancies complicated with anti-PP1Pk or anti-K immunization: a report of two patients. *Vox sanguinis*, 2001, 80, p. 117–120.
- WAGNER, T., RESCH, B., REITERER, F., et al.** Pancytopenia due to suppressed hematopoiesis in a case of fatal hemolytic disease of the newborn associated with anti-K supported by molecular K1 typing. *J Ped Hematol/Oncol*, 2004, 26, p. 13–15.
- MCKENNA, DS., NAGARAJA, HN., O'SHAUGHNESSY, R.** Management of pregnancies complicated by anti-Kell isoimmunization. *Obstet Gynecol*, 1999, 93, p. 667–673.
- VAN WAMELEN, DJ., KLUMPER, FJ., DE HAAS, M., et al.** Obstetric history and antibody titer in estimating severity of Kell alloimmunization in pregnancy. *Obstet Gynecol*, 2007, 109, p. 1093–1098.
- DANIELS, G., GREEN, C.** Expression of red cell surface antigens during erythropoiesis. *Vox sanguinis*, 2000, 78(Suppl 2), p. 149–153.
- DANIELS, G., HADLEY, NJ., GREEN, C.** Fetal anemia due to anti-K may result from immune destruction of early erythroid progenitors. *Transfusion medicine*, 1999, 16.
- HOLUSKOVA, I., LUBUSKY, M., STUDNICKOVA, M., et al.** Incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women in olomouc region. *Ces Gynekol*, 2013, 78, p. 56–61.
- GEIFMAN-HOLTZMAN, O., WOJTOWYCZ, M., KOSMAS, E., et al.** Female alloimmunization with antibodies known to cause hemolytic disease. *Obstetrics Gynecol*, 1997, 89, p. 272–275.
- BOWMAN, JM., HARMAN, FA., MANNING, CR., et al.** Erythroblastosis fetalis produced by anti-k. *Vox sanguinis*, 1989, 56, p. 187–189.
- DUGUID, JK., BROMILOW, IM.** Haemolytic disease of the newborn due to anti-k. *Vox sanguinis*, 1990, 58, p. 69.

e-mail: veronikadurdova@seznam.cz