



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



Τομέας Παθολογίας
Διευθυντής Αν.Καθηγητής Γεώργιος Νταλέκος

Εργαστήριο Αιματολογίας

Διδακτορική Διατριβή

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΤΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ D
ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ**

ΥΠΟ

**ΣΟΦΙΑΣ ΔΗΜ. ΑΛΜΠΑΝΙΔΟΥ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ**

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των
απαιτήσεων για την απόκτηση του
Διδακτορικού Διπλώματος

ΛΑΡΙΣΑ 2009

© 2009
Σοφία Δημητρίου Αλμπανίδου
ALL RIGHTS RESERVE

Εξώφυλλο: Immunohematology 24(4), 2008

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα (N. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2).

Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής:

Νικόλαος Σταθάκης	Ομότιμος Καθηγητής Παθολογίας Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Πασχάλης - Αδάμ Μολυβδάς	Καθηγητής Φυσιολογίας Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Κωνσταντίνος Γουργουλιάνης	Καθηγητής Πνευμονολογίας Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Δέσποινα Κυριάκου	Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ιατρικής των Μεταγγίσεων Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Ευθυμία Πετεινάκη	Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μικροβιολογίας Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Ζωή Δανιήλ	Επίκουρος Καθηγήτρια Πνευμονολογίας Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Γεώργιος Βασιλόπουλος	Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας-Αιματολογίας Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Την κ. Δέσποινα Κυριάκου τη γνώρισα στα φοιτητικά μου χρόνια κατά την εκπόνηση της πτυχιακής μου εργασίας, καθώς ήταν μέλος της τριμελούς επιτροπής μου. Μου έδειξε εμπιστοσύνη με την ανάθεση του παρόντος θέματος και με βοήθησε με προθυμία κάθε στιγμή σε οποιαδήποτε απορία, δυσκολία ή επιλογή μου αλλά και μου συμπαραστάθηκε, με συμβούλεψε, με οδήγησε σε κάθε πρόοδο της εργασίας, μου μετέδωσε πολύτιμες γνώσεις.

Κ. Κυριάκου σε ευχαριστώ.

Ο κ. Νικόλαος Σταθάκης ήταν επιβλέπων μου στην πτυχιακή μου εργασία. Με δέχθηκε με ευχαρίστηση, με συμβούλεψε σε κάθε μου προσπάθεια, με ανέχθηκε ως άτομο.

Κ. Σταθάκη σε ευχαριστώ.

Ο κ. Κωνσταντίνος Γουργουλιάνης ήταν υπεύθυνος σε μαθήματα κατά την διάρκεια των σπουδών μου. Με δέχθηκε με χαμόγελο, με συμβούλεψε σε κάθε συνάντησή μας, μου συμπαραστάθηκε σε κάθε περίοδο της ζωής μου.

Κ. Γουργουλιάνη σε ευχαριστώ.

Ευχαριστώ το κ. Πασχάλη-Αδάμ Μολυβδά, τη κ. Ευθυμία Πετεινάκη, τη κ. Ζωή Δανιήλ και το κ. Γεώργιο Βασιλόπουλο που ως μέλη της επταμελούς επιτροπής μου, με υποστήριξαν, με καθοδήγησαν, και με βοήθησαν με τις πολύτιμες προτάσεις τους στη βελτίωση του κειμένου της εργασίας.

Ευχαριστώ τη προϊσταμένη του εργαστηρίου Αιμοδοσίας, κ. Ιωάννα Δουκατζή, για την φιλία της όλα αυτά τα χρόνια και τη βοήθεια της κατά την εργαστηριακή μου εμπειρία.

Ευχαριστώ όλο το προσωπικό των εργαστηρίων Αιμοδοσίας και Αιματολογίας για τη βοήθεια του και τις συμβουλές του κατά την εργαστηριακή μου εμπειρία και ιδιαίτερα τις κυρίες Κιουτσούκουστα Δέσποινα, Ανδρέου Μαρία, Καραπάνου Αναστασία, Καραγιάννη Αικατερίνη, Φασούλα Μαγδαληνή και τον κύριο Δελημήτρο Αντώνιο.

Ευχαριστώ την φίλη μου, Αφροδίτη Βασδέκη και τον φίλο μου, Γεώργιο Ουγιάρo, για τις συμβουλές τους, στην τελική βελτίωση του κειμένου.

Ευχαριστώ την αδελφή μου, Παυλίνα Αλμπανίδου, που με την πολύτιμη πείρα της, με βοήθησε στην πορεία της εργασίας, από την αρχή έως τη περάτωση της.

Ευχαριστώ τον αδελφό μου, Κωνσταντίνο Αλμπανίδη, για τις συμβουλές και τη συνεχή συμπαράσταση του.

Ευχαριστώ τους γονείς μου, Δημήτρη και Στέλλα Αλμπανίδη, που έβαλαν τα θεμέλια.

Ευχαριστώ τον σύζυγο μου, Λευτέρη Χαλίτσιο, που έσωσε τα όνειρα.

Σοφία Αλμπανίδου

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ

ΑΛΜΠΑΝΙΔΟΥ ΔΗΜ. ΣΟΦΙΑ

Ημερομηνία γέννησης: 07/12/1974
Τόπος γέννησης: Θεσσαλονίκη
Διεύθυνση κατοικίας: Αγγελακοπούλου 65, 41334 Λάρισα
Τηλέφωνο επικοινωνίας: 6972400104

Σπουδές:

1999-2003: ΠΣΕ Ιατρική Βιοχημεία
Σχολή Επιστημών υγείας
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
2004- : Τμήμα Ιατρικής
Σχολή Επιστημών υγείας
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Βεβαιώσεις Παρακολούθησης Προγραμμάτων:

- Βεβαίωση Παρακολούθησης Προγράμματος Επαγγελματικής Κατάρτισης: "Στελέχη Ανάπτυξη Λογισμικού Εφαρμογής", 850 ώρες, από 15-12-2003 έως 2-7-2004 , Λάρισα
Κέντρο Επαγγελματικής Κατάρτισης Δυναμική, Ε.Π. Κοινωνία Της Εφαρμογής
- Βεβαίωση Παρακολούθησης Προγράμματος Εκπαίδευσης: "Μηχανογραφημένη Λογιστική Ι", από 8-9-1997 έως 15-1-1998, Θεσσαλονίκη
Εργαστήριο Ελευθέρων Σπουδών BUSINESS STUDIES
- Βεβαίωση Παρακολούθησης Προγράμματος Εκπαίδευσης: "Ελληνική - Αγγλική Δακτυλογραφία", από 1-11-1997 έως 17-12-97, Θεσσαλονίκη
Εργαστήριο Ελευθέρων Σπουδών BUSINESS STUDIES
- Βεβαίωση Συμμετοχής Προγράμματος Επαγγελματικής Κατάρτισης: "Δημιουργία Και Λειτουργία Βρεφονηπιακού Σταθμού", 700 ώρες, 1994, Σίνδος Θεσσαλονίκης
Αστική Εταιρεία Γυναίκες Της Υπαίθρου Μακεδονίας Θράκης

Αναρτημένες ανακοινώσεις:

- Απομόνωση Των Προγονικών Κυττάρων Σε Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα Με Διάφορες Χρωσωμικές Ανωμαλίες: Σύνδεση Του Μεταλλαγμένου Κλώνου 12ο Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδος, Λάρισα, 2006
- Μυοστατίνη: Η Έλλειψη Της Προκαλεί Υπερτροφία, Ενώ Η Παρουσία Της Σύνδρομο Απίσχυνης Σε Χρονίως Πάσχοντες
12ο Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδος, Λάρισα, 2006
- Συχνότητα Αντιφωσφιλιπιδικού Συνδρόμου Σε Ασθενείς Με Θρομβωτικά Εγκεφαλικά Επεισόδια
130 Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, Πάτρα, 2002

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ D
ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ**

ΣΟΦΙΑ ΔΗΜ. ΑΛΜΠΑΝΙΔΟΥ

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2009

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΔΕΣΠΟΙΝΑ ΚΥΡΙΑΚΟΥ
(Επιβλέπουσα)

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια
Ιατρικής των Μεταγγίσεων
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΣΤΑΘΑΚΗΣ

Ομότιμος Καθηγητής Παθολογίας
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ

Καθηγητής Πνευμονολογίας
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	9
ABSTRACT	11
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	13
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	14
1. ΣΥΣΤΗΜΑ ΟΜΑΔΑΣ ΑΙΜΑΤΟΣ	15
2. ΣΥΣΤΗΜΑ ΟΜΑΔΑΣ ΑΙΜΑΤΟΣ ABO	17
2.1 ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΙ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ABO	
2.2 ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ - ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ A ΚΑΙ B	
2.3 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ A ΚΑΙ B	
2.4 ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΑ ΑΝΤΙΓΟΝΑ A ΚΑΙ B	
2.5 ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΙ ΕΝΑΝΤΙ ΤΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ A ΚΑΙ B	
2.6 ΧΡΟΝΟΣ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΤΩΝ αντι-A ΚΑΙ αντι-B	
2.7 ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ αντι-A ΚΑΙ αντι-B	
• Αντιδράσεις μετάγγισης	
• Αιμολυτική νόσος του νεογνού	
2.8 ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΑΣΗ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ABO	
2.9 ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ABO	
3. ΣΥΣΤΗΜΑ ΟΜΑΔΑΣ ΑΙΜΑΤΟΣ Hh	26
3.1 ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ H	
3.2 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ H	
3.3 ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ H	
3.4 ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΙ ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ H	
3.5 ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ αντι-H	
• Αντιδράσεις μετάγγισης	
• Αιμολυτική νόσος του νεογνού	
• Ενδοαγγειακή αιμόλυση	
3.6 ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΑΣΗ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ Hh	
4. ΣΥΣΤΗΜΑ ΟΜΑΔΑΣ ΑΙΜΑΤΟΣ Bombay	29
4.1 ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ Bombay	
5. ΣΥΣΤΗΜΑ ΟΜΑΔΑΣ ΑΙΜΑΤΟΣ Rhesus	32
5.1 ΟΡΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ Rh	
5.2 ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΙ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ Rh	
5.3 ΠΑΡΑΛΛΑΓΕΣ ΤΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ D	
• Ατελής D	
• Ασθενές D	
• Φαινότυπος D _{e1}	
• Φαινότυπος Rh _{null}	
• Φαινότυπος Rh _{mod}	
5.4 ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ - ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ Rh	
5.5 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ Rh	
5.6 ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΙ ΕΝΑΝΤΙ ΤΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ Rh	
5.7 ΧΡΟΝΟΣ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ Rh	
5.8 ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ αντι-D	
• Αντιδράσεις μετάγγισης	
• Αιμολυτική νόσος του εμβρύου και του νεογνού	
• Σύνδρομο ανεπάρκειας Rh	
• Αιματολογικά νοσήματα και σύστημα Rh	
5.9 ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΑΣΗ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ Rh	
• Πρωτεΐνες Rh	
• Rh - συνδεδεμένη πρωτεΐνη	
• Μη ερυθροκυτταρικές πρωτεΐνες Rh	
• Σύμπλεγμα Rh	
• Βοηθητικές πρωτεΐνες Rh	
5.10 ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΜΑΔΟΠΟΙΗΣΗ ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ Rh	
6. ΣΥΣΤΗΜΑ ΟΜΑΔΑΣ ΑΙΜΑΤΟΣ Kell	77
6.1 ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΙ Kell	
• Φαινότυπος K ₀	
• Φαινότυπος McLeod	
6.2 ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ Kell	
6.3 ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΙ ΕΝΑΝΤΙ ΤΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ Kell	

6.4 ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ Kell

- Αντιδράσεις μετάγγισης
- Αιμολυτική νόσος του νεογνού

6.5 ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΑΣΗ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ Kell

- Πρωτεΐνη Kell

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	84
1. ΣΚΟΠΟΣ	85
2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ	86
3. ΜΕΘΟΔΟΙ	87
4. ΤΕΧΝΙΚΕΣ	88
5. ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	100
6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	105
7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	120
8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	129
9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	131
9.1 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ΕΙΚΟΝΩΝ	
9.2 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ΣΧΗΜΑΤΩΝ	
9.3 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ΠΙΝΑΚΩΝ	
10. ΕΠΕΞΗΓΗΣΕΙΣ ΑΓΓΛΙΚΩΝ ΟΡΩΝ ΚΑΙ ΣΥΝΤΜΗΣΕΩΝ	163

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι τύποι του αίματος έχουν κατηγοριοποιηθεί σε συστήματα, που χαρακτηρίζονται από ένα ή περισσότερα αντιγόνα στην επιφάνεια των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Τα πιο σημαντικά συστήματα κατηγοριοποίησης στην κλινική ιατρική, είναι το σύστημα ABO, το Rhesus και το Kell, καθώς έχουν αναφερθεί ως αίτια αιμολυτικών αντιδράσεων μετά από μετάγγιση και αιμολυτικής νόσου των νεογνών.

Σκοπός

Σκοπός της παρούσας μελέτης, είναι η κατανομή και η μελέτη των συχνοτήτων των τύπων ομάδων αίματος του συστήματος ABO, Rh και Kell, και των παραλλαγών του αντιγόνου D (RhD), του ασθενούς D και του ατελούς D σε Ελληνικό πληθυσμό (περιφέρεια Θεσσαλίας), καθώς δημιουργούν προβλήματα ευαισθητοποίησης στην καθημερινή πράξη. Επίσης, η προσπάθεια εκτίμησης της γενετικής απόστασης, με σκοπό την εκτίμηση της γενετικής ποικιλομορφίας εντός και μεταξύ πληθυσμών και την κατανόηση της φυλογενετικής τους σχέσης.

Υλικό και μέθοδοι

Μελετήθηκαν με τη διαδικασία της τυχαίας δειγματοληψίας, 915 άτομα, που επισκέφθηκαν το Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας κατά την διάρκεια της χρονικής περιόδου, 18 Απριλίου 2005 έως και 31 Ιανουαρίου 2008. Από τα 915 άτομα, οι 443 ήταν άνδρες (ηλικίας 0-88 ετών, διάμεση ηλικία 58) και οι 472 γυναίκες (ηλικίας 0-95 ετών, διάμεση ηλικία 63).

Ο καθορισμός ομάδας αίματος του συστήματος ABO, Rh και Kell έγινε με προτυποποιημένες εμπορικές δοκιμασίες (kit) "ID-Card" (DiaMed-ID Micro Typing System, Cressier s/Morat, Switzerland) και ο προσδιορισμός του πολυμορφισμού των παραλλαγών του αντιγόνου D, του ασθενούς D και του ατελούς D, με τις δοκιμασίες "weak D-SSP" και "CDE-SSP" (inno-TRAIN Diagnostik GmbH, Kronberg / Taunus, Germany), αντίστοιχα και σύμφωνα με τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρίας.

Υπολογίσαμε τις κατανομές συχνότητας (λογισμικό SPSS), πραγματοποιήσαμε έλεγχο υποθέσεων (λογισμικό φύλλο EXCEL) και εκτιμήσαμε τη γενετική απόσταση (GenDist (Phylip)).

Αποτελέσματα

Η συχνότητα εμφάνισης των τύπων A, B, AB και O, είναι 38,6%, 15,7%, 7,9% και 37,8%, αντίστοιχα (n=915). Βρέθηκε, μικρή γενετική απόσταση των Ελλήνων με τους Ιταλούς (0,0074), τους Καυκάσιους (0,0090) και τους Αιγύπτιους (0,0037), λίγο μεγαλύτερη με τους Ασίγγανους (0,0382) και τους ΝΔ Γερμανούς (0,0756) και μεγάλη με τους Πακιστανούς (0,1528).

Η συχνότητα εμφάνισης RhD(+) και RhD(-), είναι 83,8% και 16,2%, αντίστοιχα (n=915), και των αντιγόνων C, c, E και

e, είναι 48,52%, 51,48%, 19,97% και 85,03%, αντίστοιχα, ενώ των απλοτύπων Rh είναι 46,12% ο DcE, 35,74% ο dce, 14,43% ο DcE, 1,75% ο Dce, 1,37% ο dCe, 0,33% ο dcE, και 0,27% ο DCE. Βρέθηκε, όσον αφορά στο αντιγόνο D, μικρή γενετική απόσταση, με τους Καυκάσιους (0,000547), τους ΝΔ Γερμανούς (0,00426), λίγο μεγαλύτερη με τους Έγχρωμους (0,045688) και τους Αισιγγανούς (0,052204) και μεγάλη με τους Ασιάτες (0,136904), και όσον αφορά τους απλοτύπους Rh, επίσης μικρή γενετική απόσταση, με τους Καυκάσιους (0,001893), τους ΝΔ Γερμανούς (0,001832) και τους Τούρκους (0,001725).

Οι τύποι ασθενούς D αποτελούν το 0,26% (n=2) των ατόμων με RhD(+) (n=767) και συγκεκριμένα του τύπου 1 το 0,13% και ατυποποίητο το 0,13%, ενώ του μερικού D αποτελούν το 3,52% (n=27) των RhD(+) (n=767) και συγκεκριμένα 0,52% ο D^{IIIb}, 0,13% ο D^{IIIc}, 0,13% ο D^{Iva}, 0,65% ο D^{Ivb}, 0,26% ο D^{Va}, 0,52% ο D^{VI typ I}, 0,52% ο D^{VI typ II}, 0,52% ο D^{VI typ III} και 0,26% ο D^{Har}.

Η συχνότητα εμφάνισης του φαινοτύπου K(+) και του K(-) αποτελούν το 5,6% και το 94,4%, αντίστοιχα.

Βρέθηκε, μικρή γενετική απόσταση, με τους Καυκάσιους (0,007583), τους ΝΔ Γερμανούς (0,003292) και τους Τούρκους (0,000814).

Συμπερασματικά, στην παρούσα μελέτη βρήκαμε ότι:

- οι κατανομές της συχνότητας μας, ως προς τα συστήματα ομάδων αίματος ABO, Rh, Kell, συμφωνούν με αυτές που αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία, για τους Καυκάσιους και τους Ευρωπαίους, καθώς παρατηρήσαμε την μικρή γενετική απόσταση, ενώ δεν παρατηρήσαμε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά, κατά τον έλεγχο των υποθέσεων (χ^2)
- οι παραλλαγές του αντιγόνου D, αποτελούν το 3,78% των RhD(+) ατόμων, πληροφορία που πρέπει να λαμβάνεται υπ'όψιν στις μεταγγίσεις.

ABSTRACT

Blood types are classified into systems that are characterized by more than one antigens on the surface of red blood cells. The most important classification systems in clinical medicine is the ABO, the Rhesus and Kell system, as they are implicated in transfusion reactions and hemolytic disease of the newborn.

Aim

The purpose of this study is to find the distribution and the frequencies of blood types according to ABO, Rh and Kell systems, and variants of the D antigen (RhD), the weak D and the partial D in Greek population (region of Thessaly). Also, we attempted to estimate the genetic distance between various populations, in order to assess the genetic diversity within and between populations and understanding of phylogenetic relationship.

Material and Methods

We studied, randomly 915 individuals, who visited the University Hospital of Larissa during the period April 18, 2005 to January 31, 2008. Of the 915 individuals, 443 were men (aged 0-88 years, median age 58) and 472 women (aged 0-95 years, median age 63).

The determination of blood group system ABO, Rh and Kell was standardized with commercial assays (kit) "ID-Card" (DiaMed-ID Micro Typing System, Cressier s / Morat, Switzerland) and the determination of the polymorphism variants of antigen D, weak D and partial D, with the tests "weak D-SSP" and "CDE-SSP" (inno-TRAIN Diagnostik GmbH, Kronberg / Taunus, Germany), respectively, according to the instructions of the manufacturer.

We calculated the frequency distributions (software SPSS), we performed hypothesis testing (spreadsheet EXCEL) and calculated the genetic distance (GenDist (Phylip)).

Results

The frequency of types A, B, AB and O, are 38.6%, 15.7%, 7.9% and 37.8%, respectively (n = 915).

We found, small genetic distance between the Greeks and the Italians (0.0074), Caucasians (0.0090) and Egyptians (0.0037), slightly larger with Greek Gipsies (0.0382) and SW Germans (0.0756) and great with the Pakistan's (0.1528).

The frequency of RhD(+) and RhD(-), are 83.8% and 16.2%, respectively (n = 915), and the antigens C, c, E and e, are 48.52%, 51.48%, 19.97% and 85.03%, respectively, while the Rh haplotypes are the 46.12% DCe, 35.74% the dce, 14.43% the DcE, 1.75% the Dce, 1.37% the dCe, 0.33% the dcE, 0.27% and the DCE.

We found, regarding the antigen D, small genetic distance to Caucasians (0.000547), and SW Germans (0.00426), with slightly larger to Blacks (0.045688) and Greek Gipsies (0.052204) and large with Asians (0.136904), and regarding the haplotypes of Rh, we found small genetic distance, with Caucasians (0.001893), the SW Germans (0.001832) and Turks (0.001725).

The weak D types are in 0.26% (n = 2) of RhD(+) individuals (n = 767) and in particular the type 1, 0.13% and uncharacterized 0.13%, while the partial D are in 3.52% (n = 27) of RhD(+) individuals (n = 767), namely 0.52% the D^{IIIb}, 0.13% the D^{IIIc}, 0.13% the D^{IVa}, 0.65% the D^{IVb}, 0.26% the D^{Va}, 0.52% the D^{VI typ I}, 0.52% the D^{VI typ II}, 0.52% the D^{VI typ III} and 0.26% the D^{Har}.

The frequency of K(+) and K(-) phenotype are 5.6% and 94.4%, respectively.

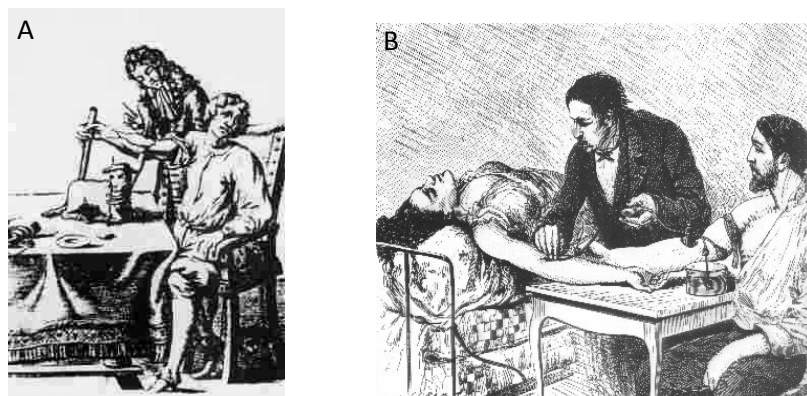
We found, small genetic distance, with Caucasians (0.007583), the SW Germans (0.003292) and Turks (0.000177).

In conclusion, in this study we found that:

- The frequency distribution for blood groups ABO, Rh, Kell, agree with those reported in the literature for Caucasians and Europeans, as we noticed small genetic distance, and saw no statistically significant difference (χ^2) with these populations.
- Variations of antigen D, are 3.78% of the individuals with RhD(+). This information should be considered in transfusion.

Γενικό μέρος

Η κυκλοφορία του αίματος ανακοινώθηκε από τον William Harvey, το 1616, ιατρό της αυλής του Καρόλου Α, ενώ ο πρώτος άνθρωπος που μετάγγισε με επιτυχία κατευθείαν αίμα από ένα ζώο σε άλλο ήταν ο Richard Lower, το 1665 και έκτοτε συνεχίστηκαν οι προσπάθειες ώστε να μεταγγιστεί αίμα από άνθρωπο σε άνθρωπο¹ (εικόνα 1).



Εικόνα 1.

A. Απεικόνιση ενός πειράματος το 1667, στο οποίο αίμα προβάτου μεταγγίζεται σε άνθρωπο.

B. Η πρώτη επιτυχής μετάγγιση από άνθρωπο σε άνθρωπο έγινε το 1818, από τον James Blundell, μαιευτήρα και φυσιολόγο του νοσοκομείου του Λονδίνου, Guy's Hospital, ο οποίος μετάγγισε αίμα από έναν άνδρα στη σύζυγό του με τη βοήθεια μίας σύριγγας.

1. ΣΥΣΤΗΜΑ ΟΜΑΔΑΣ ΑΙΜΑΤΟΣ (Blood group system)

Ως **σύστημα** χαρακτηρίζεται ένα ή περισσότερα αντιγόνα (antigens) των ομάδων αίματος, που καθορίζονται από αλληλόμορφα γονίδια (alleles) ενός γονιδιακού τόπου (loci) ή από σύμπλεγμα δύο στενά συνδεδεμένων τόπων. Μέχρι σήμερα έχουν περιγραφεί 29 αντιγονικά συστήματα (πίνακας 1), με αριθμό γνωστών αντιγόνων περίπου 300. Μερικά συστήματα περιέχουν μόνο 1 αντιγόνο, όπως το σύστημα P), ενώ άλλα περιέχουν τουλάχιστον 43 όπως το σύστημα MNS ή 55, όπως το σύστημα Rh^{2,3,4}. Υπάρχουν και ορισμένα ακόμη αντιγόνα που δεν μπορούν να καταταγούν σε συστήματα και χαρακτηρίζονται ως **συλλογές ή σειρές** (collections ή series)⁵, και ταξινομούνται μαζί με βάση γενετικές, βιοχημικές ή ορολογικές δοκιμασίες.

Ομάδες αίματος (blood group), ονομάζονται οι κληρονομούμενες ιδιότητες των ερυθρών αιμοσφαιρίων, οι οποίες μπορούν να χαρακτηριστούν ως αντιγόνα, με τη βοήθεια ειδικών αντισωμάτων (antibodies). Εάν σε μια μετάγγιση τα αντιγόνα αυτά έρθουν σε επαφή με τα αντίστοιχα αντισώματα στο αίμα του λήπτη, προκαλείται αντίδραση συγκόλλησης των ερυθρών αιμοσφαιρίων, την οποία ακολουθεί κατά κανόνα η αιμόλυση τους. Έτσι τα ειδικά αυτά αντιγόνα ονομάστηκαν **συγκολλητινογόνα** (agglutinogens) και τα αντίστοιχα αντισώματα **συγκολλητινίνες** (agglutinins). Τα συγκολλητινογόνα είναι γενικά συμπλέγματα πολυσακχαριτών με πεπτιδικές αλυσίδες ή με λιπίδια (γλυκολιπίδια). Και στις δύο περιπτώσεις η αντιγονική ιδιότητα φαίνεται να είναι συνδεδεμένη με το υδατανθρακικό τμήμα του μορίου.

Τα αντιγόνα των ερυθρών αιμοσφαιρίων που έχουν πρωτεϊνική δομή, όπως αυτά του συστήματος ομάδας αίματος ρέζους (Rh), παράγονται κατευθείαν από τα γονίδια, ενώ όσα έχουν υδατανθρακική σύνθεση παράγονται έμμεσα, με την παρεμβολή ενζύμων, των μεταφορασών (ή τρανσφερασών / transferases), τα οποία αποτελούν το άμεσο προϊόν των γονιδίων και είναι αυτά που μεταφέρουν τα απαραίτητα σάκχαρα πάνω σε ένα προσυντιθεμένο υπόστρωμα ολιγοσακχαριτών και του προσδίδουν τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του⁶.

Πίνακας 1.

Μόρια ομάδων αίματος συστατικά της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων, γονίδια, αντιγόνα.

Τύπος φορέα	Σύστημα ομάδας αίματος (ISBT)	Γονίδιο	Αντιγόνο	Φορέας μορίου	Λειτουργία του φορέα μορίου	Δευτερεύουσα / πιθανή λειτουργία φορέα μορίου	Κλινική εκδήλωση σε απουσία του φορέα μορίου
ΜΕΤΑΦΟΡΕΑΣ Ή ΚΑΝΑΛΙ	Rh	RHCE,RHC,RHE, RHD	C/c,C(e), E/e, D,d,e, κα	RhD, RhCE, (RhAG)*	NH ₂ ⁺ / ανταλλάκτης αερίου;	Δομική	Στοματοκυττάρωση, ήπια αντιρροπιστική αναιμία
	Kidd	SLC14A1,UT1,HUT11, κα	Jk(a/b)	HUT/11	Μεταφορέας ουρίας ερυθρών αιμοσφαιρίων		Μείωση ικανότητας συμπίκνωσης ούρων
	Diego	SLC4A1,AE1,EPB3	Di(a/b),Wi(a/b), κα	AE-1	Ανταλλάκτης ανόντων;	Δομική	Σφαιροκυττάρωση σοβαρή αναιμία
	Colton	AQP1,CHIP28	Co(a/b)	AQP1	Κανάλι ύδατος		Μείωση διήθησης οσμωτικού ύδατος
	Kx	XK		Γλυκοπρωτεΐνη Xk	Καμία γνωστή	Δομική	Ακανθοκυττάρωση, σύνδρομο McLeod
	GIL			AQP3	Μεταφορέας ύδατος / γλυκερόλης		Καμία
ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΕΣ	ABO	ABO	A/B	CHO	Άγνωστη	Εμφυτη άμυνα;	Καμία
	P	P1	P1	CHO	Άγνωστη	Εμφυτη άμυνα;	Καμία
	Lewis	FUT3,LE	Le(a/b)	CHO	Άγνωστη	Εμφυτη άμυνα;	Καμία
	H			CHO	Άγνωστη	Εμφυτη άμυνα;	Καμία
	I	GCNT2,IGnT	I/i	CHO	Άγνωστη	Εμφυτη άμυνα;	Καμία
	GLOB			CHO	Άγνωστη	Εμφυτη άμυνα;	Επαναλαμβανόμενες αυτόματες εκτρώσεις
ΓΛΥΚΟΦΟΡΙΝΕΣ	MNS	GYP A,GPA, GYPB,GPB	M/N, S/s, M(a), κα	GPA/GPB	Καμία γνωστή	Δομική;	Καμία
	Gerbich	GYP C,GPC	Ge(a), Dh(A), κα	GPC/GPD	Δομική		Ελλειπτοκυττάρωση, ήπια αναιμία
ΡΥΘΜΙΣΤΗΣ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ	Chido / Rodgers	C4A,C4B	Ch1 - Ch6, Rgl, κα	C4	Ρυθμιστής συμπληρώματος		Καμία
	Cromer	DAF,CD55	Cr(a), Dr(a), κα	DAF (CD55)	Ρυθμιστής συμπληρώματος		Συσχέτιση με νόσο του εντέρου;
	Knops	CR1,C3BR	Kn(a/b), YK(a), κα	CR1 (CD35)	Υποδοχέας / ρυθμιστής συμπληρώματος		Καμία γνωστή
ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗΣ Ή ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗΣ	Lutheran	LW, BCAM, MSK19	Lw(a/b),Au(a/b), κα	Γλυκοπρωτεΐνη (B-CAM)	Προσκολλητική	Δομική	Καμία
	Duffy	FY,GPD,DARC	Fy(a/b)	DARC	Υποδοχέας χημειοκινών		Καμία
	Xg	XG,PBDX	Xg(a)	Γλυκοπρωτεΐνη Xg, CD99	Προσκολλητική		Καμία
	Scianna	SA	Sc(1/2), κα	ERMAP	Προσκολλητική		Καμία
	Landsteiner-Wiener	LW	Lw(a/b)	Γλυκοπρωτεΐνη LW (ICAM-4)	Προσκολλητική		Καμία
	Indian	CD44,LHR	In(a/b)	Αντιγόνο (CD44)	Προσκολλητική		Καμία γνωστή
	OK			Νευροθηλίνη (CD147)	Προσκολλητική		Καμία γνωστή
	RAPH			MER2 (CD151)	Προσκολλητική		Πολυσυστηματική νόσος
	BMH			Sema7A (CDw108)	Προσκολλητική		Καμία
ΕΝΖΥΜΑ	Kell	KEL	K/k, U(a), Kr(a/b/c),κα	Γλυκοπρωτεΐνη Kell	Ενζυμική	Δομική	Καμία
	yt	ACHE	yt(a/b)	ACH E	Ενζυμική		Καμία γνωστή
	Dombrock	DO	An(a), κα	ART4	Ενζυμική		Καμία

* Η πρωτεΐνη RhAG δεν φέρει αντιγόνα της ομάδας αίματος, αλλά είναι αναπόσπαστη πρωτεΐνη του συμπλέγματος Rh

2. ΣΥΣΤΗΜΑ ΟΜΑΔΑΣ ΑΙΜΑΤΟΣ ABO

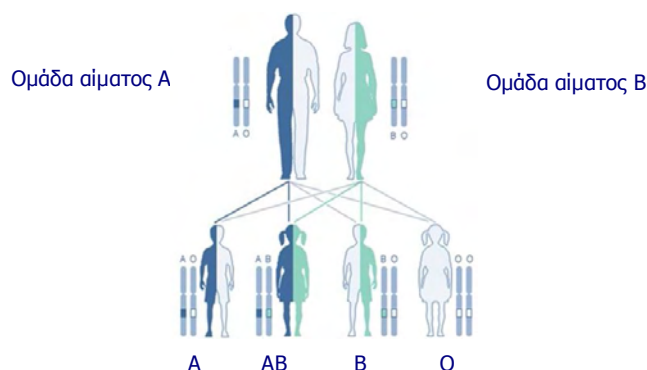
Το 1900, σε μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τον Αυστριακό επιστήμονα Karl Landsteiner, ένα αποτέλεσμα το οποίο είχε αναφερθεί ως υποσημείωση, ήταν ότι ο ορός του αίματος ορισμένων ατόμων, συγκολλούσε τα ερυθρά αιμοσφαίρια άλλων ατόμων, και έδειξε ότι οι άνθρωποι θα μπορούσαν να κατηγοριοποιηθούν σε ομάδες σε ότι αφορά στα χαρακτηριστικά του αίματος⁷.

Περαιτέρω μελέτη από τον ίδιο, τον οδήγησε στο συμπέρασμα, ότι υπήρχαν δύο αντιγόνα (A και B) και δύο αντισώματα (**αντι-A** και **αντι-B**) και άρα τα ερυθρά αιμοσφαίρια είχαν είτε αντιγόνα A (ομάδα **A**), είτε αντιγόνα B (ομάδα **B**) ή κανένα από τα δύο (ομάδα **O**)⁸.

Η ομάδα αυτή, η οποία δεν περιλάμβανε τα αντι-A ή τα αντι-B, περιγράφηκε από τους μαθητές του Decastello και Sturli και ονομάστηκε αργότερα "O" από τη γερμανική λέξη "Ohne", η οποία σημαίνει "χωρίς"⁹, και ένα χρόνο αργότερα προστέθηκε στο σύστημα ABO και η τέταρτη ομάδα αίματος, η **AB**^{10,11}. Οι παραπάνω παρατηρήσεις από τον Landsteiner και τους Decastello και Sturli αποτέλεσαν τα θεμέλια της γνώσης για το σύστημα ομαδοποίησης του αίματος στο σύστημα ABO.

2.1 ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΙ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ABO

Τα αντιγόνα του συστήματος ABO, κωδικοποιούνται έμμεσα από ένα γονιδιακό τόπο, το γονίδιο ABO, το οποίο έχει τρία αλληλόμορφα γονίδια, τα A, B, και O. Ήδη από το 1925, ο Felix Bernstein¹², απέδειξε ότι τα αντιγόνα A και B μεταβιβάζονται σύμφωνα με τους νόμους του Mendel και ότι η κληρονομικότητα των ομάδων στο σύστημα ABO εξαρτάται από την παρουσία και των 3 αλληλόμορφων γονιδίων A, B, και O, από τα οποία τα A και B είναι επικρατούντα και το O υπολειπόμενο¹³ (σχήμα 1). Έτσι προκύπτουν 6 δυνατοί γονοτυπικοί συνδυασμοί (AB, AA, AO, BB, BO, OO) και 4 φαινότυποι (AB, A, B, O)



Σχήμα 1.

Το σύστημα ABO, είναι ένα κλασικό παράδειγμα πολλαπλών αλληλόμορφων γονιδίων (multiple alleles). Τα αλληλόμορφα γονίδια μπορεί να είναι επικρατούντα, υπολειπόμενα ή συνεπικρατούντα.

Ο τύπος αίματος AB, κληρονομείται με συνεπικρατούντα χαρακτήρα. Σε αυτό το παράδειγμα, ένας πατέρας με ομάδα αίματος A και μια μητέρα με ομάδα αίματος B έχουν 4 παιδιά, κάθε ένα με έναν διαφορετικό τύπο αίματος: A, AB, B, και O.

Επόμενες έρευνες απέδειξαν, ότι η ομάδα A εμφανίζει υποομάδες, τις A1 και A2, και έτσι οι ομάδες αυξήθηκαν από 4 σε 6 (δηλαδή τις A1, A2, B, A1B, A2B, και O). Όσον αφορά στα αντίστοιχα αντισώματα υπάρχουν δύο μορφές, δηλαδή το αντι-A, το οποίο αντιδρά και με τα δύο αντιγόνα A1 και A2 και το αντι-A1, το οποίο αντιδρά μόνο με το αντιγόνο A1, και η υποδιαίρεση αυτή δεν έχει μεγάλη κλινική σημασία για τις μεταγγίσεις. Το ίδιο ισχύει και για την ύπαρξη των ασθενέστερων αντιγόνων της ομάδας A και των σπάνιων της ομάδας B, που ανακαλύφθηκαν αργότερα^{2,6}.

Με την υποδιαίρεση της ομάδας A σε δύο υποομάδες, τα αλληλόμορφα γονίδια φτάνουν τα 4, οι δυνατοί γονοτυπικοί συνδυασμοί τους 10 (A1B, A2B, A1A1, A1A2, A2A2, A1O, A2O, BB, BO, OO) και οι φαινότυποι τους 6 (A1B, A2B, A1, A2, B, O)¹⁴.

Ο ρυθμός με τον οποίο εμφανίζονται τα διάφορα αλληλόμορφα γονίδια σε ένα πληθυσμό, ανά τον κόσμο^{16,17}, δεν είναι ακόμα γνωστός, εκτός από συγκεκριμένους πληθυσμούς, όπως στους Ιάπωνες, όπου η κατανομή των γονοτύπων ABO, συμπεριλαμβανομένης της συχνότητας εμφάνισης των αλληλόμορφων γονιδίων, καταγράφηκε από τον Yip και τους συνεργάτες του¹⁵ (πίνακας 2).

Πίνακας 2. Συχνότητες εμφάνισης των ομάδων αίματος σύμφωνα με το σύστημα ABO. Φαίνεται η διαφορά μεταξύ των πληθυσμών αλλά και των εθνοτήτων.				
Χώρα ή φυλή	O	A	B	AB
Αρμενία	31	50	13	6
Αυστρία	37	41	15	7
Αγγλία	47	42	9	3
Αυστραλία	49	38	10	3
Αυστραλία (Ιθαγενείς)	61	39	0	0
Βέλγιο	45	40	10	5
Βουλγαρία	32	44	15	8
Γαλλία	42	44	10	4
Γερμανία	41	43	11	5
Δανία	41	44	10	5
Εβραίοι (Γερμανία)	42	41	12	5
Εβραίοι (Πολωνία)	33	41	18	8
Ελβετία	40	50	7	3
Ελλάδα	45	38	13	5

Ελλάδα (Ατσιγγανοί)	<u>27</u>	<u>29</u>	<u>32</u>	<u>12</u>
Εσκιμώοι (Αλάσκα)	38	44	13	5
Εσκιμώοι (Γροιλανδία)	54	36	23	8
Ηνωμένο Βασίλειο	44	42	10	4
Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής (Μαύροι)	<u>49</u>	<u>27</u>	20	4
Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής (Λευκοί)	<u>45</u>	<u>40</u>	11	4
Ιαπωνία	30	38	22	10
Ιρλανδία	55	31	11	3
Ισλανδία	56	32	10	3
Ισπανία	38	47	10	5
Καναδάς	46	42	9	3
Κένυα (Κικούγιου)	<u>60</u>	19	20	<u>1</u>
Κίνα (Καντόν)	<u>46</u>	<u>23</u>	<u>25</u>	<u>6</u>
Κίνα (Πεκίνο)	<u>29</u>	<u>27</u>	<u>32</u>	<u>13</u>
Μάγιας	<u>98</u>	1	1	1
Ουγγαρία	<u>36</u>	<u>43</u>	<u>16</u>	<u>5</u>
Ουγγαρία (Ατσιγγανοί)	<u>29</u>	<u>27</u>	<u>35</u>	<u>10</u>
Πολωνία	37	38	17	8
Πορτογαλία	35	53	8	4
Ρωσία	33	36	23	8
Σερβία	38	42	16	5
Σουδάν	<u>62</u>	<u>16</u>	<u>21</u>	<u>0</u>
Σουηδία	38	44	13	6
Σκωτία	51	34	12	3
Τουρκία	43	34	18	6
Φιλανδία	31	44	17	8
Χαβάνη	<u>37</u>	<u>61</u>	2	<u>1</u>

2.2 ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ - ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ Α ΚΑΙ Β

Η γονιδιακή έκφραση των αντιγόνων Α και Β δεν περιορίζεται στα ερυθρά αιμοσφαίρια, αλλά στους περισσότερους ανθρώπινους ιστούς εκτός του οστίτη, του νευρικού και του κερατοειδή χιτώνα¹⁴, και είναι παρών στα επιθηλιακά και ενδοθηλιακά κύτταρα. Η έκφραση των αντιγόνων, μπορεί να υποστεί αλλαγές κατά την διάρκεια μόλυνσης και νοσημάτων που αυξάνουν τις απαιτήσεις σε ερυθρά αιμοσφαίρια, όπως στη θαλασσαιμία. Επιπλέον, τα αντιγόνα μπορεί να αλλάξουν σε κακοήθειες του αίματος και έτσι να χρησιμοποιηθούν ως καρκινικοί δείκτες σε οξεία λευχαιμία (acute myelogenous leukemia), σε μυελοϋπερπλαστικό νόσημα

(myeloproliferative disease) ή σε μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο (myelodysplastic syndrome).

2.3 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ Α ΚΑΙ Β

Οι λειτουργίες των αντιγόνων του συστήματος ABO δεν είναι γνωστές. Τα άτομα που στερούνται τα αντιγόνα Α και Β είναι υγιή, δημιουργώντας ερωτήματα για την σημαντικότητα της λειτουργίας των αντιγόνων τουλάχιστον στη σύγχρονη εποχή¹¹.

2.4 ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΑ ΑΝΤΙΓΟΝΑ Α ΚΑΙ Β

Καμία νόσος δεν είναι γνωστό, ότι προκαλείται από την έλλειψη έκφρασης των αντιγόνων Α και Β, μελέτες όμως αναφέρουν συσχέτιση της¹⁸:

- με τον καρκίνο του στομάχου να εμφανίζεται πιο συχνά στα άτομα ομάδας Α, και
- με τα γαστρικά και δωδεκαδακτυλικά έλκη να εμφανίζονται συχνότερα στα άτομα ομάδας Ο, με 20% περισσότερες πιθανότητες από τα άτομα της ομάδας Α¹⁹.

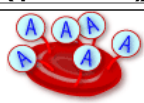
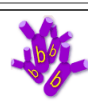


Από την άλλη πλευρά, υπάρχει σαφής συσχετισμός μεταξύ του φαινότυπου ABO και δύο πρωτεϊνών που περιλαμβάνονται στην πήξη του αίματος, του παράγοντα VII (factor VII - FVIII) και του παράγοντα Von Willebrand (vWF). Τα άτομα ομάδας αίματος Ο έχουν περίπου 25% λιγότερο τον παράγοντα VII και τον παράγοντα Von Willebrand στο πλάσμα τους²⁰. Είναι γνωστό ότι τα χαμηλά επίπεδα του παράγοντα VII και του Von Willebrand, είναι αιτία αιμορραγίας²¹, και μπορεί επίσης τα αυξημένα επίπεδα να συμβάλλουν περισσότερο στην πήξη του αίματος, αυξάνοντας έτσι τον κίνδυνο αρτηριακών (ισχαιμικών καρδιακών) και φλεβικών (θρομβοεμβολικών) επεισοδίων. Πράγματι, τα άτομα που δεν ανήκουν στην ομάδα Ο έχει αποδειχθεί, ότι διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο αγγειακής νόσου^{22,23,24}.

2.5 ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΙ ΕΝΑΝΤΙ ΤΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ Α ΚΑΙ Β

Υπό φυσιολογικές συνθήκες, οι άνθρωποι δεν διαθέτουν κληρονομικά αντισώματα έναντι των αντιγόνων Α και Β των ερυθρών αιμοσφαιρίων τους, όμως γεννιούνται με παρουσία αντι-Α και αντι-Β αντισωμάτων. Τα αντιγόνα Α και Β έχουν ανοσογονική χωροδιάταξη, από την οποία απορρέουν οι ιδιαιτερότητες των μορίων της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων, ενώ υπάρχουν και σε άλλες βιολογικές οντότητες, όπως στο κυτταρικό τοίχωμα των βακτηριδίων. Τα βακτήρια βρίσκονται στο περιβάλλον και φαίνεται ότι η παρουσία τους στην εντερική χλωρίδα, την σκόνη, στα τρόφιμα

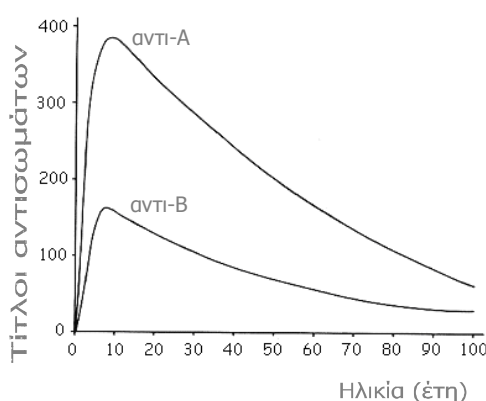
και αλλού, εξασφαλίζουν μια συνεχή έκθεση για όλους τους ανθρώπους σε αντιγόνα παρόμοια με το A και B (A-like and B-like antigens).

Άτομα με υγιές ανοσοποιητικό σύστημα, αντιδρούν στα αντιγόνα του περιβάλλοντος, δημιουργώντας αντισώματα, κυρίως IgG και IgM, σε αυτά τα οποία απουσιάζουν από την επιφάνεια των ερυθρών αιμοσφαιρίων τους. Έτσι, τα αντι-A παράγονται στον ορό ατόμων της ομάδας O και B και τα αντι-B παράγονται στον ορό του αίματος ατόμων των ομάδων O και A. Άτομα της ομάδας AB, καθώς έχουν και τα δύο αντιγόνα, δεν παράγουν κανένα αντίσωμα²⁵ (πίνακας 3).

Πίνακας 3. Ομάδα αίματος, αντιγόνα της επιφάνειας των ερυθρών αιμοσφαιρίων και αντισώματα στο αίμα.		
Ομάδα αίματος (γονότυπος)	Αντιγόνα στην επιφάνεια των ερυθρών αιμοσφαιρίων (φαινότυπος)	Αντισώματα στο αίμα (φαινότυπος)
Τύπος A (AA, AO)		
Τύπος B (BB, BO)		
Τύπος AB (AB)		κανένα
Τύπος O (OO)		

2.6 ΧΡΟΝΟΣ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΤΩΝ αντι-A ΚΑΙ αντι-B

Ο τίτλος των αντισωμάτων, συνεχίζει να αυξάνεται μέχρι την ηλικία των 5 έως 10 ετών και παραμένει αρκετά σταθερός στην ενήλικη ζωή, ενώ σε ηλικιωμένα άτομα τα επίπεδα τους μπορεί να είναι χαμηλότερα σε σχέση με νεαρούς ενήλικες² (σχήμα 2).



Σχήμα 2.

Μέσος όρος τίτλων των αντι-A σε αίμα απόμων ομάδας αίματος B ή O και των αντι-B ομάδας αίματος A ή O, σε διαφορετικές ηλικίες.

2.7 ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ αντι-A ΚΑΙ αντι-B

Τα αντισώματα ABO είναι σημαντικής κλινικής σημασίας, γιατί είναι φυσικά αντισώματα και με ισχυρές ανοσογονικές ιδιότητες.

• Αντιδράσεις μετάγγισης (Transfusion reaction):

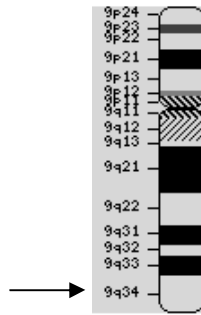
Τα αντι-A και αντι-B αντισώματα είναι πολύ ισχυρά και σε περίπτωση σύνδεσης με μεταγγιζόμενα ερυθρά αιμοσφαίρια προκαλείται έντονη, ενίοτε θανατηφόρο ενδοαγγειακή αιμόλυση^{26,27}.

• Αιμολυτική νόσος του νεογνού (Hemolytic Disease of the Newborn - HDN):

Η HDN, που προκαλείται από τα αντι-A και αντι-B, εμφανίζεται σχεδόν αποκλειστικά σε νεογνά της ομάδας αίματος A ή B, που γεννιούνται από μητέρες με ομάδας αίματος O. Αυτό συμβαίνει επειδή τα αντι-A και τα αντι-B, που σχηματίζονται στα άτομα ομάδας αίματος O, είναι συνήθως τύπου IgG (και επομένως διαπερνούν τον πλακούντα), ενώ τα αντι-A και το αντι-B, που σχηματίζονται στα άτομα ομάδας αίματος B και A, αντίστοιχα, είναι τύπου IgM²⁸. Σπάνια, έχουν αναφερθεί περιπτώσεις HDN σε νεογνά μητέρων ομάδας αίματος A²⁹ και B³⁰. Η HDN, συνήθως είναι ήπια, αλλά η αιμόλυση μπορεί να είναι απρόβλεπτη³¹. Αρχικά, η φυλή του νεογνού, θεωρήθηκε ως ένας παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη HDN³², αλλά στη συνέχεια διαπιστώθηκε ότι η αιμόλυση που χρειάστηκε αντιμετώπιση, δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των Καυκάσιων, των Ασιατικών, των Ισπανικών και των Έγχρωμων νεογνών³³.

2.8 ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΑΣΗ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ABO

Το γονίδιο ABO χαρτογραφήθηκε το 1995, στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 9^{34,35} (q34, εικόνα 2). Ο γονιδιακός τόπος, αποτελεί πάνω από 18kb του γενωμικού DNA και αποτελείται από 7 εξώνια (exons), των οποίων το μέγεθος κυμαίνεται από 26 έως 688 ζευγάρια βάσεων (base pairs / bp), με το μεγαλύτερο μέρος της αλληλουχίας κωδικοποίησης (coding sequence) να βρίσκεται στα γειτονικά εξώνια 6 και 7, και κυρίως στο εξώνιο 7³⁴.

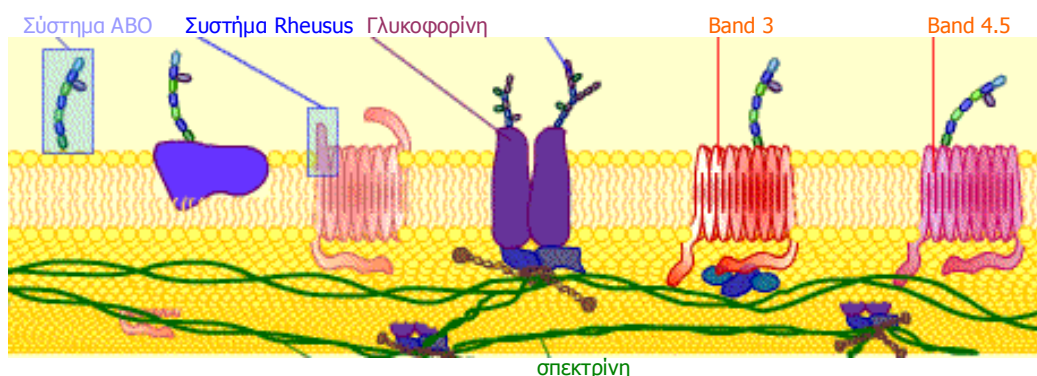


Εικόνα 2.
Χρωμόσωμα 9 (q34) όπου φαίνεται η θέση του γονιδίου ABO.

Το εξόνιο 6, περιέχει ένα έλλειμμα (deletion) που βρίσκεται στα περισσότερα αλληλόμορφα γονίδια O και οδηγεί σε απώλεια της ενζυμικής δραστηριότητας. Τα αλληλόμορφα γονίδια A και B, έχουν παρόμοια πρωτοταγή δομή, εκτός από αντικαταστάσεις 7 νουκλεοτιδίων, 4 από τα οποία μεταφράζουν διαφορετικά αμινοξέα (R176G, G235S, L266M, G268A) στο γονιδιακό προϊόν (RNA). Τα κατάλοιπα στις θέσεις 266 και 268, καθορίζουν σε αυτά τα αλληλόμορφα, την ειδικότητα των γλυκομεταφορασών που κωδικοποιούν^{36,37}.

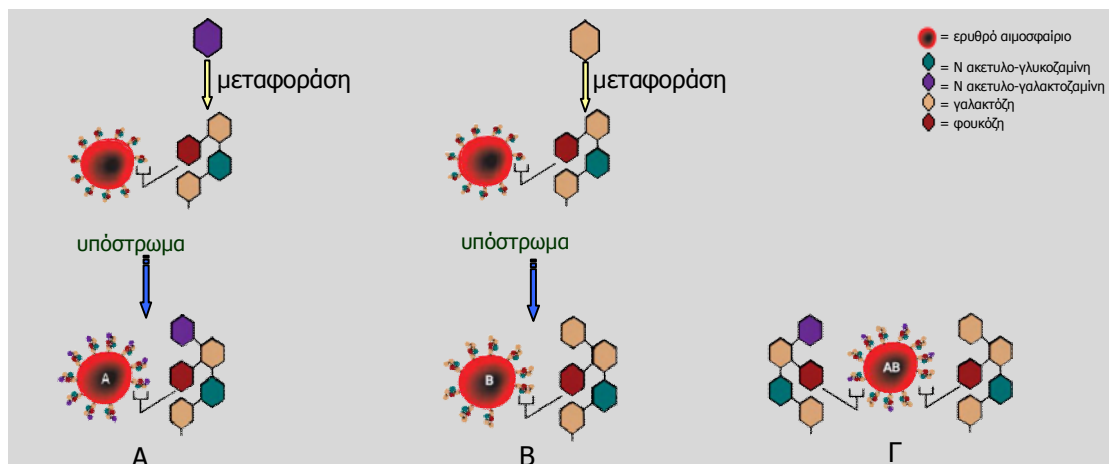
Πέραν των 4 κοινών αλληλόμορφων γονιδίων (A1, A2, B και O), έχουν αναγνωρισθεί και άλλα αλληλόμορφα γονίδια, όπως τα A3, Ax, Ae1 και τα B3 και Bx, τα οποία κωδικοποιούν μεταφοράδες με αλλαγές στην δράση ή/και στην ειδικότητα τους².

Ο χαρακτηρισμός των αντιγόνων A και B, ως γλυκοπρωτεϊνών, προέρχεται από το βασικό υλικό της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων (σχήμα 3), που αποτελείται από ένα πρωτεϊνικό σκελετό, ο οποίος είναι ο ίδιος και στα δύο, και αποτελείται από 50 περίπου αμινοξέα, στον οποίο προστίθενται μόρια μονοσακχαριτών, τα οποία μεταφέρονται από τις μεταφοράδες¹⁴.



Σχήμα 3.
Σχηματική απεικόνιση της μεμβράνης ερυθρού αιμοσφαιρίου. Φαίνονται οι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες (γλυκοφορίνη, Band 3, Band 4.5), οι οποίες αποτελούν το σημείο προσάραξης του μεμβρανικού σκελετού (που συγκροτείται από την σπεκτρίνη) και προσδίδει τη μορφή του ερυθρού αιμοσφαιρίου. Επίσης, φαίνονται δύο παραδείγματα μεμβρανικών αντιγόνων, του συστήματος ABO και του συστήματος Rh.

Το αλληλόμορφο γονίδιο A, είναι υπεύθυνο για την παραγωγή του ενζύμου $\alpha 1N$ -ακετυλο-D-γαλακτοζαμινομεταφοράση ($\alpha 1 \rightarrow 2$ Gal $\alpha 1 \rightarrow 3$ N-acetyl-D-galactosaminyltransferase ή histo-blood group A transferase), ενώ το αλληλόμορφο γονίδιο B, είναι υπεύθυνο για την παραγωγή του ενζύμου $\alpha 1D$ -γαλακτοζομεταφοράση (Fuc $\alpha 1 \rightarrow 2$ Gal $\alpha 1 \rightarrow 3$ galactosyltransferase ή histo-blood group B transferase) 38, 39, 40 (σχήμα 4).



Σχήμα 4.

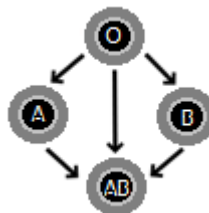
Τα αντιγόνα A και B αποτελούνται από αλυσίδες ολιγοσακχαριτών, οι οποίες είναι συνδεδεμένες με λιπίδια και πρωτεΐνες στη μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων.

Κάθε μία μεταφοράση μεταφέρει ένα ειδικό σάκχαρο, την N ακετυλο-γαλακτοζαμίνη για το αντιγόνο A (A) και την γαλακτόζη για το αντιγόνο B (B), ενώ και τα δύο σάκχαρα για το αντιγόνο AB (Γ). Αυτά τα σάκχαρα τοποθετούνται σε ένα προσυντιθέμενο υπόστρωμα ολιγοσακχαριτών.

2.9 ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ABO

Η ταυτοποίηση του συστήματος ABO, είναι απαραίτητη στις περιπτώσεις:

- αιμοδοσίας και μετάγγισης, καθώς πρέπει να καθοριστεί η ομάδα του δότη, γιατί είναι απειλητικό για τη ζωή του λήπτη η μετάγγιση με ασύμβατη ομάδα ABO (σχήμα 6).



Σχήμα 6.

Συμβατότητα συστήματος ABO.

- Το άτομο ομάδας αίματος AB μπορεί να λάβει αίμα από οποιαδήποτε ομάδα (προτιμότερο είναι η AB), αλλά μπορεί να δώσει αίμα μόνο σε ένα άλλο άτομο ομάδας AB.
- Το άτομο ομάδας αίματος A μπορεί να λάβει αίμα μόνο από τα άτομα των ομάδων A ή O (προτιμότερο είναι η A), και μπορεί να δώσει αίμα στα άτομα των ομάδων A ή AB.
- Το άτομο ομάδας αίματος B μπορεί να λάβει αίμα μόνο από τα άτομα των ομάδων B ή O (προτιμότερο είναι η B), και μπορεί να δώσει αίμα στα άτομα των ομάδων B ή AB.
- Το άτομο ομάδας αίματος O μπορεί να λάβει αίμα μόνο από άτομα της ομάδας O, και μπορεί να δώσει αίμα στα άτομα οποιασδήποτε ομάδας αίματος ABO (δηλ. A, B, O ή AB).

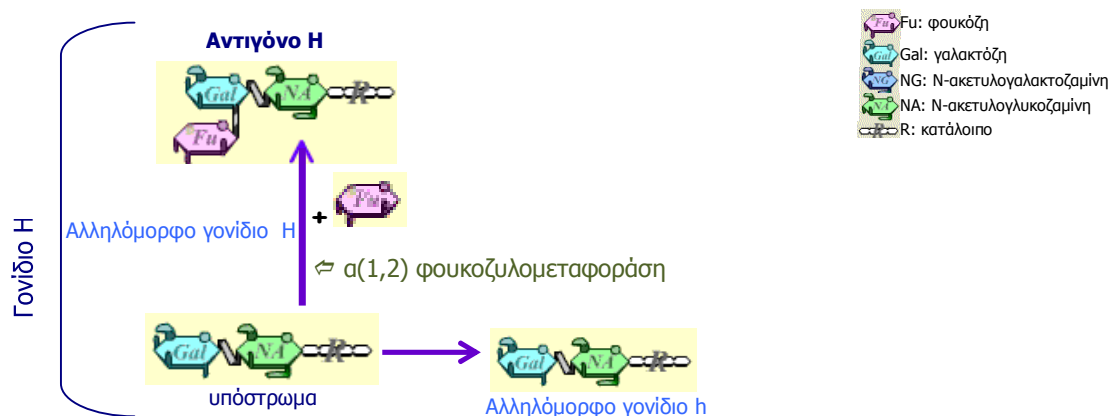
- μεταμόσχευσης, καθώς οι υποψήφιοι και οι λήπτες μεταμόσχευσης πρέπει να είναι συμβατοί, γιατί τα αντιγόνα ABO βρίσκονται και σε άλλους ιστούς
- εμβρύων, όταν υπάρχει υποψία ότι μπορεί νοσήσουν από HDN
- νεογνών (μερικές φορές), όταν δείχνουν σημεία HDN και πρέπει να καθοριστεί η ομάδα ABO μαζί με το σύστημα Rh και τα άλλα συστήματα ομάδων αίματος, και
- εξέτασης πατρότητας, δεδομένου ότι η κληρονομικότητα του συστήματος ομάδας αίματος ABO είναι πολύ συγκεκριμένη και αυτό χρησιμεύει ως μια από τις πρώτες μεθόδους καθορισμού της πιθανότητας πατρότητας⁴¹.

3. ΣΥΣΤΗΜΑ ΟΜΑΔΑΣ ΑΙΜΑΤΟΣ Hh

Το 1952, δημοσιεύθηκε μια εργασία με θέμα: "νέος χαρακτήρας ομάδας αίματος σχετικός με το σύστημα ABO" (a "new" blood group character related to the ABO blood system)⁴². Αυτός ο νέος χαρακτήρας, είναι το αντιγόνο **H**, το οποίο βρίσκεται ουσιαστικά σε όλα τα ερυθρά αιμοσφαίρια και αποτελεί τη δομική μονάδα για την παραγωγή των αντιγόνων του συστήματος ABO. Έτσι, από το αντιγόνο H, παράγεται το αντιγόνο A ή το B. Εάν ένα άτομο έχει ομάδα αίματος O, το αντιγόνο H παραμένει αμετάβλητο, με αποτέλεσμα να συναντάται πολύ συχνά, στον τύπο ομάδας αίματος O και λιγότερο στον τύπο AB¹¹.

Συγκεκριμένα η συχνότητα του φαινοτύπου H, σε άτομα ομάδας αίματος O, είναι 55% στους Μεξικανούς, 45% στους Καυκάσιους, 43% στους Ασιάτες και 49% στους Έγχρωμους, και είναι ίδια με τη συχνότητα της ομάδας αίματος O⁴³.

Η σύνθεση του αντιγόνου H, καθώς και των αντιγόνων A και B, όπως αναφέρθηκε καθορίζεται από ένζυμα, τις μεταφοράσες, που μεταφέρουν μονοσακχαρίτες. Τα αντιγόνα που προκύπτουν, είναι αλυσίδες ολιγοσακχαριτών, οι οποίες είναι συνδεδεμένες με λιπίδια και πρωτεΐνες στη μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Το αντιγόνο H παράγεται από μια συγκεκριμένη μεταφοράση, την α(1,2) φουκοζυλομεταφοράση (alpha(1,2) fucosyltransferase)^{44,45,46} (σχήμα 6).



Σχήμα 6.

Το αντιγόνο H παράγεται από την α(1,2) φουκοζυλομεταφοράση, η οποία μεταφέρει φουκόζη σε μια γαλακτόζη του προσχηματισμένου υποστρώματος ολιγοσακχαριτών.

3.1 ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ H

Το αντιγόνο H, εκφράζεται στους ίδιους ιστούς στους οποίους εκφράζονται και τα αντιγόνα A και B. Επιπλέον, τα άτομα που είναι "εκκριτικά" ("secretors") παράγουν την διαλυτή μορφή του αντιγόνου H, η οποία βρίσκεται στο σίελο

και όλα τα σωματικά υγρά, εκτός από το εγκεφαλονωτιαίο υγρό^{11,14}.

3.2 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ Η

Η λειτουργία του αντιγόνου Η, εκτός από τη λειτουργία σαν ενδιάμεσο υπόστρωμα στη σύνθεση των αντιγόνων του συστήματος ABO, δεν είναι γνωστή, αν και υπάρχουν αναφορές ότι σχετίζονται με την προσκόλληση των κυττάρων στο ενδοθήλιο⁴⁷.

3.3 ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ Η

Το αντιγόνο Η, είναι παρόν σε 99,9% των ερυθρών αιμοσφαιρίων σε όλους τους πληθυσμούς, ενώ η έλλειψη του είναι σπάνια. Η συχνότητα του είναι στην Ιαπωνία (Ταϊβάν) 0,0125%, στην Ινδία (Βομβάη) 0,01% και στην Ευρώπη 0,0001%⁴³.

3.4 ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΙ ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ Η

Το αντι-Η, είναι φυσικό αντίσωμα, είναι συνήθως IgM, παρά IgG και τα άτομα που στερούνται το αντιγόνο Η είναι υγιή¹¹.

3.5 ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ αντι-Η

Το αντι-Η, όπως και τα αντισώματα του συστήματος ABO, έχει ιδιαίτερη κλινική σημασία γιατί είναι φυσικό αντίσωμα με ιδιαίτερα ανοσογονικά χαρακτηριστικά.

• Αντιδράσεις μετάγγισης:

Σε περίπτωση που άτομα με αντι-Η μεταγγιστούν, με αίμα που περιέχει αντιγόνο Η (όπως η ομάδα αίματος O), κινδυνεύουν να υποστούν αιμολυτική αντίδραση μετά από μετάγγιση (Hemolytic Transfusion Reaction, HTR).

• Αιμολυτική νόσος του νεογνού:

Θεωρητικά, η παραγωγή του αντι-Η από την μητέρα, κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, θα μπορούσε να προκαλέσει HDN σε έμβρυο που δεν κληρονόμησε το φαινότυπο h/h. Στην πράξη, όμως, περιπτώσεις HDN προκαλούμενες κατά αυτόν τον τρόπο δεν έχουν περιγραφεί, πιθανόν λόγω της σπανιότητας του φαινοτύπου.

• Ενδοαγγειακή αιμόλυση (intravascular hemolysis):

Το αντι-H μπορεί να προκαλέσει ενδοαγγειακή αιμόλυση, ενεργοποιώντας το σύστημα του συμπληρώματος¹¹.

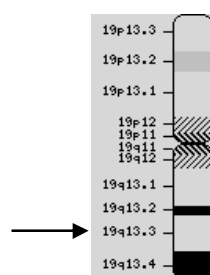
3.6 ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΑΣΗ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ Hh

Το γονίδιο H χαρτογραφήθηκε στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 19 (q.13.3, εικόνα 3)^{45,48,49}.

Ο γονιδιακός τόπος αποτελείται από δυο περιοχές, τη FUT1 και τη FUT2 που συνδέονται στενά, και βρίσκονται σε απόσταση 35kbp στην ίδια κατεύθυνση (Cent-FUT2-FUT1-Ter) και κωδικοποιούν δύο ένζυμα με όμοιο υπόστρωμα.

- Ο γονιδιακός τόπος H, περιέχει το γονίδιο FUT1, το οποίο εκφράζεται σε ερυθρά αιμοσφαίρια και κωδικοποιεί τη φουκοζυλομεταφοράση που καταλύει το τελικό βήμα στη σύνθεση του αντιγόνου και άρα κωδικοποιεί έμμεσα το αντιγόνο H. Θα πρέπει ένα τουλάχιστον αντίγραφο FUT1 να είναι λειτουργικό για να παραχθεί το αντιγόνο H στα ερυθρά αιμοσφαίρια, οπότε ο φαινότυπος θα είναι H/H ή H/h. Εάν και τα δύο αντίγραφα FUT1 είναι ανενεργά, τότε ο φαινότυπος θα είναι h/h.

- Ο γονιδιακός τόπος SE, περιέχει το γονίδιο FUT2, το οποίο εκφράζεται σε εκκριντικούς αδένες. Το FUT2 γονίδιο κωδικοποιεί έμμεσα τη διαλυτή μορφή του αντιγόνου H, το οποίο βρίσκεται στα σωματικά υγρά. Άτομα που είναι "εκκριντικά", δηλαδή με φαινότυπο Se/Se ή Se/se, έχουν τουλάχιστον ένα αντίγραφο του λειτουργικού ενζύμου και παράγουν την διαλυτή μορφή του αντιγόνου H. "Μη-εκκριντικά" άτομα, δηλαδή με φαινότυπο se/se, δεν παράγουν το διαλυτό αντιγόνο H^{14,45,50}.

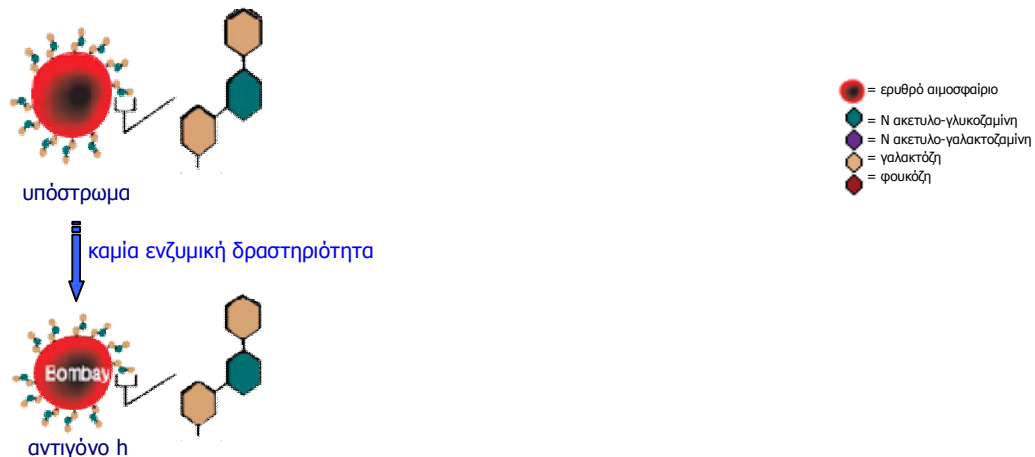


Εικόνα 3.

Χρωμόσωμα 19 (q.13.3) όπου φαίνεται η θέση του γονιδίου H.

4. ΣΥΣΤΗΜΑ ΟΜΑΔΑΣ ΑΙΜΑΤΟΣ Bombay

Ονομασμένη από την πόλη στην οποία ανακαλύφθηκε αρχικά, η ομάδα αίματος Bombay, γνωστή ως "Βομβάη φαινότυπος" (Bombay phenotype, h/h ή **OH**) περιλαμβάνει τα άτομα στα οποία λείπει το γονίδιο H και επομένως δεν παράγεται το αντιγόνο H, το οποίο αποτελεί την δομική μονάδα, με συνέπεια λόγω της απουσίας του, να μην μπορούν να παραχθούν τα αντιγόνα A και B¹¹ (σχήμα 7).



Σχήμα 7.

Στο φαινότυπο Βομβάη, λείπει το γονίδιο H και συνεπώς δεν μπορεί να παραχθεί το αντιγόνο H, καθώς και τα αντιγόνα A και B.

Στον κλασικό φαινότυπο Βομβάη, τα αλληλόμορφα γονίδια FUT1 και FUT2 δεν εκφράζουν τις αντίστοιχες φουκοζυλομεταφοράσες^{49,51}.

Σε άτομα με φαινότυπο παρα-Bombay (para-Bombay phenotype), το αλληλόμορφο γονίδιο FUT2 εκφράζεται, αλλά από το αλληλόμορφο γονίδιο FUT1 συνήθως, δεν παράγονται λειτουργικά ένζυμα.

Υπάρχουν δύο διαφορετικοί τύποι ατόμων με φαινότυπο παρα-Bombay:

- αυτοί από τους οποίους λείπουν τα αντιγόνα του συστήματος ABO από τα ερυθρά αιμοσφαίρια τους, αλλά τα αντιγόνα υπάρχουν στα σωματικά υγρά και
- αυτοί οι οποίοι έχουν μικρό αριθμό αντιγόνων του συστήματος ABO στα ερυθρά αιμοσφαίρια και σε άλλους υπάρχουν στα σωματικά υγρά και σε άλλους όχι.

Το πως καθορίζονται τα επίπεδα έκφρασης του αντιγόνου H στα ερυθρά αιμοσφαίρια ατόμων με φαινότυπο παρα-Bombay δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί. Υπάρχουν, όμως έρευνες που δείχνουν ότι το αλληλόμορφο γονίδιο FUT1, μπορεί να παράγει μερικώς λειτουργικά ένζυμα, με αποτέλεσμα να υπάρχει ασθενής έκφραση του H στα ερυθρά αιμοσφαίρια, ενώ η απενεργοποίηση του FUT2,

δεν επηρεάζει τα αντιγόνα που υπάρχουν στα ερυθρά αιμοσφαίρια και τα άτομα αυτά είναι H(+)⁵¹.

Στους Καυκάσιους, ο φαινότυπος Βομβάη μπορεί να προκληθεί από διάφορες μεταλλάξεις (mutations)^{52,53}. Επιπλέον, διάφορες μεταλλάξεις έχουν αναφερθεί και για τον φαινότυπο παρα-Βομβάη^{44,46,54}.

Ο φαινότυπος Βομβάη και ο φαινότυπος παρα-Βομβάη, είναι σχετικά σπάνιοι. Στην Ινδία, η συχνότητα και των δύο φαινοτύπων είναι 0,01%, ενώ στην Ταϊβάν 0,0125% και στην Ευρώπη 0,0001%⁴³.

Επιπλέον, ένας σχετικά μεγάλος αριθμός ατόμων με έλλειψη του αντιγόνου H (περίπου 0,1%) βρέθηκε σε ένα μικρό νησί της Γαλλίας 800 χιλιόμετρα ανατολικά της Μαδαγασκάρης, στον Ινδικό ωκεανό, στο νησί Reunion^{55,56}. Βρέθηκαν δύο ξεχωριστοί φαινότυποι, ο κλασσικός φαινότυπος Bombay μεταξύ των μεταναστών της οικογένειας των Ινδιάνων Tamoul, και ένας νέος φαινότυπος, με μερική έλλειψη του αντιγόνου H, ο οποίος ονομάστηκε φαινότυπος "Reunion". Οι δύο φαινότυποι ήταν αποτέλεσμα προϊόντων ή έλλειψης προϊόντων, των δύο διαφορετικών αλληλόμορφων των γονιδίων FUT1 και FUT2^{55,57}.

Επειδή τα άτομα, με φαινότυπο Βομβάη και φαινότυπο παρα-Βομβάη, παράγουν τα αντι-H, αντι-A, και αντι-B, μπορούν να μεταγγισθούν μόνο με ερυθρά αιμοσφαίρια στα οποία λείπουν τα αντιγόνα H, A, και B δηλαδή, μπορούν να λάβουν μόνο αίμα από ένα άλλο άτομο με φαινότυπο Βομβάη, και πιθανόν λόγω της σπανιότητας αυτού του τύπου αίματος, μόνο από συγγενή.

4.1 ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ Bombay

Ο συσχετισμός με νόσο δεν είναι ξεκαθαρισμένος, εκτός από τις αντιδράσεις μετάγγισης ατόμων με Bombay και παρα-Bombay φαινότυπο και υπεροξείας αγγειακής απόρριψης μεταμοσχευμένων οργάνων σε Bombay και παρα-Bombay δέκτες.

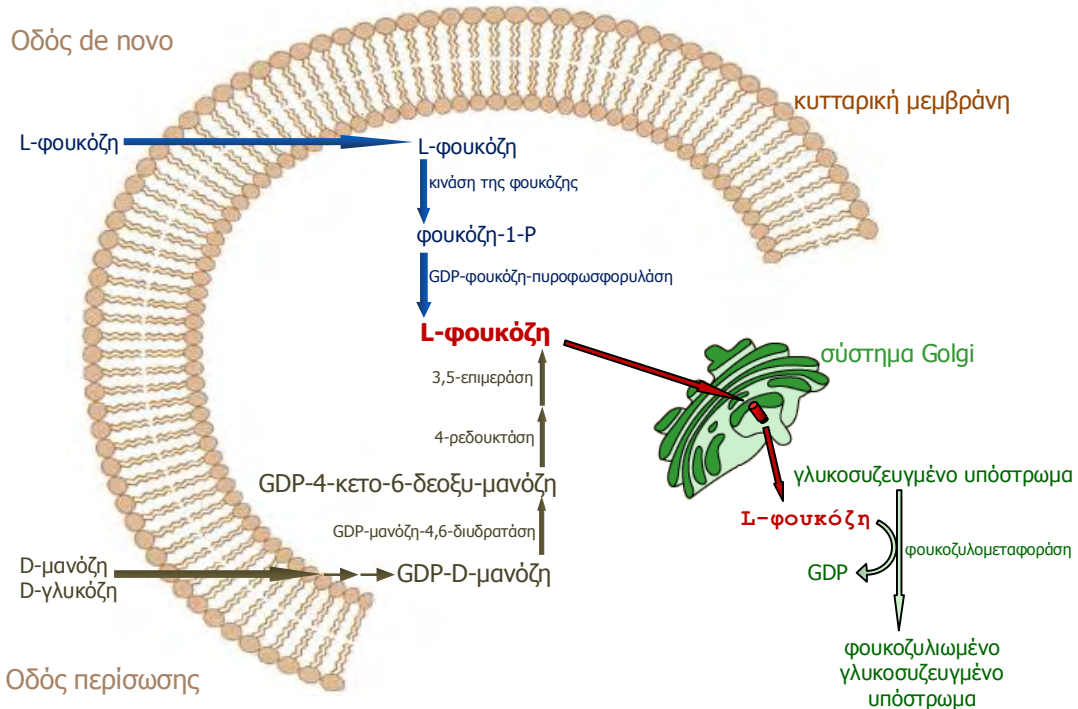
Το 1992, ο Etzioni και οι συνεργάτες του ανακάλυψαν δύο παιδιά με ανεπάρκεια προσκόλλησης λευκοκυττάρων τύπου II (Leukocyte Adhesion Deficiency type II / LAD II), οι οποίοι είχαν φαινότυπο "Bombay-like" και φαινότυπο ABO "μη-εκκριτικό" στο σάλιο τους. Το περιστατικό θεωρήθηκε ως συγγενής νόσος (carbohydrate - deficient glycoprotein syndrome / CDG II) και χαρακτηρίζεται από διανοητική καθυστέρηση και σοβαρές επαναλαμβανόμενες λοιμώξεις⁵⁸ (εικόνα 4).



Εικόνα 4.

Κλινικός φαινότυπος, σε ηλικία 26 μηνών. Φαίνονται η ευρεία καθίζηση της μύτης και ο στραβισμός. Η σίτιση με γαστρικό σωλήνα είναι απαραίτητη σε αυτούς τους ασθενείς.

Στα άτομα αυτά, λείπουν όλα τα φουκοζυλιωμένα αντιγόνα από όλους τους ιστούς, αλλά έχουν φυσιολογικά γονίδια φουκοζυλομεταφοράσης⁵⁹. Η κατάσταση προκαλείται λόγω αδυναμίας εισαγωγής της GDP-φουκόζης στο σύστημα Golgi (σχήμα 8).



Σχήμα 8.

Η οδός διάσωσης και η οδός de novo σύνθεσης GDP-φουκόζης. Η GDP-φουκόζη μπορεί είτε να συντεθεί από τη φουκόζη (οδός περίσωσης / salvage pathway), είτε από τη GDP-μαννόζη (οδός de novo (Λατ. = εκ νέου)). Η GDP-φουκόζη, που μεταβολίζεται από τις φουκοζυλομεταφορές, πρέπει να μεταφερθεί στο σύστημα Golgi από το κυτταρόπλασμα.

Πρόσληψη φουκόζης από του στόματος, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την φουκοζυλίωση γλυκοπρωτεϊνών και μπορεί να βελτιώσει την κλινική εικόνα^{60, 61, 62}.

5. ΣΥΣΤΗΜΑ ΟΜΑΔΑΣ ΑΙΜΑΤΟΣ Rhesus

Ένα εξίσου σημαντικό αντιγονικό σύστημα των ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι το σύστημα Ρέζους (Rhesus, **Rh**). Ο Philip Levine και ο Rufus Stetson, το 1939, περιγράψανε το σύστημα έπειτα από ένα δυσάρεστο περιστατικό όταν στο νοσοκομείο Bellevue (Νέα Υόρκη, ΗΠΑ), μια γυναίκα γέννησε μη ζων έμβρυο και χρειάστηκε να μεταγγιστεί⁶³. Για την μετάγγιση χρησιμοποιήθηκε αίμα του συζύγου της, συμβατό ως προς το σύστημα ABO, αλλά μέσα σε δέκα λεπτά άρχισαν συμπτώματα, με πιο σοβαρό την αιμορραγία, και αργότερα βρέθηκε ότι ο ορός του αίματος της περιείχε αντισώματα που συγκολλούσαν τα ερυθρά αιμοσφαίρια του συζύγου της. Τότε συσχετίστηκαν ο θάνατος της μητέρας, του εμβρύου και η αντίδραση μετά από μετάγγιση. Βρέθηκε επίσης, ότι κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, η μητέρα είχε εκτεθεί σε αντιγόνα πατρικής προέλευσης, από εμβρυϊκά ερυθρά αιμοσφαίρια, και το ανοσοποιητικό σύστημα της στράφηκε σε αυτό το αντιγόνο, ενώ η καταστροφή των εμβρυϊκών ερυθρών αιμοσφαιρίων οδήγησε στον θάνατο του εμβρύου. Η μητέρα εκτέθηκε στα ίδια πατρικά αντιγόνα, μετά από τη μετάγγιση του αίματος του συζύγου της και το ανοσοποιητικό σύστημα της αντέδρασε, με τα μεταγγισμένα ερυθρά αιμοσφαίρια, προκαλώντας αιμολυτική αντίδραση μετά από μετάγγιση.

Σε περαιτέρω ανάλυση, το αίμα της γυναίκας συγκολλήθηκε με 80% των συμβατών σύμφωνα με το ABO σύστημα, δοτών αίματος^{63,64}. Παρόμοια αντίδραση παρατηρήθηκε και πειραματικά, όταν ενίοντας ερυθρά αιμοσφαίρια πιθήκου σε κουνέλι, ο ορός του κουνελιού συγκόλλησε τα ερυθρά αιμοσφαίρια του πιθήκου καθώς επίσης και το 85% ανθρώπινων ερυθρών αιμοσφαιρίων⁶⁵.

Επειδή στις μελέτες αυτές χρησιμοποιήθηκαν, ερυθρά αιμοσφαίρια από πιθήκους της οικογένειας *Macacus Rhesus*, ονόμασαν το αντίσωμα Rhesus (**αντι-Rh**). Έτσι, τα άτομα των οποίων τα ερυθρά αιμοσφαίρια αντιδρούσαν με το αντίσωμα τα ονόμασαν Rhesus θετικά (**Rh(+)**) και τα υπόλοιπα Rhesus αρνητικά (**Rh(-)**)⁶⁶.

Το ανθρώπινο αντι-Rh ανακαλύφθηκε το 1941 και αντιδρούσε με τον ίδιο τρόπο με το αντι-Rh του κουνελιού^{67,68}. Παρόλο που το ανθρώπινο αντίσωμα και το αντίσωμα του κουνελιού αντιδρούσαν με τον ίδιο τρόπο, ο Philip Levine και οι συνεργάτες του⁶⁹ αποδείξανε ότι δεν αντιδρούσαν με το ίδιο αντιγόνο. Στην μελέτη αυτή, οι μελετητές μετονόμασαν το ανθρώπινο αντι-Rh, σε **αντι-D**.

Το ότι το ανθρώπινο αντι-D διέφερε με αυτό του κουνελιού, το αποδείκνυαν και τα πειραματικά αποτελέσματα των Roy Fisk και Alvin Foord, καθώς τα Rh(+) και τα Rh(-) ερυθρά αιμοσφαίρια

(όπως προσδιοριζότανε από το ανθρώπινο αντι-D) από όλα τα νεογνά που χρησιμοποιήθηκαν στην μελέτη τους, ήταν θετικά όταν προσδιοριζότανε με το αντι-Rh του κουνελιού⁷⁰.

Μια επιπλέον ανακάλυψη των Karl Landsteiner και Alexander Weiner, ήταν ότι τα ερυθρά αιμοσφαίρια του 70% των Rh(-) ατόμων, συγκολλούνταν με ορό αίματος που περιείχε αντι-Rh⁷¹. Περαιτέρω, ο Philip Levine ανακάλυψε ένα ακόμη αντίσωμα που συγκολλούσε όλα τα Rh(-) δείγματα αίματος καθώς και ορισμένα από τα Rh(+)⁷². Αυτά τα αποτελέσματα οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι υπάρχουν και υποομάδες των Rh(+) ατόμων, που περιπλέκουν την κατηγοριοποίηση του συστήματος Rh.

Από τις πρώτες ενδείξεις τις πολυπλοκότητας του συστήματος Rh και μέχρι πρόσφατα, έχουν βρεθεί περισσότερα από 50 αντιγόνα του γονιδίου RHD και του RHCE (πίνακας 4), ανεξάρτητα το ένα από το άλλο, που συνθέτουν αυτό το πολυμορφικό σύστημα⁴³.

Πίνακας 4.			
Αντιγόνα του συστήματος ομάδας αίματος Rh.			
Αριθμός αντιγόνου	Σύμβολο αντιγόνου	Μοριακή βάση (πρωτεΐνης)	Μοριακή βάση
1	D	RhD εξωπλευρίοι βρόγχοι 3, 4 και 6	RHD εξώνια 4, 5 και 7
2	C	RhD-like βρόγχος 2 στη RHCE με Cys 16	RHD εξώνιο 2 στη RHCE
3	E	Pro226 στο βρόγχο 4	226Pro στο εξώνιο 5
4	c	Pro103 στο βρόγχο 2	103Pro στο εξώνιο 2
5	e	Ala226 στη RhCE βρόγχος 4	226Ala στη RHCE εξώνιο 5
6	f	Pro103 στο βρόγχο 2 και Ala226 στο βρόγχο 4	103Pro στο εξώνιο 2 και 226Ala στο εξώνιο 5
7	Ce	RhD-like βρόγχος 2 στη RhCE και Ala226 στο βρόγχο 4 και Leu245 (διαμεμβρανικά)	RHD εξώνιο 2 και 226Ala, 245Leu στο εξώνιο 5
8	C ^W	Arg41 στο βρόγχο 1	41Arg στο εξώνιο 1
9	C ^X	Thr36 στο βρόγχο 1	36Thr στο εξώνιο 1
10	V	Val245 και Gly336 (διαμεμβρανική περιοχή)	245Val στο εξώνιο 5 και 336Gly στο εξώνιο 7
11	E ^W		
12	G	Ser103 στο βρόγχο 2	103Ser στο εξώνιο 2 (πιθανόν και στη RHD και στη RHCE)
17	Hr ₀	RhCE εξωπλευρίοι βρόγχοι 3, 4 και 6	RHCE εξώνια 4, 5 και 7
18	Hr	Met238 στη RhCE βρόγχος 4	238Met στη RHCE εξώνιο 5
19	hr ^S	Ala226 και Met238 στη RhCE βρόγχος 4	226Ala και 238Met στη RHCE εξώνιο 5
20	VS	Val45 (διαμεμβρανική περιοχή;)	245Val στο εξώνιο 5
21	C ^G	Ser103 στη RhCE βρόγχος 2	103Ser στη RHCE εξώνιο 2
22	CE	Ser103 στο βρόγχο 2 και Pro226 στο βρόγχο 4	103Ser στο εξώνιο 2 και 226Pro στο εξώνιο 5 (RHCE)
23	D ^W	RhCE βρόγχος 4 (Gln233) και RhD βρόγχοι 3 και 6	RHCE εξώνιο 5 και RHD εξώνια 4 και 7
26	c-like	Gly96 και Pro103 στη RhCE βρόγχος 2	96Gly και 103Pro στη RHCE εξώνιο 2
27	cE	Pro103 στο βρόγχο 2 και Pro226 στο βρόγχο 4	103Pro στο εξώνιο 2 και 226 Pro στο εξώνιο 5
28	hr ^H		
29	Total RH	Οποιαδήποτε πρωτεΐνη Rh	Οποιαδήποτε έκφραση του γονιδίου RH
30	Go ^a	Από το D ^{Iva}	Από το D ^{Iva}
31	hr ^B		
32	Rh32	RhD βρόγχος 3 μαζί με RhCE βρόγχοι 4 και 6	RHD εξώνιο 4 μαζί με RHCE εξώνια 5 και 7
33	Har	Πιθανόν RhD βρόγχος 4 μαζί με RhCE βρόγχοι 3 και 6	RHD εξώνιο 5 μαζί με RHCE εξώνια 4 και 7
34	Hr ^B	Cys336 στη RhDE	336Cys στη RHDE
35	1114		

36	Be ^a		
37	Evans	RhD βρόγχοι 3 και 4 με RhCE βρόγχος 6	RHD εξώνια 4 και 5 μαζί με RHCE εξώνιο 7
39	C-like		
40	Tar	Pro110 στη RhDE βρόγχος 2	110Pro στη RHDE εξώνιο 2
41	Ce-like	RhD-like βρόγχος 2 στη RhCE και 226Ala στο βρόγχο 4 και φυσιολογικό βρόγχο 1 (Gln41)	RHD εξώνιο 2, 226Ala στο εξώνιο 5, φυσιολογικά εξώνιο 1
42	Ce ^S	Από το dCce ^S	
43	Crawford	Gln233 στο βρόγχο 4 στο αλληλίου VS-like	233Gln στο εξώνιο 5 του αλληλίου VS-like
44	Nou		
45	Riv	Από το D ^{IVa(C)}	
46	Sec	RhCE βρόγχος 3	RHCE εξώνιο 4
47	Dav	Πιθανόν RhCE βρόγχος 6	RHCE εξώνιο 7
48	JAL		
49	STEM		
50	FPTT	RhCE βρόγχος 3 μαζί με RhD βρόγχος 4	RHCE εξώνιο 4 μαζί με RHD εξώνιο 5
51	MAR	Φυσιολογική RhCE βρόγχος 1 (Ala37 και Gln41)	Φυσιολογική RHCE εξώνιο 1 (37Ala και 41Gln)
52	BARC	RhCE βρόγχοι 3 και 4 (με Ala226) μαζί με RHD βρόγχος 6	RHCE εξώνιο 4 και 5 (με 226Ala) μαζί με RHD εξώνιο 7
53	JAHK	RhD βρόγχος 2 στη RhCE χωρίς Cys16	RHD εξώνιο 2 στη RhCE χωρίς 16Cys
54	DAK	Από το D ^{IIIa} , DOL, και RN	
55	LOCR		

5.1 ΟΡΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ Rh

Η ορολογία του συστήματος Rh, διαφέρει μεταξύ των αντιγόνων, των γονιδίων και των πρωτεϊνών.

- Τα **αντιγόνα** αναφέρονται με τα γράμματα D, C, c, E, e και χωρίζονται κατά ζεύγη Dd, Cc, Ee. Το καθένα από αυτά τα αντιγόνα εμφανίζει διάφορες ποικιλίες, όπως C^w, C^x, D^u, E^w, και άλλα.

- Τα **γονίδια** ορίζονται με κεφαλαία γράμματα και συμπεριλαμβάνουν τα RHD, RHCE και RHAG των ερυθρών αιμοσφαιρίων, καθώς και τα ομόλογα τους, RHBG και RHCG που εκφράζονται σε άλλους ιστούς.

- Οι **πρωτεΐνες** δηλώνονται ως RhD, PhCE (ή ανάλογα με τα εξειδικευμένα αντιγόνα που φέρουν ως Rhce και RhCe ή RhcE) και περιλαμβάνουν τη Rh-συνδεδεμένη γλυκοπρωτεΐνη (Rh-associated glycoprotein / RhAG) και τις γλυκοπρωτεΐνες B (B Glycoprotein / RhBG) και C (C Glycoprotein / RhCG)^{73,74}.

5.2 ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΙ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ Rh

Ο γονιδιακός τύπος του συστήματος Rh, περιέχει δύο διαδοχικά γονίδια⁷⁵:

- το RHCE που κωδικοποιεί πρωτεΐνες για τα αντιγόνα **C** (ή Rh2), **c** (ή Rh3), **E** (ή Rh4) και **e** (ή Rh5), και

- το RHD που κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη για το αντιγόνο **D** (ή Rh1).

Η κατανομή του αντιγόνου D, διαφέρει σε μεγάλο βαθμό μεταξύ των εθνικοτήτων. Περίπου, 82-88% των Ευρωπαίων και Λευκών της Βόρειας Αμερικής, φέρουν το αντιγόνο D, το 95% των

Αφρικανών⁷⁶, ενώ είναι ένα υψηλής συχνότητας αντιγόνο (99,6-99,9%) στους Ασιάτες⁷⁷ (πίνακας 5). Η ακολουθία των αλληλόμορφων γονιδίων στο γονίδιο, είναι DCE και όχι CDE. Ο Ronald Fisher διευκρίνισε ότι ο επίτοπος C/c βρίσκεται μεταξύ των επιτόπων D/d και E/e⁷⁸.

Πίνακας 5. Συχνότητες των αντιγόνων Rh.			
Rh αντιγόνα	Καυκάσιοι %	Μαύροι Αφρικανοί %	Ασιάτες %
D	85	92	99
C	68	27	93
E	29	22	39
c	80	96	47
e	98	98	96

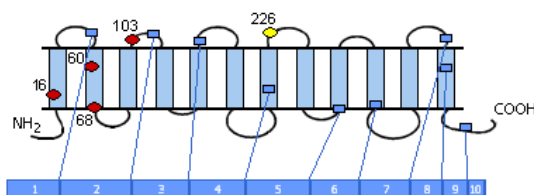
Οι πολυμορφισμοί του συστήματος Rh προκαλούνται με διαφορετικούς γενετικούς μηχανισμούς.

- Ο πολυμορφισμός C/c, οφείλεται σε 6 μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς (Single Nucleotide Polymorphisms / SNPs) που προκαλούν 4 αντικαταστάσεις αμινοξέων (Cys16Trp, Ile60Leu, Ser68Asn, Ser103Pro), μια από τις οποίες, η Ser103Pro, καθορίζει την αντιγονικότητα C ή c^{79,80}.

- Ο πολυμορφισμός E/e, προκύπτει από ένα SNP, τον 676G→C, που προκαλεί μία αντικατάσταση αμινοξέος (Pro226Ala).

Το αντιγόνο E, έχει προλίνη στη θέση 226, ενώ αυτό που έχει αλανίνη στην ίδια θέση είναι το αντιγόνο e⁸¹ (σχήμα 9).

Εξωκυττάρια πλευρά



Κυτταροπλασματική πλευρά

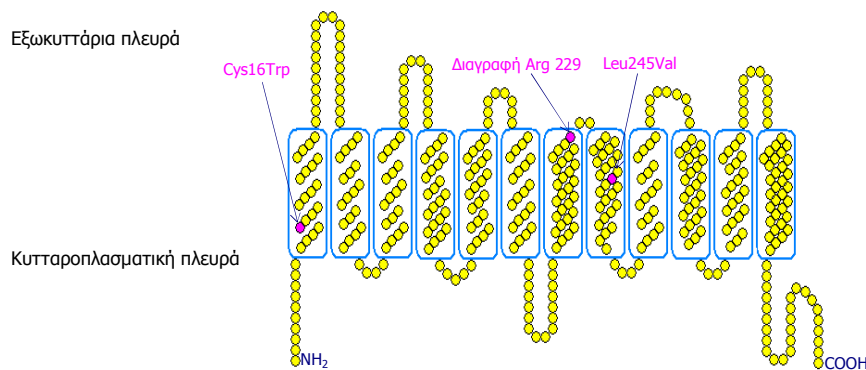
Σχήμα 9.

Σχηματική απεικόνιση του γονιδίου RHCE όπου φαίνονται οι αντικαταστάσεις των αμινοξέων που προκαλούν τους πολυμορφισμούς C/c με κόκκινο (Cys16Trp, Ile60Leu, Ser68Asn, Ser103Pro) και E/e με κίτρινο (Pro226Ala).

Η περιοχή της πρωτεΐνης RhCE που κωδικοποιείται από κάθε εξώνιο απεικονίζεται από τα αριθμημένα γαλάζια τετράγωνα, τα οποία αντιπροσωπεύουν την αρχή και το τέλος κάθε εξωνίου.

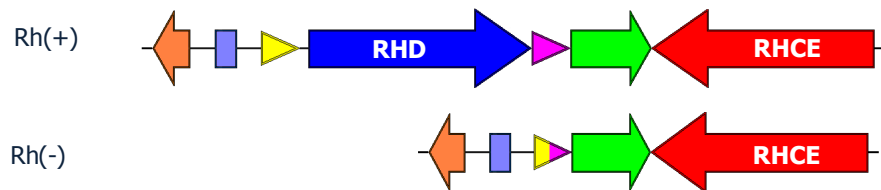
Μια μόνο αντικατάσταση νουκλεοτιδίου, όπως η Pro226Ala, είναι αρκετή για την έκφραση μεγάλης αντιγονικής διαφοράς. Διάφορες παραλλαγές του αντιγόνου e έχουν περιγραφεί⁸², και έτσι η παρουσία βαλίνης αντί λευκίνης στο θέση 245 (Leu245Val)^{83,84}, μια διαγραφή αργινίνης στη θέση 229 (Arg 229)⁸⁵ ή η παρουσία κυστεΐνης αντί τρυπτοφάνης στη θέση 16

(Cys16Trp)⁸⁶, έχουν επιπτώσεις στην έκφραση του αντιγόνου e⁸⁷ (σχήμα 10).



Σχήμα 10.
Παραλλαγές του αντιγόνου e στο γονίδιο RHCE.

- Ο πολυμορφισμός D/d, συνήθως προκύπτει από τη διαγραφή ολόκληρου του γονιδίου (gene deletion) RHD, μια διαγραφή που προήλθε κατά τη διάρκεια της εξέλιξης των ανθρωποειδών^{88,89} (σχήμα 11).



Σχήμα 11.
Σχηματική απεικόνιση της διαγραφής ολόκληρου του γονιδίου RHD (φαινότυπος RhD(-)).

Τα ζευγάρια των αντιγόνων C/c και E/e δεν είναι αντιθετικά, και οι 4 πιθανοί συνδυασμοί εμφανίζονται με διαφορετικές συχνότητες (στους Ευρωπαίους: Ce > ce > cE > CE) και κληρονομούνται ως απλότυποι⁹⁰.

Τα γονίδια RHCE και RHD, κωδικοποιούν 8 απλοτύπους τους: Dce, dce, DCe, dCe, DcE, dcE, DCE, και dCE⁹¹ (πίνακας 6), οι οποίοι διαφέρουν μεταξύ διαφορετικών πληθυσμών, ενώ η έκφραση του αντιγόνου D ποικίλει σημαντικά στα RhD(+) άτομα, καθώς εξαρτάται από την παρουσία των άλλων αντιγόνων Rh. Έτσι η έκφραση ανάλογα με τον φαινότυπο μειώνεται ως εξής⁶⁶: DcE/DcE > DCe/DcE > DCe/DCe > DcE/dce > DCe/dce.

Πίνακας 6.

Πιθανοί διαφορετικοί γονότυποι.

Κάθε γονοτυπικός συνδυασμός με DD ή Dd ταξινομείται ως Rh(+) (θετικός φαινότυπος, μαύρο), ενώ κάθε γονοτυπικός συνδυασμός με dd ταξινομείται ως Rh(-) (αρνητικός φαινότυπος, γκρι).

Γαμέτες	DCE	DCE	dCE	dCe	DcE	Dce	dcE	dce
DCE	DCE/DCE	DCE/DCE	DCE/dCE	DCE/dCe	DCE/DcE	DCE/Dce	DCE/dcE	DCE/dce
DCE	DCE/DCE	DCE/DCE	DCE/dCE	DCE/dCe	DCE/DcE	DCE/Dce	DCE/dcE	DCE/dce
dCE	dCE/DCE	dCE/DCE	dCE/dCE	dCE/dCe	dCE/DcE	dCE/Dce	dCE/dcE	dCE/dce
dCe	dCe/DCE	dCe/DCE	dCe/dCE	dCe/dCe	dCe/DcE	dCe/Dce	dCe/dcE	dCe/dce
DcE	DcE/DCE	DcE/DCE	DcE/dCE	DcE/dCe	DcE/DcE	DcE/Dce	DcE/dcE	DcE/dce
Dce	Dce/DCE	Dce/DCE	Dce/dCE	Dce/dCe	Dce/DcE	Dce/Dce	Dce/dcE	Dce/dce
dcE	dcE/DCE	dcE/DCE	dcE/dCE	dcE/dCe	dcE/DcE	dcE/Dce	dcE/dcE	dcE/dce
dce	dce/DCE	dce/DCE	dce/dCE	dce/dCe	dce/DcE	dce/Dce	dce/dcE	dce/dce

Ο πιο συχνός απλότυπος στους Καυκασίους (42%), στους Ασιάτες (70%) και τους αυτόχθονες Αμερικανούς (44%) είναι ο DCE, ενώ στους Έγχρωμους είναι λίγο πιο συχνός, ο απλότυπος Dce (44%)^{11,43}.

Οι διαφορετικοί φαινότυποι Rh, προκύπτουν μέσω τουλάχιστον 4 γνωστών μηχανισμών:

1. ανακατανομές (rearrangements) και των δύο γονιδίων, του RHCE ή/και του RHD (πίνακας 7),
2. σημειακές μεταλλάξεις (point mutations) στο γονίδιο, προκαλώντας την αντικατάσταση αμινοξέος, με αποτέλεσμα την απώλεια ορισμένων επιτόπων ή/και την έκφραση ενός αντιγόνου χαμηλής συχνότητας (low-incidence antigen),
3. μεταλλάξεις χωρίς νόημα (nonsense mutations), και
4. διαγραφή νουκλεοτιδίων (deletion of nucleotides), που προκαλεί μετατόπιση του πλαισίου ανάγνωσης (reading frame) και πρόωρο κωδικόνιο τερματισμού (stop codon)^{73,92}.

Πίνακας 7.

Ανακατανομές του απλοτύπου Rh.

Φαίνεται η δομή του γεωμετρικού τόπου RH, που καθορίζει τους διάφορους φαινότυπους RhD(-), καθώς και οι σπάνιοι φαινότυποι διαγραφής αντιγόνων.

Κάθε γονίδιο RH αποτελείται από 10 εξώνια (τετράγωνα), κόκκινο = εξώνια του γονιδίου RHCE, μπλε = εξώνια του γονιδίου RHD, μπλε-άσπρο = σιωπηλά αλληλόμορφα γονίδια RHD (όπως το RHDQ41X) και βέλη = θέσεις των ενθέσεων ή διαγραφών του DNA που προκαλούν ή είναι ενδεικτικές των φαινοτύπων RhD(-).

	RHCE	RHD
RHD(+)		
DCW-(AM)		
DCW-(Glo)		
D-(LM)		
D-(Gou)		
D--(SH)		
D--(JD)		
Evans+D** (AT)		
Evans+D** (Dav)		
Evans+D** (JD)		
Dc-(Bol)		
Dc-(LZ)		
RHD(-)		
Ce		
Ce		
Ce		
r ^{mG} (SF)		
(Ce) Ce		
(C)ce ^s V ^S +V ^{rS}		
Amorph Rh _{null} (BK/DR)		
Amorph Rh _{null} (DAA)		
CML		

Στους Αφρικανικούς πληθυσμούς, υπάρχουν 3 γενετικοί μηχανισμοί που είναι υπεύθυνοι για τον φαινότυπο RhD(-):

1. διαγραφή του γονιδίου RHD,

2. παρουσία ενός ψευδογονιδίου RHD, του RHDψ⁹³, με προσθήκη 37bp, στο γονίδιο RHD και ενός ή δύο κωδικόνιων τερματισμού, και

3. ένα υβριδικό γονίδιο, το RHD-CE-Ds⁹⁴, που κωδικοποιεί ένα αποκλίνον (aberrant) αντιγόνο C, αλλά δεν κωδικοποιεί το αντιγόνο D (πίνακας 8).

Πίνακας 8. Φαινότυπος RHD(+) και τρεις φαινότυποι RhD(-) σε Αφρικανικούς πληθυσμούς.		
RHCE	RHD	Φαινότυπος
		RhD(+)
		RhD(-), RhDψ
		RhD(-), (C)ce ^s
		RhD(-), διαγραφή RHD

Για τους RhD(-) Αφροαμερικάνους και τους Νοτιοαφρικανικούς λαούς της μικτής φυλής, ισχύουν οι ίδιοι γενετικοί μηχανισμοί, αλλά η πλειοψηφία τους δεν έχει κανένα γονίδιο RHD. Επίσης στους Αφρικανικούς πληθυσμούς κάποια αλληλόμορφα γονίδια RHCE είναι συχνότερα, ενώ είναι σπάνια στους Ευρωπαϊκούς και οι διαφορές τους οφείλονται σε πλήθος μεταλλάξεων⁹³ (πίνακας 9).

Πίνακας 9. Αλληλόμορφα γονίδια RHCE σε Αφρικανικούς πληθυσμούς.				
Τύπος	Ονομασία	Απώλεια αντιγόνου	Νέο αντιγόνο	Μοριακή βάση
RH:-18, -19(Hr ^S , hr ^S -)	ceEK ceBI ceAR	RH18, RH19(Hr ^S ,hr ^S) RH18, RH19(Hr ^S ,hr ^S) RH18, RH19(Hr ^S ,hr ^S)		Trp16Cys, Met238Val, Arg263Gly, Met267Lys Trp16Cys, Met238Val, Ala273Val, Leu378Val Trp16Cys, Met238Val, Leu245Val, Arg263Gly, Met267Lys, Ile306Val
RH:-19(hr ^S), Partial e	ceMO	RH19(hr ^S)	Trp16Cys, Val223Phe	
RH:-34(Hr ^B -)	Ccde ^s	RH34(Hr ^B)	RH20 (VS)	dCce ^s
Partial e	ce ^s (340CT)			Arg114Trp, Leu245Val
RH:32,-46	R ^N R ^N	RH46 RH46	RH32 RH32	RHCE-D(4)-CE RHCE-D(3 partial-4)-CE
Weak e	ce(W16C) ce ^s ceCF		RH10, RH20(V, VS) RH20, RH43(VS, Crawford)	Trp16Cys Trp16Cys, Leu245Val Trp16Cys, Gln233Glu, Leu245Val

Ο φαινότυπος RhD(-), εμφανίζεται πιο συχνά στους Καυκάσιους (15-17%), ενώ λιγότερο στους Έγχρωμους (5-8%) και στους Ασιάτες (1-3%)^{11,43}.

Οι γενετικοί μηχανισμοί, που είναι υπεύθυνοι για τον φαινότυπο RhD(-) στους Καυκάσιους, περιλαμβάνουν:

- μεταλλάξεις χωρίς νόημα^{94,95} ή μια διαγραφή 4 νουκλεοτιδίων^{96,97,98},
- υβριδικά γονίδια RHD-CE-D, στα εξώνια 1 και 10 ή στα εξώνια 1 έως 3 ή στα εξώνια 9 και 10, ενώ τα υπόλοιπα εξώνια προέρχονται από το γονίδιο RHCE^{99,100}, και
- διαγραφή του γονιδίου RHD, που είναι ο πιο συχνός μηχανισμός (πίνακας 10).

Πίνακας 10. Μηχανισμοί που είναι υπεύθυνοι για τον φαινότυπο RhD(-).	
Μηχανισμός	Αλληλόμορφα γονίδια
Δημιουργία υβριδικών γονιδίων	RHCE(1-9)-D(10) RHD-CE(3-9)-D RHD-CE(3-7)-D RHD-CE(4-7)-D
Πρόωρο κωδικόνιο τερματισμού	D negative RHD(W16X) D negative RHD(Q41X) D negative RHD(W90X) D negative RHD(W185X) D negative RHD(Y269X) D negative RHD(Y311X) D negative RHD(Y330X) D negative RHD(Y401X) D negative Exon 5 variant
Μετατόπιση πλαισίου	D negative RHD(325delA) D negative RHD(343delC) D negative RHD(449delT) D negative RHD(487DEL4) D negative RHD(711DEL4) D negative RHD(652delA,653T>G) D negative RHD(970del3,976del16)
Μεταλλάξεις στην περιοχή ματίσματος	D negative RHD(IVS2+1G>A) D negative RHD(IVS2-1G>A) D negative RHD(IVS8+1G>A)
Μετατόπιση πλαισίου και μεταλλάξεις στην περιοχή ματίσματος	D negative RHD(906 ins tggct, IVS6+2DEL4)
Παρερμηνεύσιμη μετάλλαξη στο γονίδιο RHCE	RHCE-D(6)-CE
Ανενεργό γονίδιο	RHDψ
Άγνωστος	RHD-CE(8-9)-D D negative RHD(G314V)
Πιθανή δημιουργία υβριδικών γονιδίων	RHCE(1-3)-D(4-10)
Πιθανή μετάλλαξη στην περιοχή ματίσματος	D negative RHD(G212V)

5.3 ΠΑΡΑΛΛΑΓΕΣ ΤΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ D

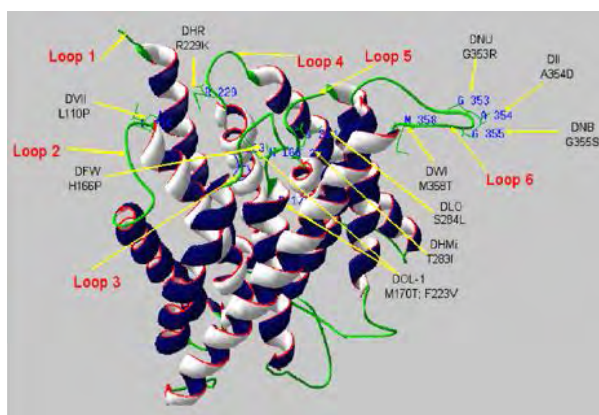
Το αντιγόνο D, αποτελεί ένα μωσαϊκό από αρκετούς διαφορετικούς αντιγονικούς επιτόπους, με διαφορετική διαμόρφωση, οι περισσότεροι από τους οποίους διαφέρουν, όχι στο χώρο, αλλά μόνο στον αριθμό (9 στο φαινότυπο D^{III} και 3 στο φαινότυπο D^{VI})¹⁰¹ και τη ρύθμιση των πιθανών επαφών τους με κατάλοιπα αμινοξέων. Η απουσία των επιτόπων D, ως αποτέλεσμα γενετικών μεταλλάξεων, μπορεί να έχει άμεσο αποτέλεσμα στην αλλαγή της μοριακής δομής και για παράδειγμα, να επηρεάσει τη σύνδεση ορισμένων μονοκλωνικών αντι-D ή να προκαλέσει την παραγωγή αντι-D μετά από μετάγγιση ή εγκυμοσύνη^{94,95,102,103,104}.

Υπάρχουν τουλάχιστον 37 επιτόποι του αντιγόνου D, που μπορούν να προσδιοριστούν χρησιμοποιώντας μονοκλωνικά αντισώματα (monoclonal antibodies)¹⁰⁵.

Εκτός από την έλλειψη της πρωτεΐνης RhD, ο αρνητικός φαινότυπος D, προκαλείται κυρίως από μια σειρά αλλαγών στην πρωτεΐνη RhD, που αλλάζουν στη συνέχεια το φαινότυπο του αντιγόνου D. Ανάλογα με το φαινότυπο και τη μοριακή δομή τους, αυτά τα αλληλόμορφα γονίδια RHD, χαρακτηρίζονται ως ατελής D ή ως ασθενές D.

• Ατελής D (Partial D)

Είναι μια ποιοτική παραλλαγή (variant) του αντιγόνου D. Ο φαινότυπος αυτός, προκαλείται συνήθως από τη δημιουργία μιας υβριδικής πρωτεΐνης των πρωτεϊνών RhCE και RhD (εικόνα 5), που μοιάζει αρκετά με την πρωτεΐνη RhD, αλλά στερείται διάφορους επίτοπους που βρίσκονται στην πλήρη πρωτεΐνη RhD. Η πρωτεΐνη RhD, διαπερνά τη λιπιδιακή διπλοστοιβάδα των ερυθρών αιμοσφαιρίων 12 φορές, αφήνοντας εκτεθειμένα τμήματα της στην επιφάνεια της μεμβράνης. Εάν αντικατασταθεί ένα αμινοξύ ενός τμήματος της πρωτεΐνης RhD, που βρίσκεται στην εξωτερική επιφάνεια της μεμβράνης, οι επίτοποι του αντιγόνου D μπορεί να χαθούν ή να προκύψουν νέα αντιγόνα. Άτομα με ερυθρά αιμοσφαίρια, από τα οποία λείπει ένας ή περισσότεροι επίτοποι, μπορεί να παράγουν αλλοαντι-D έναντι των επιτόπων που λείπουν^{74,106,107}.



Εικόνα 5.

Πολυμορφισμοί αμινοξέων που οδηγούν σε φαινότυπο ατελούς D.

Μπλε-άσπρο = θέσεις διαμεμβρανικών ελίκων και πράσινο = ενδοκυττάριοι βρόχοι.

Εάν αντικατασταθούν όλοι οι RhD-ειδικοί εξωκυττάριοι βρόχοι, από τους αντίστοιχους RhCE, ανάλογα με την ακριβή περιοχή των συνδέσεων τους στην πρωτεΐνη RhD, τότε μόνο μερικά μονοκλωνικά αντι-D, θα είναι σε θέση να δεσμευτούν σε αυτές τις υβριδικές πρωτεΐνες. Χρησιμοποιώντας πολυκλωνικά αντι-D, αυτά τα ερυθρά αιμοσφαίρια ατελούς D, τυποποιούνται ως RhD(+).

Παρόμοια με τα υβριδικά γονίδια RHD-CE-D, που εκφράζονται με τον φαινότυπο dCce, ο φαινότυπος του ατελούς D, καθορίζεται

κυρίως από την RhD ή την RhCE-ειδικότητα των εξωπλευρίων βρόχων 3, 4, και 6 και επηρεάζεται από το RhE/Rhe τμήμα του βρόχου 4. Υπάρχουν 6 πιθανοί συνδυασμοί των πρωτεϊνικών τμημάτων που εντοπίζονται στους εξωπλευρίους βρόχους 3, 4, και 6⁹² (πίνακας 11).

Πίνακας 11. Φαινότυποι των πιθανών συνδυασμών των πρωτεϊνικών τμημάτων που κωδικοποιούνται στους εξωπλευρίους βρόχους 3, 4, και 6.					
Εκφραζόμενα αντιγόνα					
Βρόγχος 3 (εξώνιο 4)	Βρόγχος 4 (εξώνιο 5)	Βρόγχος 6 (εξώνιο 7)	Φαινότυπος	Επίτοποι D	Αντιγόνα χαμηλής συχνότητας
RhCE	RhD	RhD	DFR	(1),(2),3,4, (5),(6/7),9	FPTT (Rh50)
RhD	RhCE	RhD	D ^{Va}	2,3,4,6/7,8,9	D ^W (Rh23)
RhD	RhD	RhCE	D ^{IVb}	5,6/7,8	Evans (Rh37)
RhCE	RhCE	RhD	D ^{VI}	3,4,9	BARC (Rh52)
RhCE	RhD	RhCE	D ^{HAR}	(5),(6/7)	RH33, FPTT (Rh50)
RhD	RhCE	RhCE	DBT	(6/7),8	Rh32

Οι αντικαταστάσεις, στα μη εξωπλευρία πρωτεϊνικά τμήματα, έχουν δευτερεύοντα αποτελέσματα στο φαινότυπο¹⁰⁸. Τα αλληλόμορφα γονίδια, που διαφέρουν στην έκταση της αντικατάστασης, αλλά εκφράζουν τα ίδια εξωπλευρία πρωτεϊνικά τμήματα, μοιράζονται παρόμοιους φαινότυπους^{108,109,110} (πίνακας 12).

Αρχικά αναγνωρίστηκαν οι συνδυασμοί D^{IVb}, D^{Va}, και D^{VI} και αποτελούν τις τρεις σημαντικές κατηγορίες ατελούς D^{101,111}. Άλλοι πιθανοί συνδυασμοί αποτελούν το DFR¹¹², το D^{HAR113} και το DBT, που έχουν αναγνωριστεί στα μέσα της δεκαετίας του '80^{92,113}.

Πίνακας 12.

Σχηματική απεικόνιση των αλληλόμορφων γονιδίων RHD που προκαλούν τους φαινότυπους ατελούς D. Μπλε = εξώνια RHD και κόκκινο = εξώνια RHCE που έχουν αντικαταστήσει τα εξώνια RHD.

Φαίνονται τα αντιγόνα χαμηλής συχνότητας και οι πληθυσμοί στους οποίους εμφανίζονται πιο συχνά. Ε = Έγχρωμοι, Κ = Καυκάσιοι και Ι = Ιάπωνες.

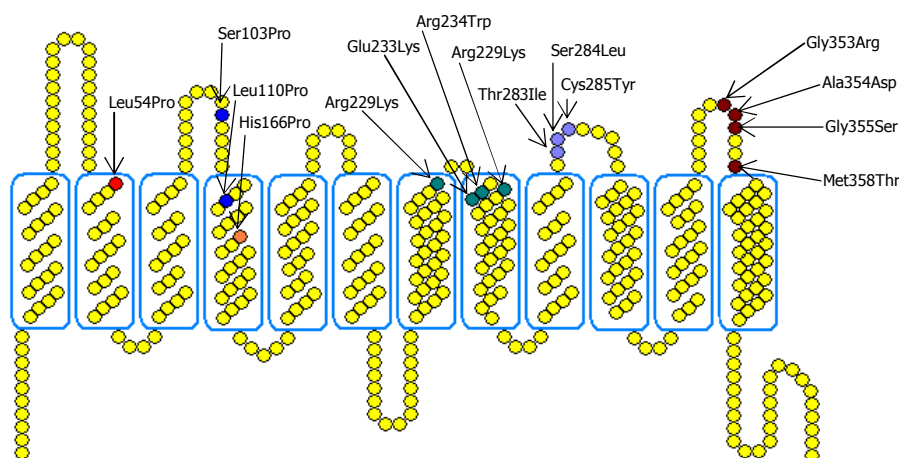
Φαινότυπος	Αντιγόνα	Μοριακή βάση	Πληθυσμοί
D ^{I^{vb}} τύπου II	Evans(Rh37)		K, I
D ^{I^{vb}} τύπου III			K
D ^{I^{vb}} τύπου IV			K
D ^{V^a} τύπου I	D ^w (Rh23)		E, K, I
D ^{V^a} τύπου II	D ^w (Rh23)		E, K, I
D ^{V^a} τύπου III			K
D ^{V^a} τύπου IV	D ^w (Rh23)		I
D ^{V^a} τύπου V			I
D ^{V^a} τύπου VI			I
D ^{Vⁱ} τύπου I	BARC(Rh52)		K
D ^{Vⁱ} τύπου II	BARC(Rh52)		K, I
D ^{Vⁱ} τύπου III	BARC(Rh52)		K
DFR τύπου I	FPTT(Rh50)		K
DFR τύπου II	FPTT(Rh50)		K
DBT τύπου I	Rh32		E K
DBT τύπου II	Rh32		I

Οι μοναδικοί συνδυασμοί εξωκυττάρων βρόχων των πρωτεϊνών RhCE και RhD, που βρίσκονται στα υβριδικά αλληλόμορφα γονίδια RHD-CE-D, είναι συχνά αντιγονικοί και μπορούν να εξηγήσουν τα χαμηλής συχνότητας αντιγόνα που εκφράζονται από αυτά τα γονίδια, όπως το FPTT στο DFR και το BARC στην κατηγορία V^{I114}.

Ένας ακόμη μηχανισμός που οδηγεί σε φαινότυπο ατελούς D, είναι οι παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις (missense mutations) σε εξωπλευρία πρωτεϊνικά τμήματα του γονιδίου RHD (πίνακας 13).

Πίνακας 13. Παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις που οδηγούν σε φαινότυπο ατελούς D.		
Φαινότυπος	Μετάλλαξη	Βρόγχος
DMH	Leu 54 Pro	1
(G negative RhD)	Ser 103 Pro	2
D ^{VII}	Leu 110 Pro	
DFW	His 166 Pro	
DHR	Arg 229 Lys	3
DHK	Glu 233 Lys	
DYU	Arg 234 Trp	
DHO	Lys 235 Thr	
DHMi	Thr 283 Ile	4
"Sample A"	Ser 284 Leu	
DIM	Cys 285 Tyr	5
DNU	Gly 353 Arg	
DII	Ala 354 Asp	
DNB	Gly 355 Ser	
DWI	Met 358 Thr	

Οι μεταλλάξεις αυτές είναι πολύ περισσότερες (σχήμα 12) από τις τμηματικές αντικαταστάσεις (segmental substitutions), και οι φαινοτυπικές αλλαγές είναι διαφορετικές από εκείνες που παρατηρούνται στο ατελές D, που προκαλείται από υβριδικές πρωτεΐνες.



Σχήμα 12.

Ατελές D που προκαλείται από παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις. Οι διαφορετικοί χρωματισμοί αντιστοιχούν σε διαφορετικούς βρόγχους.

Ο DNB¹¹⁵ και ο D^{VII} είναι οι δύο σημαντικότεροι φαινότυποι αυτού του τύπου ατελούς D^{112,116}.

• **Ασθενές D (weak D)**

Το φαινόμενο του ασθενούς D, παρατηρήθηκε αρχικά το 1946 και ονομάστηκε Du¹¹⁷. Η διαφορά μεταξύ του φυσιολογικού και του ασθενούς D, βρέθηκε σταδιακά, ότι είναι ποσοτική και όχι ποιοτική^{118,119,120}.

Η μοριακή βάση του ασθενούς D, ήταν άγνωστη. Δύο μελέτες, την δεκαετία του '90, εξέτασαν τη μοριακή αιτία των επικρατέστερων φαινοτύπων ασθενούς D^{121,122}. Και οι δύο ομάδες, χρησιμοποίησαν την αλυσιδωτή αντίδραση αντίστροφης - τρανσκριπτάσης - πολυμεράσης (Reverse - Transcriptase - Polymerase Chain Reaction ή RT-PCR) και υποστήριξαν ομόφωνα ότι η αλληλουχία του DNA, στα δείγματα ασθενούς D, εμφάνιζε την κανονική αλληλουχία κωδικοποίησης του γονιδίου RHD. Χρησιμοποιώντας ημιποσοτική RT-PCR, ο Christelle Rouillac και οι συνεργάτες του, αναφέρουν μειωμένο αριθμό αντιγράφων (transcripts) του γονιδίου RHD¹²².

Αντίθετα, ο Erik Beckers και οι συνεργάτες του, δεν βρήκαν καμία διαφορά στην ποσότητα των αντιγράφων του RHD και κατέληξαν στο συμπέρασμα, ότι το ασθενές D δεν προκαλείται από ρυθμιστικές ατέλειες κατά την διαδικασία της μεταγραφής^{121,123}.

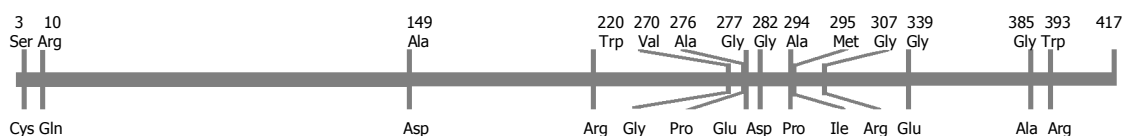
Το 1999, η μοριακή βάση του ασθενούς D, αναλύθηκε όταν ο Franz Wagner και οι συνεργάτες του, χρησιμοποίησαν μια μέθοδο που περιελάμβανε τη RFLP και τη PCR-SSP και μεταξύ των δειγμάτων ασθενούς D, βρήκανε συνολικά 16 διαφορετικούς μοριακούς τύπους ασθενούς D (και δύο αλληλόμορφα γονίδια, το DHMi και το D^{IV}, χαρακτηριστικά του ατελούς D)¹²⁴, και μέχρι σήμερα έχουν βρεθεί περισσότεροι από 70 τύποι του^{125,126} (πίνακας 14).

Πίνακας 14.		
Ασθενές D κατά αριθμό τύπου.		
Κοινή ονομασία	Μοριακή βάση (αλληλόμορφο γονίδιο)	Αντικατάσταση νουκλεοτιδίου
Ασθενές D τύπου 1	RHD(V270G)	809T>G
Ασθενές D τύπου 1.1	RHD(L18V,V270G)	52C>G, 809G>A
Ασθενές D τύπου 2	RHD(G385A)	1154G>C
Ασθενές D τύπου 3	RHD(S3C)	8C>G
Ασθενές D τύπου 4.0	RHD(T201R,F223V)	602C>G, 667T>G, 819G>A
Ασθενές D τύπου 4.1	RHD(W16C,T201R,F223V)	48G>C, 602C>G, 667T>G, 819G>A
Ασθενές D τύπου 4.2	RHD(T201R,F223V,I342T)	602C>G, 667T>G, 957G>A, 1025T->C
Ασθενές D τύπου 4.3	RHD(T201R,F223V,P291R)	602C>G, 667T>G, 819G>A, 872C>G
Ασθενές D τύπου 5	RHD(A149D)	446C>A
Ασθενές D τύπου 6	RHD(R10Q)	29G>A
Ασθενές D τύπου 7	RHD(G339E)	1016G>A
Ασθενές D τύπου 8	RHD(G307R)	919G>A
Ασθενές D τύπου 9	RHD(A294P)	880G>C
Ασθενές D τύπου 10	RHD(W393R)	1177T>C
Ασθενές D τύπου 11	RHD(M295I)	885G>T

Ασθενές D τύπου 12	RHD(G277E)	830G>A
Ασθενές D τύπου 13	RHD(A276P)	826G>C
Ασθενές D τύπου 14	RHD(S182T,K198N,T201R)	544T>A, 594A>T, 602 C>G
Ασθενές D τύπου 15	RHD(G282D)	845G>A
Ασθενές D τύπου 16	RHD(W220R)	658T>C
Ασθενές D τύπου 17	RHD(R114W)	340C>T
Ασθενές D τύπου 18	RHD(R7W)	19C>T
Ασθενές D τύπου 19	RHD(I204T)	611T>C
Ασθενές D τύπου 20	RHD(F417S)	1250T>C
Ασθενές D τύπου 21	RHD(P313L)	938C>T
Ασθενές D τύπου 22	RHD(W408C)	1224G>C
Ασθενές D τύπου 23	RHD(G212C)	634G>T
Ασθενές D τύπου 24	RHD(L338P)	1013T>C
Ασθενές D τύπου 25	RHD(R114Q)	341G>A
Ασθενές D τύπου 26	RHD(V9D)	26T>A
Ασθενές D τύπου 27	RHD(P221S)	661C>T
Ασθενές D τύπου 28	RHD(T384T)	1152A>C
Ασθενές D τύπου 29	RHD (I60L, S68N, K198N, F223V, I342T)	178A>C, 201G>A, 203G>A, 594A>T, 667T>G, 744C>T, 957G>A, 1025T>C
Ασθενές D τύπου 30	RHD(E340M)	1018G>A, 1019A>T
Ασθενές D τύπου 31	RHD(L6P)	17C>T
Ασθενές D τύπου 32	RHD(I374N)	1121A>T
Ασθενές D τύπου 33	RHD(V174M)	520 G>A
Ασθενές D τύπου 34	RHD(V270E)	809T>A
Ασθενές D τύπου 35	RHD(G87D)	260G>A
Ασθενές D τύπου 36	RHD(V281G)	842T>G
Ασθενές D τύπου 37	RHD(K133N)	399G>T
Ασθενές D τύπου 38	RHD(G278D)	833G>A
Ασθενές D τύπου 39	RHD(G339R)	1015G>A
Ασθενές D τύπου 40	RHD(T201R)	602C>G
Ασθενές D τύπου 41	RHD(E398V)	1193A>T
Ασθενές D τύπου 42	RHD(K409M)	1226A>T
Ασθενές D τύπου 43	RHD(A202V)	605T>C
Ασθενές D τύπου 44	RHD(Y243C)	728A>G
Ασθενές D τύπου 45	RHD(A399T)	1195G>A
Ασθενές D τύπου 46	RHD(F407L)	1221C>A
Ασθενές D τύπου 47	RHD(R114G)	340C>G
Ασθενές D τύπου 48	RHD(G61V)	182G>T
Ασθενές D τύπου 49	RHD(S257F)	770C>T
Ασθενές D τύπου 50	RHD(Y243N)	727T>A
Ασθενές D τύπου 51	RHD(K198N, T201R)	594A>T, 602C>G
Ασθενές D τύπου 52	RHD(F31S)	92T>C
Ασθενές D τύπου 53	RHD(V247G)	740T>G
Ασθενές D τύπου 54	RHD(S122L)	365C>T
Ασθενές D τύπου 55	RHD(L299V)	895C>G
Ασθενές D τύπου 56	RHD(A22E)	65C>A
Ασθενές D τύπου 57	RHD(L214F)	640C>T
Ασθενές D τύπου 58	RHD(G336R)	1006G>C
Ασθενές D τύπου 59	RHD(L383P)	1148T>C
Ασθενές D τύπου 60	RHD(delF407W408)	1219-1224delTTCTGG
Ασθενές D τύπου 61	RHD(R10W)	28C>T
Ασθενές D τύπου 62	RHD(P221T)	661C>A
Ασθενές D τύπου 63	RHD(I253N)	758T>A
Ασθενές D τύπου 64	RHD(A294V)	881C>T

Ασθενές D τύπου 65	RHD(A23D)	68C>A
Ασθενές D τύπου 66	RHD(V306I)	916G>A
Ασθενές D τύπου 67	RHD(T241I)	722C>T
Ασθενές D τύπου 68	RHD(T241I)	165T>C, 1213G>C
Ασθενές D τύπου 69	RHD(R318Q)	953G>A
Ασθενές D τύπου 70	RHD(L338V)	1012C>G
Ασθενές D τύπου 71	RHD(R10P)	29G>C
Ασθενές D τύπου 72	RHD(D404E)	1212C>A
Ασθενές D τύπου 73	RHD(A414V)	1241C>T

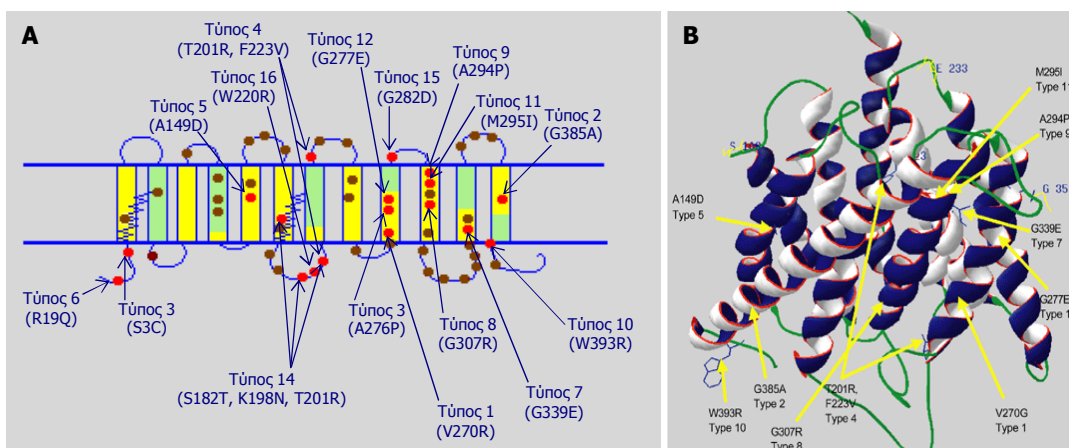
Ο φαινότυπος ασθενούς D, χαρακτηρίζεται από ερυθρά αιμοσφαίρια με μειωμένη έκφραση της πρωτεΐνης RhD. Η έκφραση των αντιγόνων ασθενούς D, προκαλείται από παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις στο γονίδιο RHD και οι αντικαταστάσεις αμινοξέων που παρατηρήθηκαν στα ενδοκυττάρια και διαμεμβρανικά πρωτεϊνικά τμήματα, συσσωρεύονται σε 4 περιοχές της πρωτεΐνης. Η πλειονότητα των αντικαταστάσεων βρέθηκε στα αμινοξέα στις θέσεις 267 έως 397, ενώ βρέθηκαν και σε μικρότερες περιοχές της πρωτεΐνης RhD γύρω από τις θέσεις 2 έως 13, 149, και 179 έως 225 (ασθενές D τύπου 4 και 14)¹²⁴ (σχήμα 13).



Σχήμα 13.

Φαίνονται οι αντικαταστάσεις των αμινοξέων (κάτω σειρά), που παρατηρούνται στους τύπους ασθενούς D, από παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις.

Παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις, σε μη εξωπλευρικό τμήμα της πρωτεΐνης RhD, τείνουν να παρεμποδίσουν την ακεραιότητα της μεμβράνης και προκαλούν τη μεγάλη πλειοψηφία του φαινοτύπου ασθενούς D¹²⁴. Αν και κάθε αλληλόμορφο γονίδιο έχει έναν ευδιάκριτο φαινότυπο, μια καθαρώς ορολογική διάκριση των πολλών αλληλόμορφων γονιδίων, είναι σχεδόν αδύνατη, επειδή οι φαινοτυπικές διαφορές είναι συχνά μικρές⁸⁹. Οι τύποι ασθενούς D (εικόνα 6) υποδεικνύονται με αριθμούς^{127,128,129} (πίνακας 19).



Εικόνα 6.

A. Μοριακή βάση των φαινοτύπων ασθενούς D. Κόκκινο = θέσεις παρερμηνεύσιμων μεταλλάξεων στο γονίδιο RHD, καφέ = D-ειδικά αμινοξέα και πράσινο = περιοχές της συντηρημένης ακολουθίας της πρωτεϊνικής οικογένειας Rh.

B. Πολυμορφισμοί αμινοξέων που οδηγούν σε φαινότυπο ασθενούς D. Ο αριθμός απεικονίζει την θέση των αμινοξέων στην μεμβράνη που είναι γνωστό ότι προκαλεί τους φαινότυπους ασθενούς D. Μπλε-άσπρο = θέσεις διαμεμβρανικών ελίκων, πράσινο = ενδοκυττάριο βρόχοι και μπλε = πλευρικές αλυσίδες των αμινοξέων της πρωτεΐνης RHD, που αλλάζουν στον φαινότυπο ασθενούς D.

Πίνακας 15.			
Τύποι ασθενούς D κατά θέση μετάλλαξης.			
Νουκλεοτιδίο	Πολυμορφισμός	Επίδραση στη πρωτεΐνη	Κοινή ονομασία
Εξώνιο 1			
8	C>G	S3C	Ασθενές D τύπου 3
17	C>T	L6P	Ασθενές D τύπου 31
19	C>T	R7W	Ασθενές D τύπου 18
26	T>A	V9D	Ασθενές D τύπου 26
29	G>A	R10Q	Ασθενές D τύπου 6
48	G>C	W16C	Ασθενές D τύπου 4.1
52	C>G	L18V	Ασθενές D τύπου 1.1
Εξώνιο 2			
178	A>C	I60L	Ασθενές D τύπου 29
182	G>T	G61V	Ασθενές D τύπου 48
201	G>A	-	Ασθενές D τύπου 29
203	G>A	S68N	Ασθενές D τύπου 29
260	G>A	G87D	Ασθενές D τύπου 35
Εξώνιο 3			
340	C>T	R114W	Ασθενές D τύπου 17
340	C>G	R114G	Ασθενές D τύπου 47
341	G>A	R114Q	Ασθενές D τύπου 25
446	C>A	A149D	Ασθενές D τύπου 5
Εξώνιο 4			
594	A>T	K198N	Ασθενές D τύπου 14, τύπου 29
602	C>G	T201R	Ασθενές D τύπου 4.0, τύπου 4.1, τύπου 4.2, τύπου 4.3, τύπου 14
605	C>T	A202V	Ασθενές D τύπου 43
611	T>C	I204T	Ασθενές D τύπου 19
Εξώνιο 5			
634	G>T	G212C	Ασθενές D τύπου 23
658	T>C	W220R	Ασθενές D τύπου 16
661	C>T	P221S	Ασθενές D τύπου 27

667	T>G	F223V	Ασθενές D τύπου 4.0, τύπου 4.1, τύπου 4.2, τύπου 4.3, τύπου 29
728	A>G	Y243C	Ασθενές D τύπου 44
744	C>T	-	Ασθενές D τύπου 4.2, τύπου 29
770	C>T	S257F	Ασθενές D τύπου 49
Εξώνιο 6			
809	T>G	V270G	Ασθενές D τύπου 1
809	T>G	V270G	Ασθενές D τύπου 1.1
809	T>A	V270E	Ασθενές D τύπου 34
819	G>A	-	Ασθενές D τύπου 4.0, τύπου 4.1, τύπου 4.3
826	G>C	A276P	Ασθενές D τύπου 13
830	G>A	G277E	Ασθενές D τύπου 12
833	G>A	G278D	Ασθενές D τύπου 38
842	T>G	V281G	Ασθενές D τύπου 36
845	G>A	G282D	Ασθενές D τύπου 15
872	C>G	P291R	Ασθενές D τύπου 4.3
880	G>C	A294P	Ασθενές D τύπου 9
885	G>T	M295I	Ασθενές D τύπου 11
919	G>A	G307R	Ασθενές D τύπου 8
938	C>T	P313L	Ασθενές D τύπου 21
Εξώνιο 7			
957	G>A	-	Ασθενές D τύπου 4.2, τύπου 29
1013	T>C	L338P	Ασθενές D τύπου 24
1015	G>A	G339R	Ασθενές D τύπου 39
1016	G>A	G339E	Ασθενές D τύπου 7
1018	G>A	E340M	Ασθενές D τύπου 30
1019	A>T	E340M	Ασθενές D τύπου 30
1025	T>C	I342T	Ασθενές D τύπου 4.2, τύπου 29
Εξώνιο 8			
1121	A>T	I374N	Ασθενές D τύπου 32
1152	A>C	-	Ασθενές D τύπου 28
Εξώνιο 9			
1154	G>C	G385A	Ασθενές D τύπου 2
1177	T>C	W393R	Ασθενές D τύπου 10
1193	A>T	E398V	Ασθενές D τύπου 41
1195	G>A	A399T	Ασθενές D τύπου 45
1221	C>A	F407L	Ασθενές D τύπου 46
1224	G>C	W408C	Ασθενές D τύπου 22
1226	A>T	K409M	Ασθενές D τύπου 42
Εξώνιο 10			
1250	T>C	F417S	Ασθενές D τύπου 20

Οι μηχανισμοί που προκαλούν τη μειωμένη έκφραση της πρωτεΐνης RhD (ασθενές D), δεν είναι πλήρως κατανοητοί¹³⁰. Σχεδόν όλες οι εμπλεκόμενες σημειακές μεταλλάξεις, αφορούν τα αμινοξέα που συντηρούνται σε όλα τα είδη¹³¹. Οι παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις, που εμφανίζονται ως ομάδες, αντιστοιχούν σε σημαντικές περιοχές για τη σωστή ενσωμάτωση των πρωτεϊνών Rh στη μεμβράνη του ερυθρού αιμοσφαιρίου ή τη σωστή αλληλεπίδραση με την πρωτεΐνη RhAG¹²⁴.

Οι παραλλαγές του ασθενούς D, έχουν διαφορετική κατανομή στις διάφορες ανθρώπινες φυλές. Η συχνότητα του φαινοτύπου ασθενούς D στους Λευκούς αιμοδότες είναι 0,42%¹³², ενώ αποτελεί το 0,2-1% των Καυκάσιων¹³³. Οι επικρατούντες τύποι

ασθενούς D στους Ευρωπαίους, είναι οι τύποι 1, 2 και 3 που αποτελούν το 93,49% μεταξύ όλων των τύπων ασθενούς D, ενώ ο τύπος 4 το 1,3% και ο τύπος 5 το 0,84%. Ο τύπος 1, είναι το συχνότερο αλληλόμορφο γονίδιο ασθενούς D που συνδέεται με το φαινότυπο DCce, ενώ ο τύπος 2, με το φαινότυπο DcEe ¹²⁴. Η συνολική συχνότητα του ασθενούς D τύπου 4 στους Νότιους Αφρικανούς είναι 17,2%¹³⁴, ενώ στους Λευκούς αιμοδότες, είναι 0,0055%¹²⁴. Φαίνεται πως το ασθενές D, εμφανίζεται συχνότερα στον Αφρικανικό πληθυσμό.

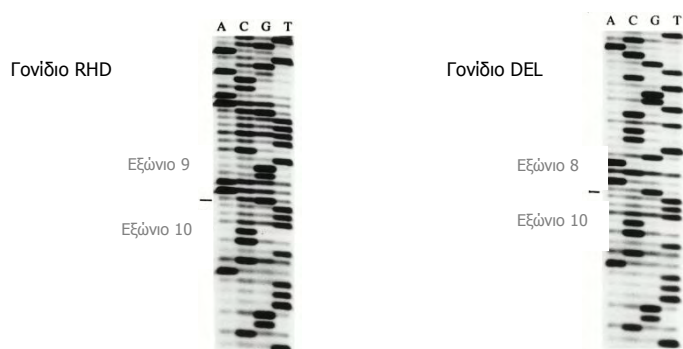
Συνήθως, τα άτομα με φαινότυπο ασθενούς D, δεν παράγουν αλλοαντι-D (τύποι 1 έως 3) ^{74,89,135}, ενώ έχουν παραχθεί σε μερικούς, όπως στον τύπο 4.2 και στον τύπο 15¹³⁶.

• Φαινότυπος D_{e1} (D_{e1} phenotype / RhD_{e1})

Ο φαινότυπος D_{e1}, καθορίζεται από την έκφραση πολύ μικρών ποσοτήτων αντιγόνου D_{e1} (ή D_{EL}), χαρακτηρίζεται με τη χρήση συμβατικής ορολογικής δοκιμασίας ως RhD(-)⁹⁰ και θεωρείται η ακραία μορφή του ασθενούς D¹³⁷.

Τα γενετικά χαρακτηριστικά και η έκφρασή του αντιγόνου D_{e1} δεν παρουσιάζουν καμία διαφορά μεταξύ του γονιδίου RH και του γονιδίου DEL, εκτός από το ότι στο γονίδιο DEL απουσιάζει η περιοχή BspHI στο εξώνιο 9 που είναι παρόμοια με του γονιδίου RHCE ^{138,102}.

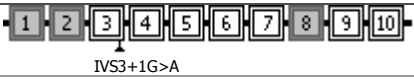
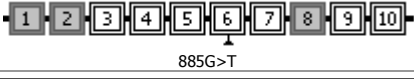

Περαιτέρω μελέτες έδειξαν ότι τα γονίδια RHD και DEL, είναι παρόμοια στα εξώνια 7 και 8, αλλά υπάρχει διαγραφή του εξωνίου 9 στο γονίδιο DEL. Από το γονίδιο DEL, είχαν διαγραφεί 1.013bp μεταξύ των εσωνίων 8 και 9, συμπεριλαμβανομένου ολόκληρου του εξωνίου 9^{102,139} (εικόνα 7).



Εικόνα 7.

Τα αποτελέσματα της RT-PCR έδειξαν ότι το γονίδιο DEL είχε μια διαγραφή 1.013bp μεταξύ των εσωνίων 8 και 9, συμπεριλαμβανομένου ολόκληρου του εξωνίου 9.

Μελέτη πολυμορφισμού περιέγραψε 3 αλληλόμορφα γονίδια που αντιπροσωπεύουν τον φαινότυπο D_{e1}, και τα οποία χαρακτηρίστηκαν από 3 μεταλλάξεις, μια παρερμηνεύσιμη και 2 στην περιοχή ματίσματος¹⁴⁰ (πίνακας 16).

Πίνακας 16. Φαινότυπος D _{e1} . Άσπρα = εξώνια γονιδίου RHD, γκρι = εξώνια ίδια σε γονίδιο RHD και γονίδιο RHCE και μαύρα βέλη = μεταλλάξεις.		
Απλότυπος	Αλληλόμορφα γονίδια	Μοριακή δομή
DCe	RHD(IVS3+1G>A)	
DCe	RHD(M295I)	
DCe	RHD(K409K)	

Ο φαινότυπος D_{e1}, είναι σπάνιος στην Ευρώπη, και στην ανατολική Ασία φέρουν το αλληλόμορφο γονίδιο RHD περίπου 30% των RhD(-) ατόμων^{90,141}, ενώ στην Ιαπωνία και στην Κίνα 10-13% και 16-33%, αντίστοιχα^{142,143}. Η συχνότερη μετάλλαξη στους Ιαπωνικούς, Κινεζικούς και Κορεατικούς πληθυσμούς, είναι η αντικατάσταση ενός νουκλεοτιδίου (G1227A) στο αλληλόμορφο γονίδιο RHD (K409K)^{139,144,145}, ενώ η ίδια μετάλλαξη είναι η δεύτερη συχνότερη μεταξύ των Λευκών πληθυσμών^{92,140}.

Άτομα με φαινότυπο D_{e1}, θα αναπτύξουν αντι-D όταν μεταγγισθούν με αίμα που περιέχει ερυθρά αιμοσφαίρια RhD(+), αρκετές εβδομάδες μετά από τη μετάγγιση, γι' αυτό τα Rh_{De1} άτομα θα πρέπει αντιμετωπίζονται ως φαινότυπος RhD(-)¹⁴⁶.

• Φαινότυπος Rh_{null} (Rh_{null} phenotype)

Ο φαινότυπος Rh_{null}, είναι γνωστός και ως σύνδρομο ανεπάρκειας Rh (Rh deficiency syndrome) και είναι εξαιρετικά σπάνιος (περίπου 1-6×10⁶ άτομα), αλλά είναι εύκολο να προσδιοριστεί επειδή το ερυθρό αιμοσφαίριο των Rh_{null} ατόμων στερείται όλα τα αντιγόνα της ομάδας αίματος Rh, δηλαδή χαρακτηρίζεται από τη πλήρη απουσία του γονιδίου D (D--)^{147,148,149} και δεν συγκολλείται από το αντι-D, αντι-C, αντι-E, αντι-c ή το αντι-e¹⁴⁹.

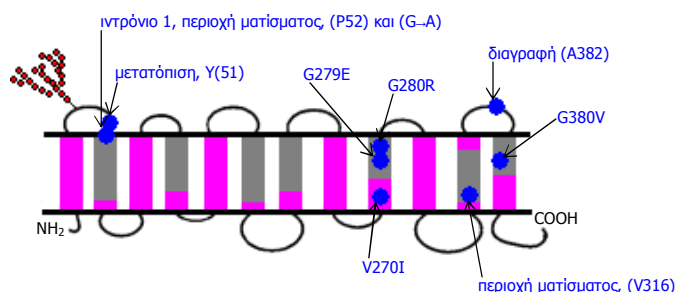
Η μοριακή μελέτη των ατόμων με φαινότυπο Rh_{null}, αποκάλυψε ότι οι ανωμαλίες εμφανίζονται μόνο στους γενετικούς τύπους RHAG και RH, χωρίς αλλαγή των γονιδίων που κωδικοποιούν τις βοηθητικές αλυσίδες¹⁵⁰.

Υπάρχουν δύο τύποι Rh_{null}:

1. ο οφειλόμενος σε ομόζυγη παραλλαγή ενός σωματικού υπολειπόμενου ρυθμιστικού γονιδίου, του X^or, γενετικά ανεξάρτητου του γενετικού τύπου RH που καταστέλλει τη λειτουργία του γονιδίου RH¹⁵¹ και
2. ο τύπος που προκαλείται από ομοζυγωτία ενός σιωπηλού αλληλόμορφου γονιδίου (silent allele) στο γενετικό τόπο RH^{152,153,154}.

Οι μεταλλάξεις (σχήμα 14), που οδηγούν στον φαινότυπο Rh_{null}^{155} , είναι:

- παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις, που οδηγούν σε αντικατάσταση ενός αμινοξέος, όπως η αντικατάσταση Gly279Glu στο γονίδιο της γλυκοπρωτεΐνης Rh50¹⁵⁴ και οι αντικαταστάσεις Val270Ile στο εξώνιο 6 και Gly380Val στο εξώνιο 9¹⁵⁶, ενώ μετάλλαξη στο αμετάβλητο κατάλοιπο G→A (Gly280Arg) της 3' περιοχής ματίσματος του εξωνίου 6, προκαλεί μετάβαση του εξωνίου προς τα κάτω (downstream) και πρόωρη λήξη της μετάφρασης^{157,158},
- μεταλλάξεις μετατόπισης πλαισίου ανάγνωσης και μεταγραφής του mRNA, λόγω απώλειας ή εισαγωγής ενός αμινοξέος, όπως μια διαγραφή 122bp από το νουκλεοτίδιο 946 έως το 1067 του γονιδίου της γλυκοπρωτεΐνης Rh50¹⁵⁹ ή μια διαγραφή ενός νουκλεοτιδίου, ATT(Ile322)→AT και CAC(His323)→CC ή δύο νουκλεοτιδίων CAC(His323)→C και μια μετάβαση (transition) ATT(Ile322)→ATC, που προκαλούν μετατόπιση του ανοιχτού πλαισίου ανάγνωσης (open reading frame) κωδικοποιώντας μια μικρότερη πρωτεΐνη με 398, αντί 417 αμινοξέων¹⁶⁰ και
- διαγραφή του γονιδίου RHD και απώλεια ενός νουκλεοτιδίου (960/963 GGGG→GGG) στο εξώνιο 7 του γονιδίου RHce, εισάγει μια μετατόπιση του πλαισίου ανάγνωσης μετά από τη Gly321, μια νέα C-τελική ακολουθία αμινοξέων και ένα πρόωρο κωδικόνιο τερματισμού, με συνέπεια μια μικρότερη πρωτεΐνη (357 αμινοξέα)¹⁶¹.



Σχήμα 14.

Μεταλλάξεις στο γονίδιο της γλυκοπρωτεΐνης RhAG.

παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις = G279E, G280R, G380V και V270I, περιοχές ματίσματος = G →A, V316 και μετατόπιση πλαισίου ανάγνωσης = P52, μετατόπιση πλαισίου ανάγνωσης = Y(51), διαγραφή ενός νουκλεοτιδίου και μετατόπιση πλαισίου ανάγνωσης = A382.

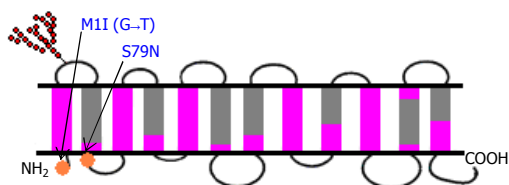
Οι παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις εμφανίζονται κυρίως μέσα στις συντηρημένες περιοχές (γκρι) της πρωτεϊνικής οικογένειας Rh, του ερυθρού αιμοσφαιρίου.

• Φαινότυπος Rh_{mod} (Rh_{mod} phenotype)

Είναι πιο σπάνιος από τον φαινότυπο Rh_{null} και παρουσιάζει μια εμφανώς μειωμένη έκφραση όλων των αντιγόνων Rh και των δύο γονιδίων^{162,163}.

Μελέτες δείχνουν, ότι οι γενετικές ανωμαλίες στο φαινότυπο Rh_{mod} προκαλούνται επίσης από μονονουκλεοτιδικές αντικαταστάσεις, οι οποίες προκαλούν μέτριες μεταλλάξεις στο

γονίδιο RH, ενώ το πολυπεπτίδιο Rh είναι φυσιολογικό^{155,164} (σχήμα 15).

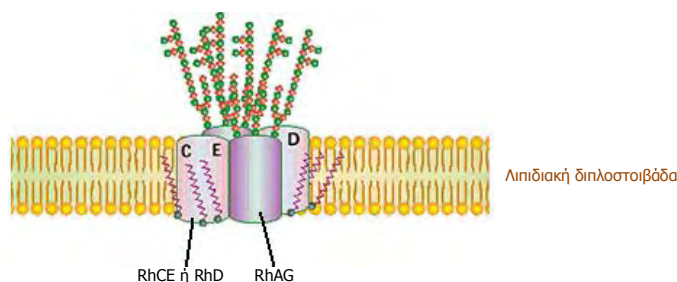


Σχήμα 15.

Ο φαινότυπος Rh_{mod} συνδέεται με μεταλλάξεις, οι οποίες οδηγούν σε μια εμφανή μείωση του πρωτεϊνικού συμπλέγματος RhAG-RhCE ή RhD στη μεμβράνη του ερυθρού αιμοσφαιρίου. Παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις = G→T στο κωδικόνιο έναρξης (ATG[Met]→ ATT[Ile]), S79N.

5.4 ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ - ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ D

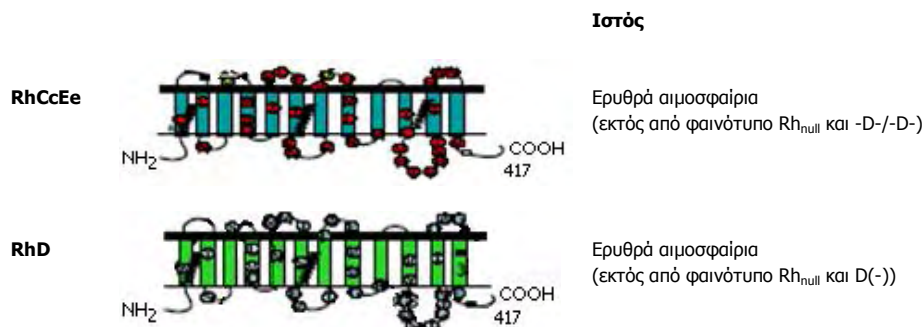
Τα αντιγόνα Rh, εκφράζονται ως τμήμα ενός πρωτεϊνικού συμπλέγματος στη μεμβράνη του ερυθρού αιμοσφαιρίου, το οποίο εκφράζεται μόνο στην ερυθροκυτταρική σειρά και επομένως τα αντιγόνα Rh εκφράζονται μόνο σε ερυθρά αιμοσφαίρια. Η δομή του συμπλέγματος είναι άγνωστη, αλλά είναι πιθανόν τετραμερές, που αποτελείται από δύο μόρια πρωτεΐνης RhAG και δύο μόρια των πρωτεϊνών Rh^{90,165,166,167} (σχήμα 16).

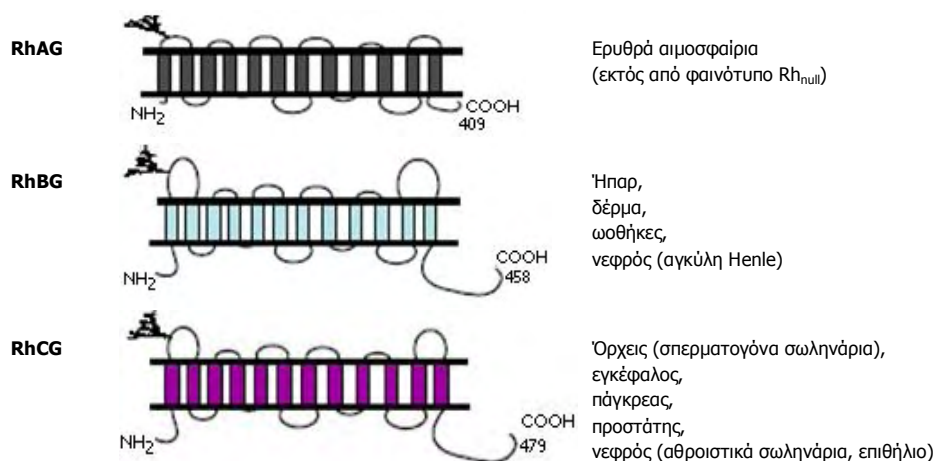


Σχήμα 16.

Σχηματική απεικόνιση του συμπλέγματος Rh στην μεμβράνη του ερυθρού αιμοσφαιρίου. Το σύμπλεγμα Rh αποτελείται από 2 μόρια RhAG και από 2 μόρια RhCE ή RhD.

Οι πρωτεΐνες RhD, RhCE και RhAG, εκφράζονται στα ερυθρά αιμοσφαίρια, ενώ οι ομόλογες τους πρωτεΐνες RhBG και RhCG εκφράζονται σε άλλους ιστούς^{73,168,169} (σχήμα 17).





Σχήμα 17.
Πρωτεΐνες του συστήματος ομάδας αίματος Rh και οι ιστοί στους οποίους εκφράζονται.

5.5 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ Rh

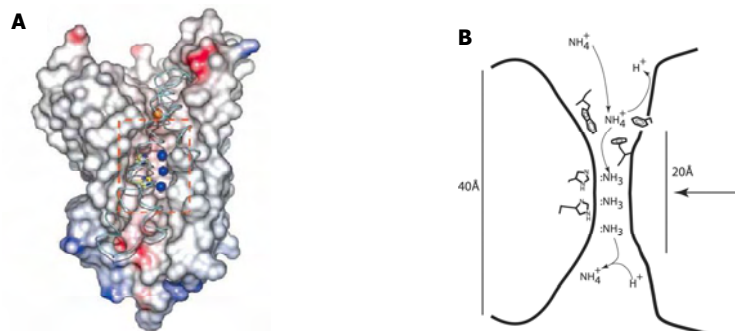
Τα αντιγόνα Rh, πιστεύεται πως έχουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της ακεραιότητας της μεμβράνης του ερυθρού αιμοσφαιρίου. Ερυθρά αιμοσφαίρια, που στερούνται τα αντιγόνα Rh, παρουσιάζουν μορφολογικές και λειτουργικές ανωμαλίες^{4,11,96}. Η απουσία του συμπλέγματος Rh, αλλάζει τη μορφή του ερυθρού αιμοσφαιρίου, αυξάνει την ωσμωτική ευθραστότητα και μειώνει τη διάρκεια ζωής του, με συνέπεια ήπια αιμολυτική αναιμία. Αυτοί οι ασθενείς, κινδυνεύουν από τις επιπλοκές μετά από μετάγγιση, επειδή μπορούν να παράγουν αντισώματα ενάντια σε αρκετά από τα αντιγόνα Rh.

Παρά την κλινική σημασία τους, η λειτουργία των πρωτεϊνών Rh, παρέμεινε ασαφής, μέχρι που μελέτες, έδειξαν μικρή, αλλά σημαντική ομολογία αμινοξέων με τις πρωτεΐνες μεταφοράς αμμωνίου (Ammonium / methylammonium transporters, Amts)¹⁷⁰ και των ομολόγων τους περμεασών (Methylammonium / ammonium permeases, Mep)¹⁷¹.

Οι πρωτεΐνες Amt, είναι παρούσες ως μεμβρανικοί διάυλοι στα βακτήρια (bacteria), στα αρχαία (archaea), στα φυτά (plants) και στους μύκητες (fungi)^{172,173,174}, ενώ καλύτερα μελετημένες είναι στο εντεροβακτηρίδιο *Escherichia coli*^{175,176,177}. Τα δομικά στοιχεία δείχνουν, ότι η πρωτεΐνη Amt λειτουργεί ως διάυλος αμμωνίας και έχει μια εξωκυττάρια περιοχή σύνδεσης για το ιόν αμμωνίου^{178,179,180}.

Ο Saeed Khademi και οι συνεργάτες του, καθόρισαν με κρυσταλλογραφία, την δομή (crystal structure) του διαύλου αμμωνίας (NH₃) από την πρωτεϊνική οικογένεια Amt/Mep/Rh στα 1,35Å¹⁸¹. Ο διάυλος, διαπερνά τη μεμβράνη 11 φορές. Οι δομές με ή χωρίς αμμωνία ή μεθυλική αμμωνία, εμφανίζουν ένα κυστίδιο (vestibule) το οποίο συλλέγει NH₄⁺/NH₃, δηλαδή, είναι μια περιοχή σύνδεσης του ιόντος αμμωνίου (NH₄⁺), και ένα υδροφοβικό κανάλι 20Å που μειώνει το pKa του NH₄⁺ <6 και

μεταφέρει NH_3 . Επίσης, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι αυτή η ανασύσταση της AmtB σε κυστίδια, δείχνει ότι η πρωτεΐνη AmtB μεταβιβάζει αμετάβλητη την αμμωνία (σχήμα 18).



Σχήμα 18.

A. Διάυλος μεταφοράς της αμμωνίας στη πρωτεΐνη AmtB.

μπλε σφαίρες = θέσεις της αμμωνίας,

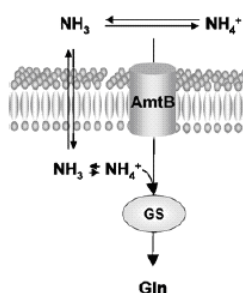
διακεκομμένες πορτοκαλί γραμμές = θέση των δύο στενά υδροφοβικών περιοχών που βρίσκονται επάνω

από και κάτω από τη θέση της αμμωνίας και

πορτοκαλί σφαίρα = ιόν αμμωνίου.

B. Συνοπτικός μηχανισμός της μεταφοράς της αμμωνίας. Η χαμηλή πυκνότητα ηλεκτρονίων για την αμμωνία αντιπροσωπεύει τη αντικατάσταση ανταλλαγής (substitutional interchange) ή τη σχετική ελευθερία της αμμωνίας μέσα στο υδροφοβικό διάυλο. Η αμμωνία κανονικά υφίσταται γρήγορη αντιστροφή.

Μελέτες *in vivo* στην *E. Coli* (EcAmtB) υποστηρίζουν, ότι η πρωτεΐνη AmtB μπορεί να λειτουργήσει ως διάυλος μεταφοράς της αμμωνίας¹⁸² (σχήμα 19), αλλά και ως μονομεταφορέας (uniporter) του ιόντος αμμωνίου ή συμμεταφορέας (cotransporters) των NH_3/H^+ ^{169,183,184}.



Σχήμα 19.

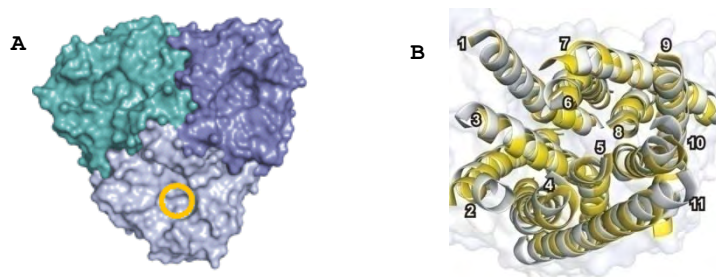
Προτεινόμενη πρόσληψη και κατανάλωση της αμμωνίας *in vivo*.

Gln= γλουταμίνη, GS= γλουταμινική συνθετάση.

Ο Arnaud Javelle και οι συνεργάτες του, σε μελέτη σύγκρισης των πρωτεϊνών Amt και Rh (RhAG και RhGG), υποστηρίζουν την λειτουργία τους ως μεταφορείς αμμωνίας¹⁸⁵, ενώ άλλες μελέτες προτείνουν ότι οι πρωτεΐνες RhAG και RhGG μεσολαβούν στην έξοδο της αμμωνίας από τα ερυθρά αιμοσφαίρια^{148,186,187}.

Ο Domenico Lupo και οι συνεργάτες του, μελέτησαν τη δομή της πρωτεΐνης NeRh50 του *Nitrosomonas europaea* ενός βακτηρίου που οξειδώνει την αμμωνία σε νιτρώδη (ammonia oxidizing

bacterium)¹⁶⁹ (εικόνα 8), καθώς έχει αποδειχθεί ότι λειτουργεί ως μεταφορέας της αμμωνίας και αποτελεί μέλος της πρωτεϊνικής οικογένειας RH¹⁸⁸.



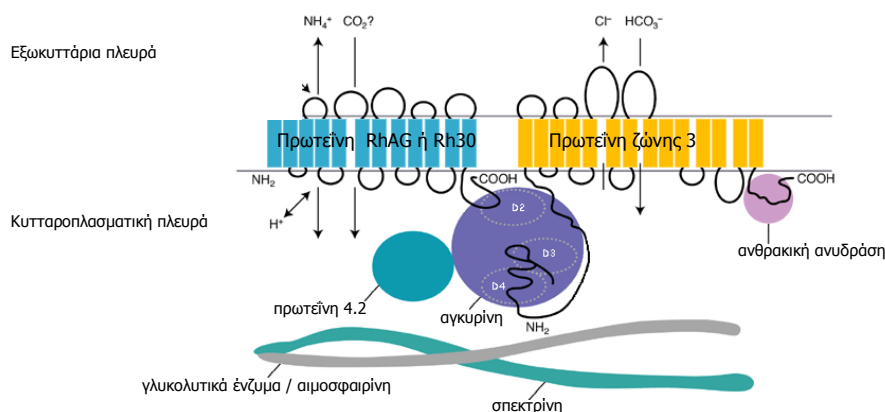
Εικόνα 8.

A. Χλωροπληρωτικό μοντέλο (space-filling model) της τριμερούς δομής της πρωτεΐνης NeRh50.

κίτρινος κύκλος = εξωκυττάριος πόρος εισόδου.

B. Μοντέλο κορδέλας όπου συγκρίνεται η δομή των μονομερών της πρωτεΐνης EcAmtB (γκρι) και της πρωτεΐνης NeRh50 (κίτρινο). Οι θέσεις των διαμεμβρανικών ελίκων αριθμούνται (1-11).

Άλλες μελέτες προτείνουν, ότι η πρωτεΐνη Rh1 του *Chlamydomonas reinhardtii* ενός μονοκύτταρου πράσινου φυκιού (unicellular green alga), λειτουργεί ως διάλυλος του διοξειδίου του άνθρακα (CO₂)^{172,189,190,191} και ότι οι πρωτεΐνες RhCE, RhD και RhAG, συμβάλλουν στην υψηλή διαπερατότητα του CO₂ από την μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων^{192,193} (σχήμα 20).



Σχήμα 20.

Προτεινόμενο μοντέλο του συμπλέγματος Rh.

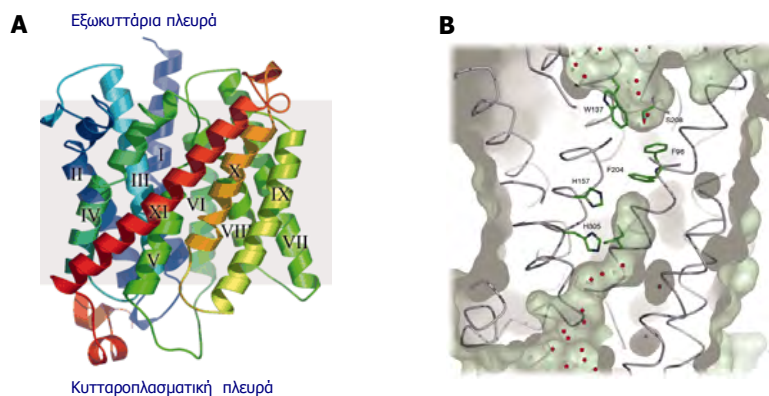
Το σύμπλεγμα Rh και η πρωτεΐνη ζώνης 3 (band 3) μπορούν να αποτελέσουν ένα λειτουργικό σύμπλοκο μεταφοράς των CO₂/O₂ στην μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Η πρωτεΐνη ζώνης 3 περιλαμβάνει μια μεμβρανική συνδεδεμένη περιοχή που ανταλλάσσει το χλώριο (Cl⁻) και το διττανθρακικό άλας (bicarbonate / HCO₃⁻), ένα C-τελικό άκρο το οποίο δεσμεύει την ανθρακική ανυδράση (carbonic anhydrase) και ένα μακρύ N-τελικό άκρο που δεσμεύει την αιμοσφαιρίνη (haemoglobin), γλυκολυτικά ένζυμα (glycolytic enzymes), την αγκυρίνη (ankyrin), την πρωτεΐνη 4.2 και την σπεκτρίνη (spectrin).

Η λειτουργία του N-τελικού άκρου της πρωτεΐνης ζώνης 3 είναι να σταθεροποιηθεί η μεμβράνη του ερυθρού αιμοσφαιρίου στον κυτταροσκελετό (cytoskeleton). Και το σύμπλεγμα Rh (μέσω του C-τελικού άκρου) και η πρωτεΐνη ζώνης 3 (μέσω του N-τελικού άκρου) είναι γνωστό πως συνδέονται άμεσα στις περιοχές D2 και D3-D4, αντίστοιχα, της αγκυρίνης.

Φαίνεται επίσης η δυνατότητα της πρωτεΐνης RhAG να μεταφέρει το ιόν αμμωνίου, το οποίο συνδέεται με την εξωσorption του pH στην εξωκυττάρια και κυτταροπλασματική πλευρά.

Ο Giorgio Matassi και οι συνεργάτες του πρότειναν ότι οι πρωτεΐνες RhCE και RhD προέρχονται από την πρωτεΐνη RhAG, πρώιμα στο είδος των ψαριών¹⁹⁴, ενώ σε αντίθεση με την πρωτεΐνη RhAG, δεν υπάρχουν στοιχεία είτε από τα πειραματικά δεδομένα^{195,196}, είτε από τη προτεινόμενη δομή^{197,198}, ότι οι πρωτεΐνες RhCE και RhD λειτουργούν ως μεταφορείς αμμωνίας και πιθανόν έχουν δομικό ρόλο στη μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων¹⁹⁹.

Το σύμπλεγμα Rh στον άνθρωπο, όπως αναφέρθηκε, είναι τετραμερές, αποτελούμενο από δύο πολυπεπίδια RhAG και δύο πολυπεπίδια RhCE ή RhD^{166,200}. Όμως κρυσταλλογραφική μελέτη μέσω ακτίνων x, της πρωτεΐνης AmtB του *E.Coli* και της συγγενούς της πρωτεΐνης Amt-1 του μύκητα *Archaeoglobus fulgidus*, καταδεικνύει ότι οι πρωτεΐνες είναι τριμερείς, ενώ κάθε υπομονάδα τους έχει 11 διαμεμβρανικές έλικες και περιέχει ένα κεντρικό διάυλο μεταφοράς^{179,181} (σχήμα 21).



Σχήμα 21.

A. Στερεοδιάταξη του μονομερούς της Amt-1 του *Archaeoglobus fulgidus*.

Μπλε = N-τελικό άκρο, κόκκινο = C-τελικό άκρο. Οι 11 διαμεμβρανικές έλικες αριθμούνται.

B. Περιοχή σύνδεσης της αμμωνίας και διάυλος υποστρώματος. Το ιόν αμμωνίου πιθανόν σχηματίζει δεσμό υδρογόνου στην πλευρική αλυσίδα S208 στην εξωκυττάρια πλευρά της Amt-1, που σταθεροποιείται από αλληλεπίδραση π, με την πλευρική αλυσίδα W137.

5.6 ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΙ ΕΝΑΝΤΙ ΤΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ Rh

Τα αντισώματα Rh, δημιουργούνται μετά από έκθεση ατόμων σε ερυθρά αιμοσφαίρια, είτε με μετάγγιση είτε κατά την κύηση. Το αντιγόνο D, είναι το πιο ισχυρό ανοσογόνο και ακλουθούν τα αντιγόνα E, C, c και e. Είναι κυρίως αντισώματα IgG και παραμένουν στην κυκλοφορία για πολλά χρόνια, δεν συνδέουν συνήθως το σύστημα του συμπληρώματος και γι' αυτό δεν προκαλούν ενδοαγγειακή αιμόλυση. Η καταστροφή των ερυθρών αιμοσφαιρίων, γίνεται στο δικτυοενδοθηλιακό σύστημα στο σπλήνα, σχεδόν αποκλειστικά μέσω των μακρόφαγων (εξωαγγειακή αιμόλυση)¹¹.

Όταν λήπτες αίματος RhD(-), μεταγγισθούν με 200ml αίματος με ερυθρά αιμοσφαίρια RhD(+), θα προκληθεί ανοσολογική απάντηση και το 80% θα παράγει αντι-D^{73,201,202}, ενώ μόλις 0,1ml αίμα

του δότη RhD(+) μπορεί να ανοσοποιήσει ένα λήπτη RhD(-)²⁰³. Η ανοσολογική απάντηση έναντι των αντιγόνων RhD, είναι παρόμοια με την αντίδραση των εξαρτώμενων από αντίσωμα Τ-κυττάρων. Ο σχηματισμός υψηλής σχετικότητας αντι-D IgG, δεν μπορεί να επιτευχθεί χωρίς τα βοηθητικά Τ-κύτταρα (CD-4+)²⁰⁴. Επειδή τα άτομα με φαινότυπο RhD(-), είναι συχνά και RhE(-) ή RhC(-) μπορεί, μαζί με το αντι-D, να παράγουν και αντι-E ή αντι-C. Η παρουσία αντι-C, χωρίς αντι-D, είναι σπάνια. Το αντι-e, απαντάται συχνά ως αυτοαντίσωμα στην αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία, αλλά σπάνια ως αλλοαντίσωμα (alloantibodie)⁶⁶.

Είχε θεωρηθεί, ότι φορείς ασθενούς D, δεν ανοσοποιούνται έναντι του αντιγόνου D, (εκτός εάν η πυκνότητα του αντιγόνου είναι λιγότερο από 400 αντιγόνα ανά ερυθρό αιμοσφαίριο), ενώ φορείς ατελούς D, μπορούν να παράγουν αντι-D. Μελέτες, έχουν δείξει ότι οι θέσεις αντιγόνου ανά ερυθρό αιμοσφαίριο, διαφέρουν αισθητά, καθώς έχει βρεθεί ότι στους τύπους 1 και 2 του ασθενούς D, παρουσία απλότυπων dCe, η πυκνότητα των θέσεων αντιγόνων ήταν μικρότερη από 500 ανά ερυθρό αιμοσφαίριο²⁰⁵, ενώ σε άλλες μελέτες σε άτομα ασθενούς D, βρέθηκε ότι οι θέσεις αντιγόνου ανά ερυθρό αιμοσφαίριο, επεκτείνονταν από 70-4.000⁸⁹ ή από 1.500-7.000 θέσεις²⁰⁶.

Ως δότες ασθενούς D και ατελούς D, ερυθρά αιμοσφαίρια μπορούν να διεγείρουν την παραγωγή αντί-D σε έναν λήπτη RhD(-). Αυτό μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα, ένα άτομο το οποίο είναι χαρακτηρισμένο ως δότης RhD(+), όταν μεταγγιστεί να κατηγοριοποιείται ως RhD(-)⁷⁴.

Όπως έχει αναφερθεί, άτομα με φαινότυπο ασθενούς D δεν παράγουν αντι-D και καμία ανοσοποίηση με αλλοαντισώματα δεν έχει αναφερθεί για τους τύπους 1, 2 ή 3 ασθενούς D^{89,104,207}, ενώ άτομα με φαινότυπο ατελούς D, μπορούν να παράγουν αλλοαντισώματα⁷³.

5.7 ΧΡΟΝΟΣ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ Rh

Ο αριθμός των αντιγράφων του αντιγόνου D, κυμαίνεται από 10.000-25.000 ανά ερυθρό αιμοσφαίριο¹⁰⁴ και αυτό φαίνεται να εκφράζεται νωρίς κατά τη διάρκεια της ερυθροποίησης. Το αντι-D δεσμεύει το 1-3% των σχηματίζοντα "έκρηξη" (μιτώσεων) των κύτταρων της ερυθράς σειράς (Burst-Forming Unit, Erythroid / BFU-E), το 0-6% του σχηματίζοντα αποικίες ερυθρών αιμοσφαιρίων (Colony-Forming Unit, Erythrocyte / CFU-E) και με όλα τα ώριμα κύτταρα της ερυθροκυτταρικής σειράς²⁰⁸. Το αντι-D αντιδρά με τους προερυθροβλάστες (proerythroblasts), βασεόφιλους ερυθροβλάστες (basophilic erythroblasts), πολυχρωματόφιλους ερυθροβλάστες (polychromatophilic erythroblasts), και ορθοβλάστες

(normoblasts) σε ποσοστό 25%, 50%, 66%, και 75% αντίστοιχα, σε σύγκριση με τα ώριμα ερυθρά αιμοσφαίρια^{73,209,210}.

Η πρωτεΐνη RhAG, είναι ανιχνεύσιμη στα προγονικά αιμοποιητικά κύτταρα (CD34) που απομονώνονται από το αίμα ομφάλιου λώρου, μετά από καλλιέργεια για 3 έως 5 ημέρες, ενώ η πρωτεΐνη RhCCe εμφανίζεται μετά από 5 έως 7 ημέρες και η πρωτεΐνη RhD εμφανίζεται μετά από 9 έως 11 ημέρες, καλλιέργειας^{73,211}.

Στο έμβρυο, τα αντιγόνα Rh εκφράζονται στα ερυθρά αιμοσφαίρια από την 6^η εβδομάδα της κύησης²¹², και φαίνεται πως εκφράζονται μόνο στη ερυθροκυτταρική σειρά, ενώ προσπάθειες να εκφραστεί το αντιγόνο RhD στην επιφάνεια των κυττάρων εκτός των ερυθρών αιμοσφαιρίων, έχουν αποτύχει^{73,213}.

5.8 ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ αντι-D

Το σύστημα Rh, είναι το πιο πολύμορφο των ομάδων αίματος του ανθρώπου και μαζί με το σύστημα ABO είναι από κλινικής άποψης, τα πιο σημαντικά στην ιατρική των μεταγγίσεων, και καθώς τα αντιγόνα Rh είναι ιδιαίτερα ανοσογόνα, τα περισσότερα από τα αντισώματα Rh πρέπει να θεωρούνται ως πιθανές αιτίες των αιμολυτικών αντιδράσεων μετά από μετάγγιση και της αιμολυτικής νόσου του εμβρύου και του νεογνού^{74,199,214}.

Οι περισσότεροι τύποι αίματος καθορίζονται από αντιγόνα των ερυθρών αιμοσφαιρίων, που διαφέρουν από ένα ή δύο αμινοξέα, ενώ στην ομάδα Rh το αντιγόνο D, διαφέρει από τα αντιγόνα C/c και E/e σε 32 έως 35 αμινοξέα. Αυτή η μεγάλη διαφορά στα αμινοξέα είναι ο λόγος για τον οποίο τα αντιγόνα Rh είναι συχνά υποκινητές μιας ισχυρής ανοσολογικής αντίδρασης^{74,215,216}.

• Αντιδράσεις μετάγγισης:

Αιμολυτικές αντιδράσεις μετά από μετάγγιση, ιδιαίτερα επιβραδυνόμενες (delayer) αντιδράσεις, μπορεί να προκληθούν από τα αντι-D, αντι-C, αντι-E και αντι-e. Οι δοκιμασίες τυποποίησης του αίματος για το αντιγόνο RhD στους δότες αλλά και στους λήπτες αίματος έχει μειώσει την επίπτωση των αντιδράσεων μετά από μετάγγιση που προκαλούνται από τα αντι-D^{11,73}.

Όμως, η ευαισθητοποίηση σε άλλα αντιγόνα Rh, μπορεί να είναι ένα πρόβλημα στην ιατρική των μεταγγίσεων, ιδιαίτερα σε ασθενείς με την δρεπανοκυτταρική αναιμία (Sickle Cell Anemia / SCA), ιδιαίτερα στους Έγχρωμους, οι οποίοι είναι επίσης πιθανόν, να εκφράσουν τις παραλλαγές του αντιγόνου Rhe, και επομένως να παράγουν τα αντι-e, μαζί με άλλα αλλοαντισώματα Rh, αυξάνοντας τη δυσκολία στην εύρεση συμβατών δοτών αίματος^{217,218,219}.

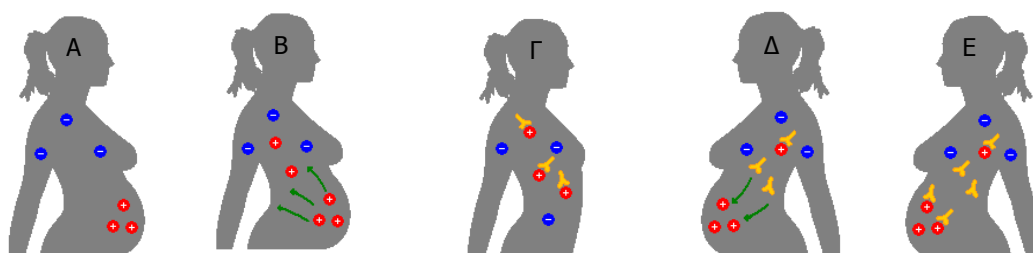
• **Αιμολυτική νόσος του εμβρύου και του νεογνού (Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn - HDFN):**

Η HDFN, πρωτοπεριγράφηκε το 1609, από μία Γαλλίδα μαία σε δίδυμα, όταν το ένα γεννήθηκε νεκρό με ύδρωπα και το δεύτερο είχε ίκτερο και κατέληξε αργότερα από πυρηνικό ίκτερο (kernikterus)²²⁰.

Οι δύο καταστάσεις συσχετίστηκαν πάλι το 1932, όταν ο Diamond και οι συνεργάτες του, δείξανε ότι ο ύδρωπας και ο πυρηνικός ίκτερος ήταν δύο εμφανίσεις της ίδιας νόσου, κατά την οποία, η αιμόλυση είχε ως αποτέλεσμα την εξωμυελική ερυθροποίηση (extramedullary erythropoiesis), οδηγώντας σε ηπατοσπληνομεγαλία και απελευθέρωση ερυθροβλαστών στην κυκλοφορία, μια κατάσταση που ορίστηκε ως ερυθροβλάσωση του νεογνού (erythroblastosis fetalis), ενώ η υποξαιμία, λόγω αναιμίας, οδηγεί σε καρδιακή κάμψη και γενικευμένο οίδημα (ύδρωπας)²²¹.

Η έμμεση χολερυθρίνη, που παράγεται από την αποδόμηση της αιμοσφαιρίνης, μεταφέρεται μέσω του πλακούντα στην κυκλοφορία της μητέρας, μεταβολίζεται στο ήπαρ της και αποβάλλεται με τα ούρα. Η αύξηση της τόσο στην κυκλοφορία, όσο και στο αμνιακό υγρό του εμβρύου δεν προκαλεί βλάβη. Αντιθέτως, μετά την γέννηση, το ανώριμο ήπαρ του νεογνού, αδυνατεί να τη μετατρέψει σε άμεση και να την αποβάλλει, με αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης της και την τοξικότητα στο εγκέφαλο (>340μmol/l, πυρηνικός ίκτερος)²²² κατάσταση συνήθως θανατηφόρα. Το 10% των νεογνών που έχουν επηρεαστεί και τα οποία επιβιώνουν έχουν σπαστική χοραιοαθέτωση, κώφωση και πνευματική καθυστέρηση^{14,220,223}.

Η ανακάλυψη της αιτίας της αιμόλυσης, έπρεπε να περιμένει την ανακάλυψη του συστήματος Rh το 1940 και τον καθορισμό σύντομα μετά, ότι η HDFN προκαλείται σε ένα έμβρυο RhD(+), μίας μητέρας RhD(-), η οποία είχε ανοσοποιηθεί με μέσω του πλακούντα μεταφορά ερυθρών αιμοσφαιρίων RhD(+) κατά την διάρκεια προηγούμενης εγκυμοσύνης⁶⁸ (σχήμα 22). Μητρικά αντισώματα (IgG) περνούν τον πλακούντα, συγκολλούν και καταστρέφουν τα εμβρυικά ερυθρά αιμοσφαίρια και ξεκινούν μια διαδικασία, που καταλήγει σε θάνατο από ύδρωπα σε 25% από τα επηρεασμένα έμβρυα και κατάληξη από πυρηνικό ίκτερο σε 25% από τα επηρεασμένα νεογνά²²⁰.



Σχήμα 22.

Ασυμβατότητα Rhesus και Rhesus ευαισθητοποίηση.

Ασυμβατότητα Rhesus ορίζεται η περίπτωση κατά την οποία μία γυναίκα RhD(-) φέρει έμβρυο RhD(+) (A). Ερυθρά αιμοσφαίρια του εμβρύου, εφ' όσον διέλθουν μέσω του πλακούντα στην κυκλοφορία της μητέρας (B), το ανοσολογικό της σύστημα παράγει αντι-D (Γ). Ευαισθητοποίηση συνήθως δεν προκύπτει κατά την πρώτη κύηση, διότι υπό φυσιολογικές συνθήκες ερυθρά αιμοσφαίρια του εμβρύου δεν διέρχονται προς την κυκλοφορία της μητέρας, λόγω του πλακουντιακού φραγμού. Αυτό συμβαίνει μόνο σε περιπτώσεις μικρορρήξεων των λαχνών κατά την διάρκεια της κύησης. Συνήθως όμως ερυθρά αιμοσφαίρια του εμβρύου διέρχονται προς την κυκλοφορία της μητέρας κατά τον τοκετό.

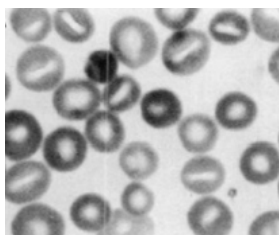
Αντισώματα και συνεπώς ευαισθητοποίηση παράγονται μαζί κατά την δεύτερη επαφή και τις επόμενες επαφές, των ερυθρών αιμοσφαιρίων RhD(+) με το ανοσολογικό της σύστημα της μητέρας, δηλαδή σε επόμενες κυήσεις (Δ). Έτσι αντισώματα διέρχονται από την κυκλοφορία της μητέρας μέσω του πλακούντα, προς το έμβryo και ενώνονται με τα RhD(+) ερυθρά αιμοσφαίρια του προκαλώντας αιμόλυση, με αποτέλεσμα ποικίλης βαρύτητας αναιμία του εμβρύου (E).

Το αντιγόνο D, αποτελεί περίπου 50% των περιπτώσεων αλλοανοσοποίησης στις μητέρες, ενώ το υπόλοιπο οφείλεται κυρίως στα ασύμβατα αντιγόνα K, c, C/G, E, και Fy^a και στα χαμηλής συχνότητας αντιγόνα των συστημάτων ομάδος αίματος Rh, MNS και Diego^{224,225,226}.

Κλινικού ενδιαφέροντος είναι ο διαχωρισμός μεταξύ φαινοτύπων ατελούς D και ασθενούς D, όταν προσδιορίζεται η κατάσταση μίας γυναίκας RhD, που επιθυμεί να κυοφορήσει. Επίτοκος με φαινότυπο ατελούς D μπορεί να δημιουργήσει αντι-D, ενώ είναι απίθανο με φαινότυπο ασθενούς D, και ο διαχωρισμός μεταξύ των φαινοτύπων ατελούς D και ασθενούς D με τα εμπορικά ορολογικά αντιδραστήρια είναι δύσκολος. Όπως αναφέρθηκε, η μέχρι σήμερα μετάγγιση ατόμων ασθενούς D, με αίμα RhD(+), υποδηλώνει ότι οι τύποι 1, 2 και 3 ασθενούς D, οι οποίοι αποτελούν περισσότερο από 90% των ατόμων ασθενούς D, δεν δημιουργούν αντι-D και μπορούν να δεχτούν αίμα RhD(+) με ασφάλεια^{89,104,207}.

• **Σύνδρομο ανεπάρκειας Rh (Rh deficiency syndrome) :**

Τα άτομα με φαινότυπο Rh_{null}, εμφανίζουν ένα ήπιο κλινικό σύνδρομο, αποκαλούμενο σύνδρομο ανεπάρκειας Rh, που χαρακτηρίζεται από χρόνια αιμολυτική αναιμία, στην οποία τα ερυθρά αιμοσφαίρια έχουν ανώμαλη μορφολογία (εικόνα 9) και ελαττωμένη ωσμωτική αντίσταση. Επίσης παρουσιάζουν αλλαγές στη βιοχημεία και στη φυσιολογία της μεμβράνης τους, η οποία έχει χαρακτηριστικές αλλαγές στη συμμετρία των φωσφολιπιδίων, στον όγκο των κυττάρων, αυξημένες ροές κατιόντων και αυξημένη δραστηριότητα της αντλίας Na⁺-K⁺ (Na⁺/K⁺ ATPase)^{227,228}.



Εικόνα 9.

Επίχρισμα αίματος όπου φαίνονται στοματοκύτταρα (stomatocytes) και σφαιροκύτταρα (spherocytosis), τα οποία είναι χαρακτηριστικά στο σύνδρομο ανεπάρκειας Rh.

- **Αιματολογικά νοσήματα και σύστημα Rh:**

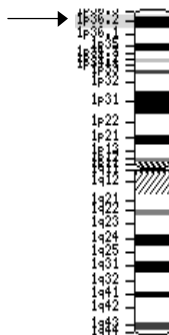
Έχουν βρεθεί ασθενείς, που πάσχουν από νοσήματα του αίματος, όπως οξεία ή χρόνια μυελογενή λευχαιμία (acute or chronic myelogenous leukemia)^{229,230}, μυελοϋπερπλαστικό ή μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο²³¹, να έχουν διαφορές του φαινότυπου Rh (μωσαϊκό Rh / Rh mosaicism)^{232,233,234} ή απώλεια των αντιγόνων Rh^{235,236}.

Παρά το γεγονός ότι σε ορισμένες περιπτώσεις, υπήρχε σχέση της απώλειας Rh με χρωμοσωμικές αποκλίσεις, δεν ανιχνεύεται καμία κυτταρογενετική ανωμαλία στο χρωμόσωμα 1^{237,238}.

5.9 ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΑΣΗ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ Rh

Ο γονιδιακός τόπος RH, βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 1 (p36.2-p34, εικόνα 10), αποτελεί περίπου 75kb του γενωμικού DNA και βρίσκεται κοντά σε τρία γονίδια το SMP1 (μικρής μεμβρανικής πρωτεΐνης 1 / Small Membrane Protein 1), τη P29-συνδεδεμένη πρωτεΐνη (P29-associated protein) και το NPD014^{17,239,240}.

Περιέχει δύο διαδοχικά γονίδια τα RHD και RHCE, με τις αλληλουχίες των νουκλεοτιδίων και τις αλληλουχίες των πρωτεϊνών τους να έχουν 96,5% και 91,6% ομολογία, αντίστοιχα⁷⁵, σε όλα τα εσώνια (introns) και τις κωδικοποιούσες περιοχές.



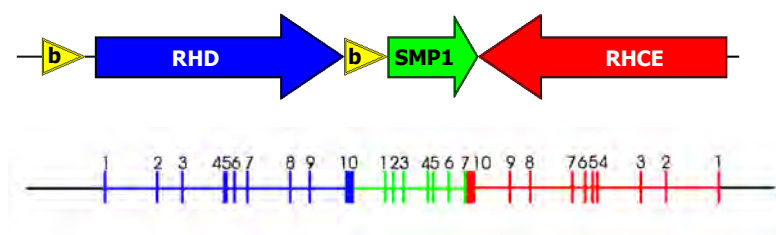
Εικόνα 10.

Χρωμόσωμα 1 όπου φαίνεται η θέση του γονιδίου RH (p36.2-p34).

Τα δύο γονίδια, αποτελούνται το κάθε ένα, από 10 εξώνια, έχουν σχηματισμό στο χρωμόσωμα ουραίο, με ουραίο τμήμα (tail-to-tail / 5'-RHD-3'-3'-RHCE-5') και το RHD βρίσκεται ανάμεσα σε δύο περιοχές 9kbp, με 98,6% ταυτοποίηση, που ονομάζονται θήκες Rh (Rh boxes)^{136,241}.

Οι θήκες Rh, είναι ομόλογες και έχουν τον ίδιο προσανατολισμό. Η μία θήκη Rh βρίσκεται κοντά στο 5' άκρο του γονιδίου RHD και σταματά περίπου 4.900bp από το

κωδικόνιο έναρξης στο 5' άκρο (upstream) του γονιδίου RHD, ενώ η άλλη θήκη Rh βρίσκεται κοντά στο 3' άκρο (downstream) του γονιδίου RHD και αρχίζει 104bp μετά από το κωδικόνιο τερματισμού του (σχήμα 23).



Σχήμα 23.

Σχηματική απεικόνιση του γενετικού τόπου του γονιδίου RH, όπου φαίνονται οι θέσεις και οι προσανατολισμοί των γονιδίων και των θηκών Rh, καθώς και τα εξώνια και οι αριθμοί τους.

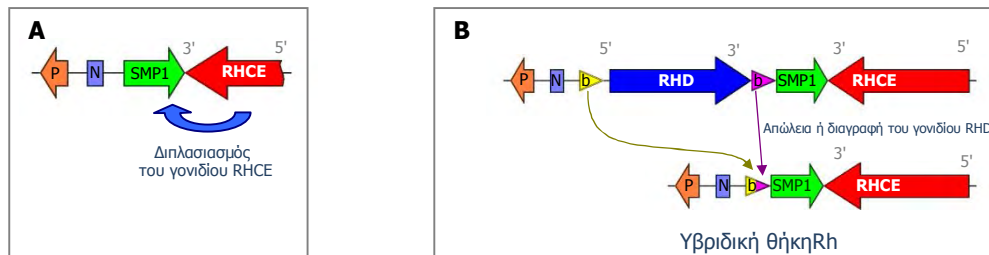
Το γονίδιο SMP1, που βρίσκεται μεταξύ του γονιδίου RHD και του γονιδίου RHCE, θεωρείται μέλος μιας οικογένειας μικρών πρωτεϊνικών μεμβρανών, μοριακού βάρους 18kDa και δεν υπάρχει καμία ένδειξη ότι η λειτουργία του σχετίζεται με το γονίδιο RH ή ότι εκφράζεται στην επιφάνεια των ερυθρών αιμοσφαιρίων. πιθανόν συντηρείται κατά την διάρκεια της εξέλιξης και εκφράζεται κυρίως στο κυτταρόπλασμα τους^{92,242}.

Το γονίδιο, παρουσιάζει ομολογία με ένα ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης στο χρωμόσωμα 21. Η θέση του μεταξύ των δύο γονιδίων RH, υποδηλώνει ότι οποιοσδήποτε πολυμορφισμός του, συνδέεται στενά με έναν συγκεκριμένο απλότυπο Rh και, ότι οι λειτουργικές μεταλλάξεις του, μπορεί να προκαλέσουν πίεση επιλογής (selection pressure) για ή έναντι σε συγκεκριμένους απλότυπους Rh. Τέτοιοι παράγοντες, θα μπορούσαν να εξηγήσουν ερωτήματα της κατανομής των απλότυπων Rh, όπως η υψηλή συχνότητα του αντιγόνου Rh(-) στον ευρωπαϊκό πληθυσμό¹³⁶.

Τα γονίδια RH, έχουν μελετηθεί σε ζώα (όπως χιμπατζήδες, γορίλλες, ουρακοτάγκους, μπαμπούνους, πίθηκους και ποντικούς) προσπαθώντας να αποδείξουν την καταγωγή των ανθρώπινων γονιδίων RH^{243,244,245} και φάνηκε, ότι το γονίδιο RH προήλθε από τον διπλασιασμό ενός προγονικού γονιδίου και ότι ο διπλασιασμός αυτός εμφανίστηκε κατά τη διάρκεια της εξέλιξης των ανώτερων θηλαστικών, δηλαδή περίπου πριν 250-346 εκατομμύρια χρόνια^{194,244}.

Υπολογίζεται επίσης από φυλογενετικές μελέτες, ότι ο χρόνος συνένωσης (coalescence) των ακολουθιών του cDNA των γονιδίων RH στα θηλαστικά είναι 100 εκατομμύρια χρόνια²⁴⁶.

Το γονίδιο RHCE, θεωρείται το προγονικό γονίδιο, ενώ το γονίδιο RHD το αποτέλεσμα διπλασιασμού, που συνέβη πριν 5,5-11,9 εκατομμύρια χρόνια^{246,247}, ενώ κατά τη διάρκεια του διπλασιασμού του προγονικού γονιδίου RH δημιουργήθηκαν και οι θήκες Rh¹³⁶ (σχήμα 24).



Σχήμα 24.

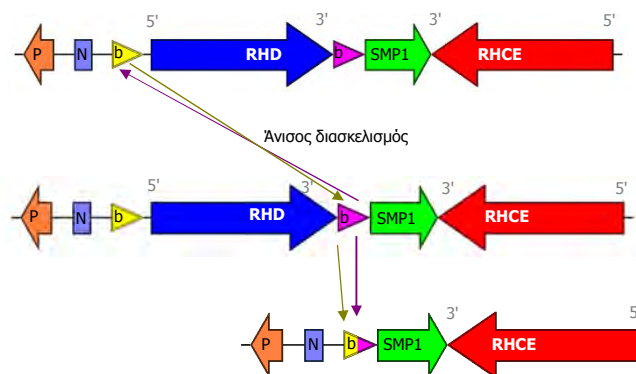
Σχηματική απεικόνιση του διπλασιασμού του γονιδίου RHCE (A) και της διαγραφής του γονιδίου RHD (B).

P = P29-συνδεδεμένη πρωτεΐνη

N = NPD014

b = θήκη Rh.

Η διαγραφή του γονιδίου RHD, μπορεί να προέκυψε από άνιση χιασματυπία (ή επιχιασμό / unequal crossover, σχήμα 25), η οποία συμβαίνει, όταν δύο τμήματα DNA είναι ιδιαίτερα ομόλογα, όπως αυτά των θηκών Rh⁹⁰.



Σχήμα 25.

Σχηματική απεικόνιση της διαγραφής του γονιδίου RHD.

Η διαγραφή του γονιδίου RHD προέκυψε από τον επανασυνδυασμό (recombination) μεταξύ των θηκών Rh δύο διαφορετικών χρωμοσωμάτων. Το προϊόν αυτού του άνισου διασκελισμού στα γονίδια RH, στερείται εντελώς το RHD γονίδιο.

Αποτύπωση κατά Southern (Southern blot), των cDNA ανθρώπινων γονιδίων RH, έδειξε ότι μόνο 3 είδη φέρουν περισσότερα από ένα γονίδια RH: οι χιμπατζήδες, οι γορίλλες και οι άνθρωποι^{248,249,250}. Όμως, οι περισσότεροι πίθηκοι και ένας από τους 10 γορίλλες, που μελετήθηκαν βρέθηκαν επίσης να φέρουν μικρά Rh-συνδεδεμένα τμήματα στο 5' άκρο (Rh-related 5'-fragments), που αντιστοιχούν πιθανόν στο περικομμένο (truncated) γονίδιο RH. Αυτό το γονίδιο, μπορεί να είναι το αποτέλεσμα ενός μερικού διπλασιασμού ή μπορεί να παρέμεινε από ένα προγονικό, μερικώς διαγραμμένο γονίδιο²⁴⁸. Στα ποντίκια, δεν βρέθηκε καμία ομόλογη ακολουθία ούτε σε ανθρώπινες θήκες Rh, ούτε σε επιπλέον γονίδια RH²⁴².

• Πρωτεΐνες Rh

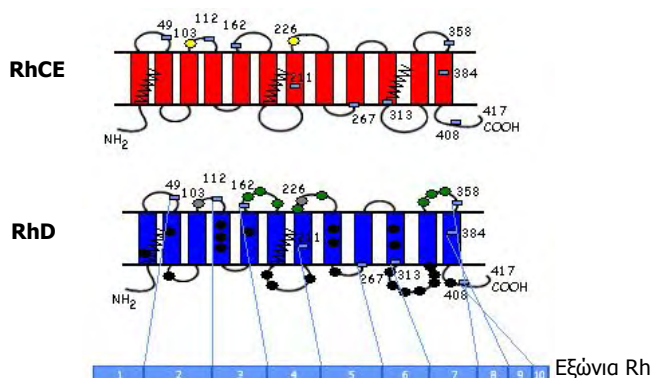
Τα αντιγόνα του συστήματος Rh, συνδέονται με μεμβρανικές πρωτεΐνες των ερυθρών αιμοσφαιρίων, οι οποίες ονομάζονται **πολυπεπίδια Rh30** (Rh30 polyproteins)^{251,252}. Κάθε ένα από τα γονίδια RHD και RHCE, κωδικοποιεί στην επιφάνεια των ερυθρών αιμοσφαιρίων μια πρωτεΐνη περίπου 417 αμινοξέων, μοριακού βάρους 30kDa, που διαπερνά την μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων 12 φορές, σχηματίζοντας 6 εξωκυττάρια και 5 ενδοκυττάρια βρόχους καθώς και 7 ενδοκυτταρικά τμήματα, με τα δύο άκρα (N-τελικό και το C-τελικό) να βρίσκονται στην κυτταροπλασματική πλευρά^{124,253,254}. Η πρωτεΐνη αυτή ανήκει σε οικογένεια μη γλυκοζυλιωμένων, παλμιτοϋλιωμένων (palmitoylated) και πολυτοπικών (polytopic) πρωτεϊνών^{106,166,167}, των οποίων δύο διαφορετικά είδη έχουν προσδιοριστεί:

Το πρώτο κλωνοποιημένο αντίγραφο Rh (Rh30A / RhIXb)^{165,210} κωδικοποιεί τα αντιγόνα RhC και RhE (**πολυπεπίδιο RhCE**)^{81,167,215}, ενώ έχει κλωνοποιηθεί και ένα δεύτερο αντίγραφο Rh (Rh30D / RhXIII) που κωδικοποιεί ένα διαφορετικό πολυπεπίδιο από αυτό του Rh30A^{96,97}. Ύστερα από μελέτες της έκφρασης του cDNA του πολυπεπτιδίου Rh30D σε κύτταρα K562, βρέθηκε το **πολυπεπίδιο RhD**^{215,255}.

Το RhD είναι μια πρωτεΐνη 30kDa, μη γλυκοζυλιωμένη, με μικρή πυκνότητα σε σχέση με την επαναλαμβανόμενη δομή των αντιγόνων του συστήματος ABO²⁰⁴. Ανάλογα με το αλληλόμορφο γονίδιο, οι πρωτεΐνες RhD και RhCE, διαφέρουν σε 32 έως 37, από τα 417 αμινοξέα και οι διαφορές είναι διασκορπισμένες σε όλη την ακολουθία αμινοξέων της πρωτεΐνης^{74,165,256}. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με τα περισσότερα αντιγόνα των ομάδων αίματος, τα οποία κωδικοποιούνται από ένα γονίδιο με αλληλόμορφα γονίδια, τα οποία διαφέρουν σε ένα μόνο ή σε μερικά αμινοξέα, ενώ δεν υπάρχουν διαφορές στα N-τελικά και C-τελικά άκρα⁹⁶. Μόνο ένας μικρός αριθμός αυτών των διαφορών βρίσκεται εξωκυτταρικά και είναι περιορισμένες στο βρόχο 3, που κωδικοποιούνται από το εξώνιο 4, στο βρόχο 4, που κωδικοποιούνται από το εξώνιο 5, και στο βρόχο 6, που κωδικοποιούνται από το εξώνιο 7, ενώ στο βρόχο 2 που κωδικοποιείται από το εξώνιο 2, το αλληλόμορφο γονίδιο c, και όχι το C, του γονιδίου RHCE, διαφέρει από την πρωτεΐνη RhD. Η ανάλυση της ακολουθίας αμινοξέων, δείχνει ότι τα πρώτα 41 αμινοξέα στο N-τελικό άκρο της πρωτεΐνης RhD και της πρωτεΐνης RhCE είναι όμοια^{92,96,210}.

Οι πρωτεΐνες Rh, θεωρείται ότι αλληλεπιδρούν με τη λιπιδιακή διπλοστοιβάδα με παλμιτοϋλίωση, όπου τα ακετυλιωμένα κατάλοιπα (acylated residues) του παλμιτικού οξέος (palmitic acid), είναι συνδεδεμένα με τις κυστεΐνες των πλευρικών αλυσίδων^{200,252} (σχήμα 26). Αυτά τα κυστεϊνικά κατάλοιπα, θεωρείται ότι βρίσκονται στο όριο του κυτταροπλάσματος με

την λιπιδιακή διπλοστοιβάδα και τα μοτίβα (motifs) Cys-Leu-Pro, που πλαισιώνονται από τα φορτισμένα αμινοξέα (2 στη πρωτεΐνη RhD και 3 στη πρωτεΐνη RhCE) είναι οι πιθανοί υποψήφιοι (αν και 2 άλλα κυστεϊνικά κατάλοιπα στις θέσεις 315 και 316 μπορεί να είναι εναλλακτικές περιοχές παλμιτοϋλίωσης)^{165,200}. Αυτή η αλληλεπίδραση μπορεί να εξηγήσει γιατί η αλλαγή στην συγκέντρωση της χοληστερόλης των μεμβρανών μπορεί να έχει επιπτώσεις στη δυνατότητα πρόσβασης του αντιγόνου D^{73,257}.



Σχήμα 26.

Σχηματική απεικόνιση των πρωτεϊνών των RhCE και RhD.

Οι RhCE και RhD προβλέπονται για να έχουν παρόμοια τοπολογία. Η περιοχή της πρωτεΐνης RhD που κωδικοποιείται από κάθε εξώνιο απεικονίζεται από τα αριθμημένα γαλάζια τετράγωνα, τα οποία αντιπροσωπεύουν την αρχή και το τέλος κάθε εξωνίου. Από τα D-ειδικά αμινοξέα, τα 8 βρίσκονται στην εξωκυττάρια πλευρά (πράσινοι κύκλοι) και τα 24 στη διαμεμβρανική και κυτταροπλασματική πλευρά (μαύροι κύκλοι).

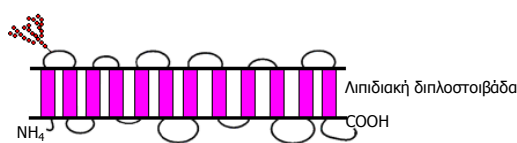
Οι κίτρινοι κύκλοι απεικονίζουν τα αμινοξέα που είναι βασικά για τα αντιγόνα C/c (Ser103Pro) και E/e (Pro226Ala) στο 2^ο και 4^ο εξωκυττάριο βρόγχο, αντίστοιχα, και οι γκρι κύκλοι απεικονίζουν τη Ser103 και την Ala226 στην πρωτεΐνη RhD. Οι τεθλασμένες (zigzag) γραμμές απεικονίζουν τα μοτίβα Cys-Leu-Pro που περιλαμβάνονται πιθανόν στις περιοχές παλμιτοϋλίωσης.

• Rh-συνδεδεμένη γλυκοπρωτεΐνη (Rh-Associated Glycoprotein / RhAG)

Η RhAG (ή Rh50), είναι μια N-γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη, που διαπερνά την μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων 12 φορές (α-έλικες, M0-M11) (σχήμα 27), έχει μοριακό βάρος 50kDa, αποτελείται από 409 αμινοξέα και κωδικοποιείται από το γονίδιο RHAG που βρίσκεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 6 (p11-p21.1)^{107,198} και έχει ταυτοποίηση με την ακολουθία αμινοξέων των πρωτεϊνών Rhce και RhD, 39,2% και 38,5%, αντίστοιχα^{73,96,165}.

Εξωκυττάρια πλευρά

Κυτταροπλασματική πλευρά



Σχήμα 27.

Σχηματική απεικόνιση της γλυκοπρωτεΐνης RhAG. Οι κόκκινοι κύκλοι απεικονίζουν τη N-γλυκάνη, στον πρώτο βρόχο της πρωτεΐνης RhAG.

Με την ανακάλυψη της ακολουθίας αμινοξέων της ανθρώπινης πρωτεΐνης RhAG, βρέθηκαν δύο διαφορετικά αντίγραφα, που μοιάζουν με τη πρωτεΐνη RhAG (RhAG-like), με ταυτοποίηση αμινοξέων 46% και 39% στο νηματοειδή σκώληκα *Caenorhabditis elegans*²⁵⁸ και ένα αντίγραφο RhAG-like στο θαλάσσιο σφουγγάρι *Geodia cydonium*, με ταυτοποίηση αμινοξέων 47%²⁵⁹. Επίσης αντίγραφα βρέθηκαν στο βλεννομύκητα *Dictyostelium discoideum* και στη μύγα των φρούτων *Drosophila melanogaster*²⁶⁰, καθώς και στο ποντίκι και στο πίθηκο του γένους *macaque*^{244,245}. Η υψηλή ομολογία μεταξύ της πρωτεΐνης RhAG και της πρωτεΐνης Rh, βρίσκεται στα διαμεμβρανικά τμήματα τους και προσδίδει στη πρωτεΐνη RhAG ένα διαχρονικά διατηρημένο λειτουργικό ρόλο, καθώς δεν είναι παρούσα μόνο στα ανώτερα σπονδυλωτά αλλά και σε πρωτόγονες μορφές ζωής^{244,260}.

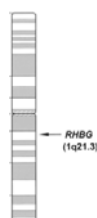
• Μη ερυθροκυτταρικές πρωτεΐνες Rh

Δύο μέλη της οικογένειας πρωτεϊνών Rh εκφράζονται σε μη ερυθροκυτταρικούς ιστούς:

- Β γλυκοπρωτεΐνη (*B Glycoprotein / RhBG*)

Ο Zhi Liu και οι συνεργάτες του, χρησιμοποιώντας εκκινητές (primers) βασισμένους στην ακολουθία αμινοξέων της πρωτεΐνης RhBG των ποντικιών, κλωνοποίησαν μια ανθρώπινη μερική ακολουθία της πρωτεΐνης RhBG με PCR, μιας cDNA βιβλιοθήκης ήπατος²⁶¹ και βρήκαν, ότι η RhBG αποτελεί μια N-γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη, που διαπερνά την μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων 12 φορές, έχει μοριακό βάρος 50kDa, αποτελείται από 458 αμινοξέα και έχει ταυτοποίηση 85% με την ακολουθία αμινοξέων των ποντικιών. Για να καθορίσουν τη θέση του ανθρώπινου γονιδίου RHBG, το γενωμικό DNA, που απομονώθηκε από κλώνους BAC, σημάνθηκε και χρησιμοποιήθηκε ως ανιχνευτής (probe) στη φθορίζουσα in situ υβριδοποίηση (Fluorescence In Situ Hybridization / FISH) με χρώση χρωμοσώματων ενδιάμεσης φάσης (paint interphase chromosomes).

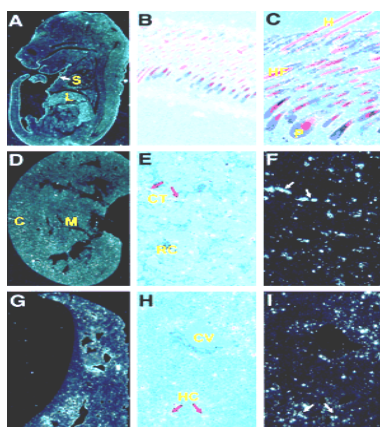
Τα αποτελέσματα της ανάλυσης FISH, έδειξαν ότι το γονίδιο RHBG βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του ανθρώπινου χρωμοσώματος 1 (q21.3, εικόνα 11) και συγκεκριμένα βρίσκεται μέσα στην υπεύθυνη περιοχή για την αυτοχρωμοσωματικά επικρατούντα κυστική νόσο του μυελού των νεφρών (autosomal dominant medullary cystic kidney disease)²³⁹.



Εικόνα 11.

Χρωμόσωμα 1 (q21), όπου φαίνεται η θέση του γονιδίου RHBG.

Με αποτύπωση κατά Northern (Northern blot), βρήκανε επίσης ένα κύριο και μερικά δευτερεύοντα αντίγραφα να εκφράζονται στο νεφρό και πολλά αντίγραφα με μέτρια έκφραση στο ήπαρ και την ωοθήκη, ενώ με *in Situ* υβριδοποίηση (*in Situ* hybridization) ιστών από ποντίκια βρήκαν έκφραση της πρωτεΐνης Rhbg, στις θηλές του χορίου του δέρματος και στη θηλή της τρίχας. Στο νεφρό, εκφράστηκε στο επιθήλιο των εσπειραμένων σωληναρίων και στην αγκύλη του Henle, ενώ στο ήπαρ περιορίστηκε στα ηπατοκύτταρα²⁶¹ (εικόνα 12).



Εικόνα 12.

Έκφραση της πρωτεΐνης Rhbg στα έμβρυα ποντικών και σε ενήλικους ιστούς με *in Situ* υβριδοποίηση του RNA.

A = έκφραση της πρωτεΐνης Rhbg σε έμβρυο ποντικών 16,5 ημερών: δέρμα (S) και ήπαρ (L)

B και C = χαμηλής και υψηλής ενίσχυση της έκφρασης της πρωτεΐνης Rhbg στο δέρμα (H=τρίχα HF=τριχοθυλάκιο, P=θηλή).

D = σήμα της πρωτεΐνης Rhbg σε ενήλικο νεφρό ποντικών (C=φλοιός, M=μυελός)

E = υψηλή ενίσχυση της έκφρασης της πρωτεΐνης Rhbg στο νεφρό (CT=εσπειραμένα σωληναρία (βέλη), RC=νεφρική κάψα)

F = ίδια με E

G = έκφραση της πρωτεΐνης Rhbg στο ήπαρ

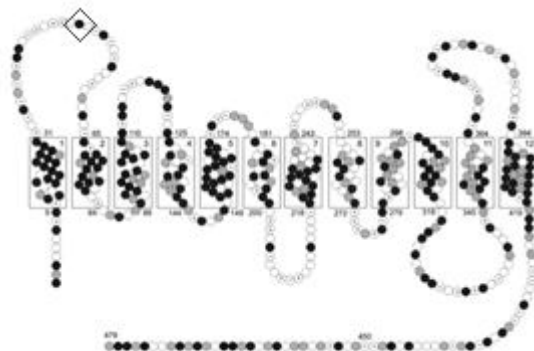
H = υψηλή ενίσχυση της έκφρασης πρωτεΐνης Rhbg στο ήπαρ (HC=ηπατοκύτταρο (βέλη), CV=κεντρική φλέβα)

I = ίδια με H.

- C γλυκοπρωτεΐνη (C Glycoprotein / RhCG)

Σε μια προηγούμενη μελέτη τους, ο Zhi Liu και οι συνεργάτες του, χρησιμοποιώντας εκκινητές βασισμένους στην ακολουθία αμινοξέων της πρωτεΐνης Rhcg των ποντικών, κλωνοποίησαν μια ανθρώπινη μερική ακολουθία της πρωτεΐνης RhCG με RT-PCR, μιας cDNA βιβλιοθήκης νεφρών²⁶². Βρήκαν, ότι η RhCG, αποτελεί μια αρνητικά φορτισμένη υδρόφοβη N-γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη, που διαπερνά την μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων 12 φορές, έχει μοριακό βάρος 46kDa, αποτελείται από 479 αμινοξέα και έχει ταυτοποίηση 77% και ομοιότητα 90% με την ακολουθία αμινοξέων των ποντικών, ενώ ταυτοποίηση 56% με την πρωτεΐνη RhBG.

Η πρωτεΐνη RhCG έχει 3 πιθανές N-γλυκοζυλιωμένες περιοχές, μια από τις οποίες βρίσκεται στο N-τελικό εξωκυττάριο βρόχο, και έχει και ένα επιμηκυμένο C-τελικό άκρο σε αντίθεση με τις ομόλογες ερυθροκυτταρικές πρωτεΐνες του πίθηκου του γένους *macaque* (σχήμα 28).



Σχήμα 28.

Τοπολογία της πρωτεΐνης RhCG.

Φαίνονται οι έλικες της πρωτεΐνης που διαπερνούν την μεμβράνη 12 φορές και οι θέσεις των αμινοξέων τους.

Μαύροι κύκλοι = υδρόφοβα αμινοξέα, δηλαδή Phe, Ile, Leu, Met, Val και Trp

γκρίζοι κύκλοι = μη πολικά αμινοξέα, δηλαδή Gly, Ala, και Pro

άσπροι κύκλοι = πολικά αμινοξέα, δηλαδή Ser, Cys, Thr, Asn, Gln και Tyr

+ = θετικά φορτισμένα αμινοξέα, δηλαδή Lys, Arg και His

- = αρνητικά φορτισμένα αμινοξέα, δηλαδή Asp και Glu.

Επίσης φαίνεται με ρόμβο, η N-γλυκοζυλιωμένη περιοχή, στον πρώτο εξωκυττάριο βρόχο, στη θέση 48 έως 50.

Η χρωμοσωμική θέση του ανθρώπινου γονιδίου RHCG, χαρτογραφήθηκε με φθορίζουσα *in situ* υβριδοποίηση, χρησιμοποιώντας δύο γενωμικούς κλώνους BAC ως ανιχνευτές και τα αποτελέσματα έδειξαν, ότι το γονίδιο RHCG, βρίσκεται στο βραχύ σκέλος του χρωματοσώματος 15²⁶² (q25, εικόνα 13), κοντά στον γενετικό τόπο για την τυροσιναιμία τύπου I (type I tyrosinemia disease), αν και η φαινοτυπική σχέση του με τη νόσο είναι άγνωστη^{262,263}.

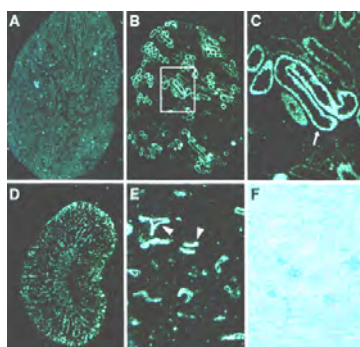


Εικόνα 13.

Χρωμόσωμα 15 (15q25), όπου φαίνεται η θέση του γονιδίου RHCG.

Με αποτύπωση κατά Northern, βρήκαν υψηλή έκφραση ενός αντιγράφου της πρωτεΐνης RhCG, που αποτελεί 2kb του γενωμικού DNA, στο νεφρό καθώς και στον εγκέφαλο, στον όρχι, στο πλακούντα, στο πάγκρεας, στο προστάτη, και στο νεφρό

εμβρύου, ενώ με *in Situ* υβριδοποίηση βρήκαν ισχυρή έκφραση στα σπερματογόνα σωληνάρια ποντικών και στο νεφρικό φλοιό και μυελό, και κυρίως στα αθροιστικά σωληνάρια²⁶² (εικόνα 14).



Εικόνα 14.

Έκφραση της πρωτεΐνης Rhcg σε ενήλικους ιστούς ποντικών με *in Situ* υβριδοποίηση του RNA.

A = έκφραση της πρωτεΐνης Rhcg

B = υψηλή ενίσχυση της έκφρασης της πρωτεΐνης Rhcg στον όρχι

C = μεγέθυνση του πλαισίου της B, υψηλή ενίσχυση της έκφρασης της πρωτεΐνης Rhcg στα σπερματογόνα σωληνάρια (βέλος)

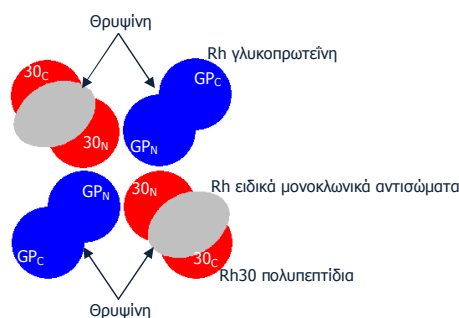
D = σήμα της πρωτεΐνης Rhcg στο νεφρό

E και F = υψηλή ενίσχυση της έκφρασης της πρωτεΐνης Rhcg στο νεφρό, στα αθροιστικά σωληνάρια (βέλη).

• Σύμπλεγμα Rh (Rh complex)

Το σύμπλεγμα της πρωτεϊνικής οικογένειας RH, έχει μοριακό βάρος 170kDa²⁰⁰ και είναι τετραμερές, δηλαδή αποτελείται από δύο μόρια πρωτεΐνης RhAG και δύο μόρια πρωτεΐνης RhCE ή RhD που σταθεροποιούνται και στο N-τελικό και στο C-τελικό άκρο, όμως ο τρόπος σύνδεσης του πυρήνα του συμπλέγματος με τις βοηθητικές πρωτεΐνες Rh, παραμένει ασαφής^{90,166,167}.

Ένα ιδιαίτερο στοιχείο για την διαμόρφωση του συμπλέγματος Rh, είναι ότι οι πρωτεΐνες Rh30 και οι γλυκοπρωτεΐνες Rh50, είναι παρούσες ως σύμπλεγμα στη μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων^{264,265,266} (σχήμα 29) και φαίνεται πως συγκροτούν τον πυρήνα του συμπλέγματος με την συμμετοχή της γλυκοφερίνης B και πιθανόν και της ιντεγκρίνη-συνδεδεμένη πρωτεΐνης, της γλυκοπρωτεΐνης LW και της γλυκοπρωτεΐνης Fy^{267,268}.



Σχήμα 29.

Σχηματική απεικόνιση της οργάνωσης των δύο πολυπεπτιδίων RhAG (Rh50) και των δύο πολυπεπτιδίων (Rh30) RhCE ή RhD στο σύμπλεγμα Rh. Καθένα από τα πολυπεπτιδία Rh (κόκκινο), αποτελείται από δύο περιοχές που βρίσκονται μέσα στη λιπιδιακή διπλοστοιβάδα, κάθε μια από τις οποίες περιέχει 6 διαμεμβρανικές έλικες και μπορεί να κοπεί από την θρυψίνη (trypsin). Τα πολυπεπτιδία Rh30 και η γλυκοπρωτεΐνη Rh50 (μπλε) αλληλεπιδρούν μέσω των N-τελικών άκρων τους (30N και GPN), και τα Rh-ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα (γκρι) λειτουργούν ως γέφυρα που σταθεροποιεί την σύνδεση μεταξύ των N-τελικών και C-τελικών άκρων των πολυπεπτιδίων Rh30.

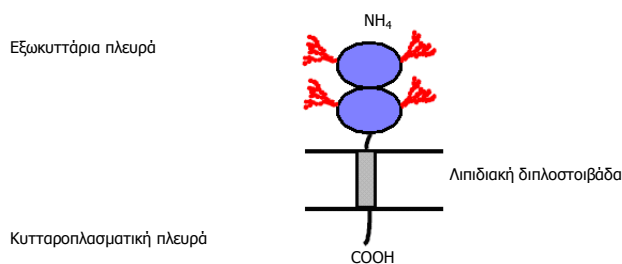
• Βοηθητικές πρωτεΐνες Rh (Rh accessory proteins)

Οι βοηθητικές πρωτεΐνες που συνδέονται με το σύμπλεγμα Rh, τα αντιγόνα και η θέση γονιδίων τους, συνοψίζονται στον πίνακα 17.

Πίνακας 17. Βοηθητικές πρωτεΐνες που συνδέονται με το σύμπλεγμα Rh, αντιγόνα και θέση των γονιδίων τους		
Rh βοηθητικές πρωτεΐνες	Αντιγόνα	Γονίδιο
Γλυκοπρωτεΐνη LW (σύστημα LW)	LW	19p13.3
Πρωτεΐνη συνδεδεμένη με ιντεγκρίνη- (IAP)	Κανένα γνωστό	3q13
Γλυκοφερίνη B (GPB)	'N,'S, s, U	4q28-q31
Γλυκοπρωτεΐνη Fy (σύστημα Duffy)	FY*A, FY*B, κα	1q22-q23
Band 3 (AE1)	Di(a/b), Wf(a/b), Wd(a), κα	17q12-q21

- Γλυκοπρωτεΐνη LW (Glycoprotein LW / Landsteiner-Wiener blood group glycoprotein ή ICAM-4 / CD242 antigen)

Είναι μια μεμβρανική πρωτεΐνη τύπου I, 241 αμινοξέων, με μοριακό βάρος 42kDa, η οποία αποτελείται από ένα εξωκυττάριο N-τελικό άκρο, με 4 περιοχές γλυκοζυλίωσης (σχήμα 30), μια διαμεμβρανική περιοχή και ένα κυτταροπλασματικό C-τελικό άκρο, που δεν εμφανίζει ομοιότητα με τις πρωτεΐνες Rh²⁶⁹.



Σχήμα 30.

Μοντέλο της γλυκοπρωτεΐνης LW.

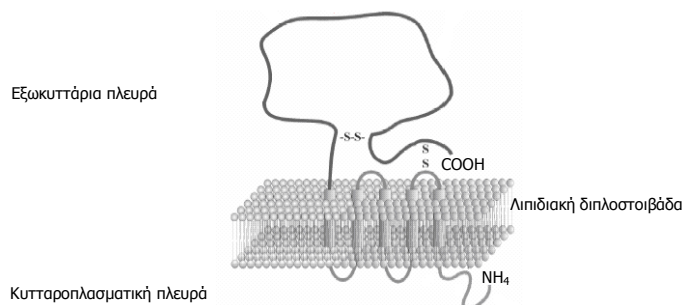
Διαπερνά την μεμβράνη μία φορά και έχει 4 περιοχές γλυκοζυλίωσης (κόκκινο) στο N-τελικό άκρο.

Η γλυκοπρωτεΐνη LW, εμφανίζει ομοιότητα με τα μεσοκυττάρια μόρια προσκόλλησης (Intercellular Adhesion Molecules / ICAMs), τα οποία είναι συνδέτες (ligands) για τη β2 ιντεγκρίνη (ή ενσωματίνη / integrin), και θεωρείται συνδέτης για την ιντεγκρίνη LFA-1 (Lymphocyte function-associated antigen 1 / συνδεδεμένο με την λειτουργία των λεμφοκυττάρων αντιγόνο 1 ή αLβ2, CD11a/CD18)^{73,270}.

Το γονίδιο LW, βρίσκεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 19 (p13.37) και περιέχει 3 εξώνια που αποτελούν περίπου 2,65kbp του γενωμικού DNA²⁶⁹.

- Πρωτεΐνη συνδεδεμένη με ιντεγκρίνη (*Integrin-associated protein / IAP* ή *CD47, BRIC 125 glycoprotein, AgOAB, 1D8*)

Είναι μια μεμβρανική πρωτεΐνη τύπου II, με μοριακό βάρος 93kDa, η οποία διαπερνά τη μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων 5 φορές (σχήμα 31) και αποτελείται από ένα εξωκυττάριο, υδρόφοβο C-τελικό άκρο, μια διαμεμβρανική περιοχή^{271,272,273} και ένα κυτταροπλασματικό, υδρόφιλο N-τελικό άκρο με συνδεδεμένες πιθανόν 6 γλυκάνες^{274,275}.



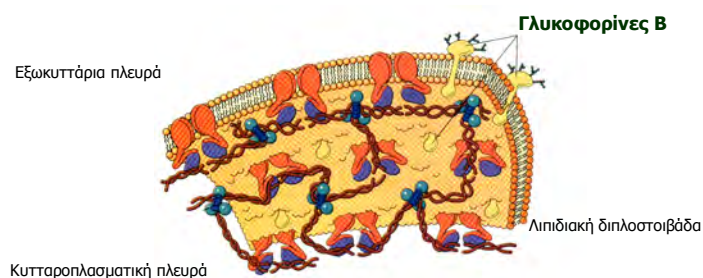
Σχήμα 31.
Προτεινόμενη τοπολογία της IAP.

Το γονίδιο IAP, βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 3 (q13.1 q13-2)²⁷⁶.

Η πρωτεΐνη IAP, φέρει τα αντιγόνα του συστήματος ABO, αλλά κανένα άλλο γνωστό αντιγόνο των ομάδων αίματος με πρωτεϊνική δομή και επίσης εμφανίζεται με διαφορετικές ισομορφές σε διάφορους ιστούς όπου συνδέεται με την ιντεγκρίνη β3^{274,277}, ενώ στα ερυθρά αιμοσφαίρια δεν συνδέεται με τις ιντεγκρίνες, αλλά με την θρομβοσποδίνη (*thrombospondin*)²⁷² και πιθανόν αποτελεί δίαυλο για την μεταφορά ασβεστίου²⁷⁸.

- Γλυκοφορίνη B (*Glycophorin B / GPB* ή *Ss sialoglycoprotein (SGP) / δ-SGP / PAS-3*)

Είναι μια μεμβρανική σιαλοπρωτεΐνη τύπου I, που φέρει O-γλυκάνες και καμία N-γλυκάνη^{279,280} (εικόνα 15).



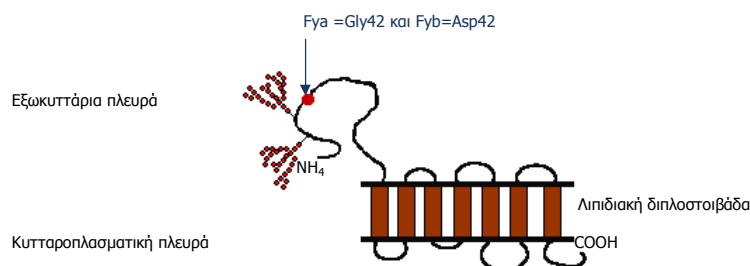
Εικόνα 15.
Σχηματική απεικόνιση της γλυκοφορίνης B.

Το γονίδιο GPB (GYPB), βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμόσωματος 4 (q28-q31)^{280,281}. Η πρωτεΐνη GPB, φέρει το αντιγόνο N του συστήματος MN, καθώς επίσης και το αντιγόνο S ή s του συστήματος Ss, που καθορίζεται από τον πολυμορφισμό αμινοξέων στη θέση 29 (Met/Thr)^{280,282,283}.

- Γλυκοπρωτεΐνη Fy (Fy glycoprotein ή Duffy / DARC)

Αποτελεί μια γλυκοπρωτεΐνη τύπου I, η οποία διαπερνά τη μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων 7 φορές, και περιέχει έναν επίποπο, 35 έως 43kDa στο εξωκυττάριο N-τελικό άκρο, που αποτελεί ερυθροκυτταρικό υποδοχέα για το παράσιτο της ελονοσίας (malaria parasite) *Plasmodium vivax*^{284,285}.

Το γονίδιο FY, βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμόσωματος 1 (q22-q23) και περιέχει 2 εξώνια, το Fy^a και το Fy^b. Τα αλληλόμορφα γονίδια FY*A και FY*B, διαφέρουν σε μια αντικατάσταση βάσεως στο νουκλεοτίδιο 131 του cDNA, με συνέπεια να κωδικοποιείται η γλυκίνη για το Fy^a και η ασπαραγίνη για το Fy^b στο αμινοξύ 42^{286,287,288} (σχήμα 32).



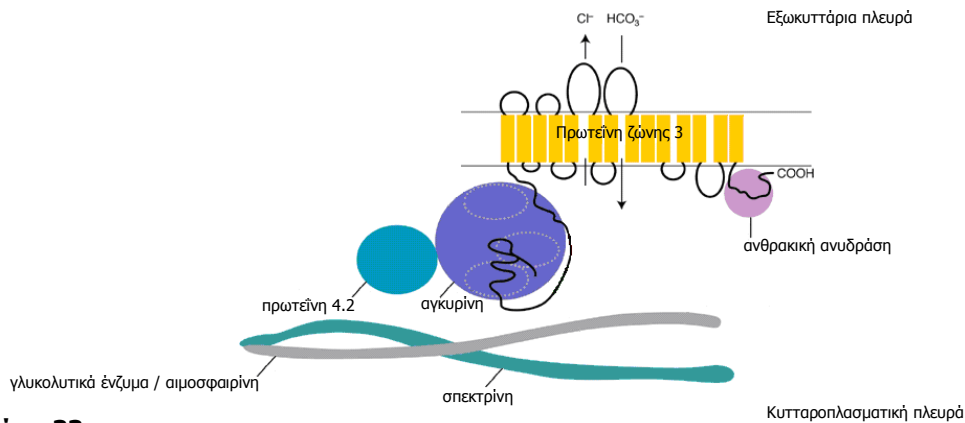
Σχήμα 32.

Γλυκοπρωτεΐνη Fy. Φαίνεται με κόκκινο κύκλο ο πολυμορφισμός στο αμινοξύ 42, Fya =Gly42 και Fyb=Asp42, που προσδίδει τα αντιγονικά χαρακτηριστικά του συστήματος Duffy.

- Πρωτεΐνη ζώνης 3 (Band 3 ή AE1, anion exchanger member 1, ανταλλάκτης ανιόντων 1)

Είναι μια γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη, με μοριακό βάρος 90-100kDa που διαπερνά την μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων 14 φορές, είναι ο σημαντικότερος μεταφορέας ανιόντων και αποτελείται από μια υδρόφοβη διαμεμβρανική περιοχή, για την ανταλλαγή χλωρίου και διττανθρακικών, και δύο κυτταροπλασματικά τμήματα ένα επιμηκυνσμένο υδρόφιλο N-τελικό άκρο, το οποίο δεσμεύει την αιμοσφαιρίνη, γλυκολυτικά ένζυμα, την αγκυρίνη, την πρωτεΐνη 4.2 και τη σπεκτρίνη, και ένα όξινο C-τελικό άκρο, το οποίο δεσμεύει την ανθρακική ανυδράση^{241,289,290} (σχήμα 33).

Το γονίδιο band 3, βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμόσωματος 17 (q21)^{241,291}.



Σχήμα 33.

Απεικόνιση της πρωτεΐνης ζώνης 3.

Φαίνονται η διαμεμβρανική περιοχή και τα 2 κυτταροπλασματικά τμήματα.

5.10 ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΜΑΔΟΠΟΙΗΣΗ ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ Rh

Η ομαδοποίηση στο σύστημα Rh, είναι απαραίτητη στις περιπτώσεις¹²⁰ που:

- η τυπική ορολογική δοκιμασία είναι αμφισβητούμενη σε πολυμεταγγισμένους ασθενείς και σε περιπτώσεις αυτοάνοσης αιμολυτικής αναιμίας
- η τυπική ορολογική δοκιμασία είναι αμφισβητούμενη για την παρουσία των τύπων ασθενούς D και άλλων παραλλαγών των αλληλόμορφων γονιδίων Rh, προκειμένου να αποφασιστεί μετάγγιση ή προφύλαξη με αντι-D
- μια επίτοκος είναι RhD(-) και το έμβρυο RhD(+) και θα πρέπει να πραγματοποιηθεί λήψη αμνιακού υγρού ή τροφοβλαστικών κυττάρων (χοριονικές λάχνες) για την πρόληψη της HDFN²⁹².

6. ΣΥΣΤΗΜΑ ΟΜΑΔΑΣ ΑΙΜΑΤΟΣ Kell

Από τότε που χρησιμοποιείται ανοσοπροφύλαξη, με την χρήση της ανοσοσφαιρίνης αντι-D (αντί-D) σε επίτοκη RhD(-), τα περιστατικά της αλλοανοσοποίησης Rh, μεταξύ επιτόκων έχουν ελαττωθεί, αλλά η αλλοανοσοποίηση, έναντι ενός άλλου αντιγόνου των ερυθρών αιμοσφαιρίων, του Kell (αντιγόνο **K**, K1), εμφανίζεται πιο συχνά²⁹³.

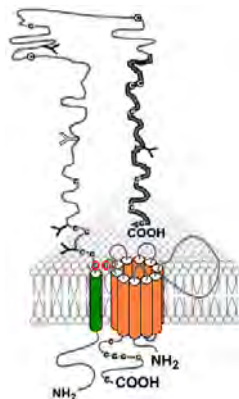
Το αντίσωμα Kell, ανακαλύφθηκε το 1946, από τον Robert Coombs και τους συνεργάτες του σε μία μητέρα, η οποία ονομαζότανε Kellacher και η οποία μόλις είχε γεννήσει νεογνό με HDN. Το αντίσωμα ταυτοποιήθηκε με την μέθοδο του αντισφαιρινικού ορού (rabbit anti-human globulin)^{294,295}. Στη συνέχεια ο Philip Levine και οι συνεργάτες του, περιέγραψαν την ύπαρξη ενός υπεράνοσου αντισώματος στον ορό μιας άλλης γυναίκας, που ονομαζότανε Cellano, το οποίο αναγνώριζε ένα αντιγόνο, το αντιγόνο **k** (K2). Το αντίσωμα αυτό ονομάστηκε αντι-Cellano και είναι αντιθετικό του Kell²⁹⁶. Αργότερα προσδιορίστηκαν με την χρήση αντιθετικών αντισωμάτων τα αντιγόνα Penny (Kp^a, K3) και Rautenberg (Kp^b, K4), καθώς και τα αντιγόνα Peltz (Ku, K5) και Sutter (Js^a, K6)²⁹⁷ και μέχρι σήμερα το σύστημα Kell αποτελείται από 24 αντιγόνα²⁹⁸.

6.1 ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΙ Kell

Το αντιγόνο **k**, είναι πιο συχνό από το αντιγόνο **K** στους περισσότερους πληθυσμούς και ο φαινότυπος K-k+ απαντάται σε 98% των Έγχρωμων και 91% των Καυκάσιων⁴³, ενώ το αντιγόνο Js^a βρίσκεται πολύ συχνά σε Έγχρωμους ή Αφρικανικής καταγωγής²⁹⁹ (πίνακας 18).

Πίνακας 18. Συχνότητες φαινοτύπων και αντιγόνων του συστήματος Kell.		
Φαινότυποι Kell		
	Καυκάσιοι %	Έγχρωμοι %
K-K+	91	98
K+k-	0,2	σπάνια
K+k+	8,8	2
Kp (a-b+)	97,7	100
Js (a-b+)	100	80
Αντιγόνα		
	%	
κ, Kpb, Ku, Jsb, K11, K12, K13, K14, K18, K19, Km, K22, K26 και K27	100	
Kpa και U1a	~2	
Jsa, Kpc και K23	0,01	
K17	0,3	
K24 και VLAN	σπάνια	
K16	άγνωστη	

Το αντιγόνο Kell, αποτελεί μια γλυκοπρωτεΐνη τύπου II, με μοριακό βάρος 93kDa, η οποία αποτελείται από ένα εξωκυττάριο 665 αμινοξέων, C-τελικό άκρο, μια διαμεμβρανική περιοχή και ένα κυτταροπλασματικό, 47 αμινοξέων, N-τελικό άκρο^{300,301,302}. Έτσι, η πρωτεΐνη Kell, αποτελείται από μια πολυπεπτιδική αλυσίδα 732 αμινοξέων, η οποία είναι γλυκοζυλιωμένη σε 5 περιοχές και καθώς διαπερνά τη μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων, μια φορά, συνδέεται στην εξωκυττάρια επιφάνεια του ερυθρού αιμοσφαιρίου, με την πρωτεΐνη XK με δισουλφιδικό δεσμό (Kell Cys 72 - XK Cys 347) (σχήμα 34). Η πρωτεΐνη XK, είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη μεταφοράς, με μοριακό βάρος 9kDa, που διαπερνά τη μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων 10 φορές. Τα αντιγονικά συστήματα, που συνδέονται με τις πρωτεΐνες Kell και XK εκφράζουν ένα ενιαίο αντιγόνο. Επειδή τα αντιγόνα Kell και XK συνδέονται ομοιοπολικά και φαινοτυπικά, το αντιγόνο XK συμπεριλαμβάνεται ως τμήμα του συστήματος Kell^{303,304}.



Σχήμα 34.

Σχηματική απεικόνιση του συμπλέγματος Kell-XK.

Οι διαμεμβρανικές περιοχές της Kell (πράσινο) και XK (πορτοκαλί) απεικονίζονται ως κύλινδροι, ενώ φαίνεται και ο δισουλφιδικός δεσμός της Cys 72 (Kell) και της Cys 347 (XK) (κόκκινο).

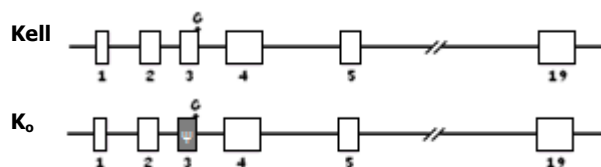
• Φαινότυπος K₀ ή Kell-null

Στο σπάνιο φαινότυπο K₀, τα ερυθρά αιμοσφαίρια στερούνται όλα τα αντιγόνα Kell και η μοριακή βάση του δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί πλήρως.

Τα άτομα με το φαινότυπο αυτό φέρουν μια μετάλλαξη (G→C) στην περιοχή ματίσματος του εσωνίου 3 του γονιδίου KEL και είναι ομοζυγώτες. Η μετάλλαξη οδηγεί σε καταστροφή της συντηρημένης ακολουθίας GT της 5' περιοχής ματίσματος.

Ο Lung Yu και οι συνεργάτες του, ανέλυσαν με τη μέθοδο της RT-PCR το πλήρες mRNA του γονιδίου KEL και βρήκαν ένα αντίγραφο στο οποίο έλειπε ένα τμήμα του εσωνίου 3. Το εξόνιο 3, του γονιδίου KEL, κωδικοποιεί τη διαμεμβρανική περιοχή της γλυκοπρωτεΐνης Kell, και ένα αντίγραφο, χωρίς το εξόνιο 3, έχει ένα πρόωρο κωδικόνιο τερματισμού που καταργεί

τη μετάφραση του C-τελικού άκρου, το οποίο περιέχει όλες τις γνωστές περιοχές για να χαρακτηριστούν τα διαφορετικά αντιγόνα Kell, και έτσι εξηγείται η έλλειψη όλων των αντιγόνων Kell, στα K₀ ερυθρά αιμοσφαίρια³⁰⁵ (σχήμα 35).



Σχήμα 35.

Η αντικατάσταση G→C στο εσώνιο 3, του αλληλόμορφου γονιδίου K₀, προκαλεί την δημιουργία ενός ψευδοεξωνίου (pseudoexon, γκρι) και είναι η αιτία της απώλειας του εξωνίου 3, κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της μετάφρασης, του γονιδίου KEL.

Επίσης βρέθηκαν νέες μεταλλάξεις που περιλαμβάνουν:

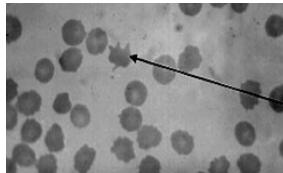
- την αντικατάσταση A→G, στο εσώνιο 5, όπου αλλάζει η 3' περιοχή ματίσματος από AAG σε AGG, με συνέπεια μετατόπιση του πλαισίου ανάγνωσης,
- την αντικατάσταση 459G→A, στο εξώνιο 1, όπου δημιουργείται κωδικόνιο τερματισμού³⁰⁶,
- την αντικατάσταση 1540C→T, στο εξώνιο 13, όπου δημιουργείται κωδικόνιο τερματισμού, και
- μια διαγραφή (1023delG) στο εξώνιο 8, όπου οδηγεί σε μετατόπιση του πλαισίου ανάγνωσης και πρόωρο κωδικόνιο τερματισμού στο εξώνιο 9³⁰⁷.

Τα άτομα με τον φαινότυπο K₀ είναι υγιή, αλλά μπορούν να αναπτύξουν αντισώματα (αντι-Ku) έναντι των αντιγόνων Kell όταν μεταγγιστούν με αίμα που τα περιέχει. Τα αντι-Ku μπορεί να προκαλέσουν ήπια έως σοβαρή αντίδραση μετά από μετάγγιση, με μία γνωστή περίπτωση που έχει οδηγήσει στο θάνατο. Επομένως, εάν τα άτομα με φαινότυπο K₀ χρειάζονται μετάγγιση, θα πρέπει να μεταγγιστούν με προϊόντα αίματος από άλλο άτομο του ιδίου φαινοτύπου^{11,308}.

- **Φαινότυπος McLeod (phenotype McLeod)**

Ο φαινότυπος McLeod, περιγράφηκε το 1961, σε ένα άνδρα, ονομαζόμενο Hugh McLeod, από έναν φοιτητή οδοντιατρικής του Χάρβαρντ³⁰⁹.

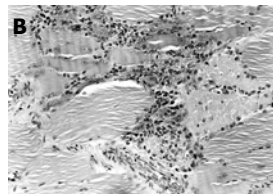
Η γλυκοπρωτεΐνη Kell, συνδέεται με ομοιοπολικό δεσμό με τη πρωτεΐνη XK στη μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Σε απουσία της πρωτεΐνης XK (σύνδρομο McLeod), τα αντιγόνα Kell εκφράζονται ασθενώς και τα ερυθρά αιμοσφαίρια είναι ανώμαλα με ακανθώδεις προσεκβολές (ακανθοκυτιτάρωση / acanthocytosis, εικόνα 16).



Εικόνα 16.

Φαίνονται τα ακανθοκύτταρα σε άτομο με φαινότυπο McLeod.

Το σύνδρομο χαρακτηρίζεται από υψηλά επίπεδα CPK (Creatine Phosphokinase / φωσφοκινάση της κρεατίνης) στον ορό του αίματος και μυική δυστροφία, καρδιομυοπάθεια, ψυχιατρικές διαταραχές και νευροπάθειες^{310,311} (εικόνα 17).



Εικόνα 17.

A. Άνδρας με σύνδρομο McLeod, με αξονική νευροπάθεια (axonal neuropathy), όπου φαίνεται η μυική ατροφία.

B. Ανομοιογενείς νεκρωτικές ή αναγεννητικές ίνες, σποραδικοί πυρήνες εσωτερικά και απουσία φλεγμονώδους διήθησης.

6.2 ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ Kell

Το αντιγόνο Kell, εκφράζεται κυρίως στα ερυθρά αιμοσφαίρια και στους όρχεις^{312,313}. Επίσης εκφράζεται σε μικρό ποσοστό σε διάφορα όργανα, όπως λεμφικούς ιστούς, μύες (καρδιακός και σκελετικός) και εγκέφαλο^{314,315,316}.

6.3 ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΙ ΕΝΑΝΤΙ ΤΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ Kell

Τα αντι-Kell, είναι συνήθως αντισώματα IgG, ενώ σπάνια μπορεί να είναι IgM^{11,317,318}.

6.4 ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ Kell

Το αντιγόνο K, είναι το πιο ανοσογόνο αντιγόνο μετά από τα αντιγόνα των συστημάτων ομάδας αίματος ABO και Rh.

• Αντιδράσεις της μετάγγισης:

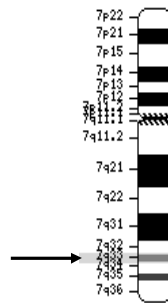
Τα αντισώματα που εμπλέκονται στην πρόκληση των αντιδράσεων μετά από μετάγγιση, οι οποίες μπορεί περιστασιακά να είναι σοβαρές, περιλαμβάνουν τα αντι-K, αντι-k, αντι-Kra, και αντι-Jsb⁴³.

• **Αιμολυτική νόσος του νεογνού:**

Τα αντι-Kell είναι σημαντική αιτία HDN ^{319, 320, 321}.

6.5 ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΑΣΗ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ Kell

Το γονίδιο KEL, βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 7 (q33, εικόνα 18) και περιέχει 19 εξόνια που αποτελούν περισσότερο των 21,5kbp του γενωμικού DNA. Είναι ιδιαίτερα πολυμορφικό, με διαφορετικά αλληλόμορφα γονίδια στον ίδιο γονιδιακό τόπο που κωδικοποιούν τα 24 αντιγόνα που αποτελούν το σύστημα Kell ^{298, 314, 322}.



Εικόνα 18.

Χρωμόσωμα 7 (q33), όπου φαίνεται η θέση του γονιδίου KEL.

Το γονίδιο KEL, έχει δύο σημαντικά συνεπικρατούντα αλληλόμορφα γονίδια, το K και το k, που προκύπτουν από μια σημειακή μετάλλαξη (698C→T) στην γλυκοπρωτεΐνη Kell, δηλαδή μεθειονίνη στη θέση 193 εκφράζει το αντιγόνο K, ενώ θρεονίνη στην ίδια θέση εκφράζει το αντιγόνο k (σχήμα 36).

Αυτή η αντικατάσταση αμινοξέος από 698C→T συμβαίνει μέσα στην N-γλυκοζυλιωμένη περιοχή (Asn.X.Thr) και πιθανώς αποτρέπει τη N-γλυκοζυλίωση, οδηγώντας σε αλλαγή του φαινοτύπου ^{297, 323}.

Το αντιγόνο K, είναι πιο ικανό να προκαλέσει ανοσοαντίδραση από το αντιγόνο k, πιθανόν επειδή, σε αντίθεση από τα άλλα αντιγόνα Kell, δεν είναι γλυκοζυλιωμένο στη θέση 193 ³²⁴.

```
185 Trp Thr Ser Leu Asn Rhe Asn Arg Thr Leu Arg Leu Leu Met Ser 199
    TGG ACT TCC TTA AAC TTT AAC CGA ACG CTG AGA CTT CTG ATG AGT
                                ↓
    TGG ACT TCC TTA AAC TTT AAC CGA ATG CTG AGA CTT CTG ATG AGT
    Trp Thr Ser Leu Asn Rhe Asn Arg Met Leu Arg Leu Leu Met Ser
```

Σχήμα 36.

Η αντικατάσταση της C με T, στο εξόνιο 6, οδηγεί σε αλλαγή κωδικοποίησης από θρεονίνη σε μεθειονίνη. Η N-γλυκοζυλιωμένη περιοχή (Asn.X.Thr), στην οποία συμβαίνει η αντικατάσταση του αμινοξέος υπογραμμίζεται.

Άλλοι συχνοί πολυμορφισμοί του συστήματος Kell περιλαμβάνουν:

- το KEL3 (Kra), το KEL4 (Krb) και το KEL21 (Krc), που προκύπτουν από μια σημειακή μετάλλαξη στο ίδιο κωδικόνιο του εξωνίου 8, που κωδικοποιεί αμινοξύ στη θέση 281, έτσι: στο Kra, κωδικοποιείται η τρυπτοφάνη και δημιουργείται το κωδικόνιο τερματισμού TGG, στο Krb, κωδικοποιείται αργινίνη και δημιουργείται το κωδικόνιο τερματισμού CGG και στο Krc, κωδικοποιείται η γλουταμίνη και δημιουργείται το κωδικόνιο τερματισμού CGG
- τα KEL6 (Jsa) και KEL7 (Jsb) προκύπτουν από μια σημειακή μετάλλαξη (1910T→C) στο κωδικόνιο που κωδικοποιεί αμινοξύ στη θέση 597 (Leu597Pro),
- το KEL17 (Wka) προκύπτει από μια σημειακή μετάλλαξη (1025T→C) στο κωδικόνιο του εξωνίου 8, που κωδικοποιεί μια αλλαγή αμινοξέος από βαλίνη σε αλανίνη στη θέση 302 και
- το KEL10 (UIa) προκύπτει από μια σημειακή μετάλλαξη (1601A→T) στο κωδικόνιο του εξωνίου 13, που κωδικοποιεί μια αλλαγή αμινοξέος από γλουταμινικό οξύ σε βαλίνη στη θέση 494^{325, 326, 327}.

• Πρωτεΐνη Kell

Η γλυκοπρωτεΐνη Kell, παρουσιάζει ομολογία με άλλες 4, τύπου II, μεμβρανικές γλυκοπρωτεΐνες:

- την ουδέτερη ενδοπεπτιδάση (Neutral Endopeptidase / NEP)³²⁸,
- δυο διαφορετικά ένζυμα που μετατρέπουν την ενδοθηλίνη (Endothelin Converting Enzymes / ECE-1 και ECE-2)^{329, 330}, και
- τη πρωτεΐνη ρυθμιζόμενη από φωσφόρο (phosphate-regulating protein / PHEX), προϊόν του γονιδίου PEX^{331, 332, 333}.

Αυτή η υποοικογένεια των πρωτεϊνών έχει ταξινομηθεί ως M13 ή οικογένεια της νεπριλυσίνης (neprilysin) των ενδοπεπτιδασών ψευδάργυρου (zinc endopeptidases). Η κύρια λειτουργία τους είναι η ενεργοποίηση βιοενεργών πεπτιδίων (bioactive peptides) 21 αμινοξέων, με πρωτεολυτική διάσπαση, από ανενεργά πρόδρομα πολυπεπίδια, περίπου 200 αμινοξέων^{334, 335}.

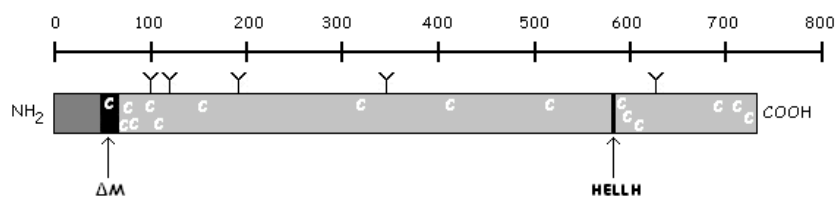
Τα ECE-1 και η ECE-2 διασπούν εκλεκτικά τη μεγάλη ενδοθηλίνη-1 (big endothelin-1 / big ET-1) με διάσπαση του δεσμού Trp21-Val22, απελευθερώνοντας ενδοθηλίνη-1 (endothelin-1 / et-1)³³⁶, αλλά μπορεί επίσης να διασπάσει την ET-2 με διάσπαση του ίδιου δεσμού και τη μεγάλη ενδοθηλίνη-3 με διάσπαση του δεσμού Trp21-Ile22.

Η πρωτεΐνη Kell διασπά κυρίως την ET-3 με απελευθέρωση της ενδοθηλίνης-3 (endothelin-3 / et-3) και σε μικρότερο βαθμό την ET-1 και την ET-2^{337, 338, 339}.

Η πρωτεΐνη Kell, έχει 32-36% ταυτοποίηση αμινοξέων με τη NEP και την ECE-1 στο εξωκυττάριο N-τελικό άκρο (κατάλοιπα

550-732 στην Kell), το οποίο περιέχει τη συνδεδεμένη με ψευδάργυρο ενζυμική ενεργό περιοχή (zinc-binding enzymatic active site / HELLH). Εκτός από την ομολογία της ακολουθίας αμινοξέων, υπάρχουν και δομικές ομοιότητες, καθώς δέκα εξωκυττάρια κατάλοιπα κυστεΐνης είναι διατηρημένα στην οικογένεια M13 (σχήμα 37).

Η πρωτεΐνη Kell διαφέρει από τα άλλα μέλη της οικογένειας M13 στο ότι συνδέεται, όπως αναφέρθηκε, με την πρωτεΐνη XK³³⁹.



Σχήμα 37.

Σχηματική απεικόνιση της πρωτεΐνης Kell. Φαίνονται η διαμεμβρανική περιοχή (transmembrane region / ΔM), που χωρίζει τη μικρή ενδοκυττάρια (σκούρο γκρι) από μια μεγάλη εξωκυττάρια περιοχή (γκρι). Επίσης φαίνονται οι θέσεις της κυστεΐνης (C), των υδατανθρακικών καταλοίπων (Y) και της συνδεδεμένης με ψευδάργυρο, ενζυμικής ενεργού περιοχής (HELLH).

Ειδικό μέρος

1 . ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης, είναι η κατανομή και η μελέτη των συχνοτήτων των τύπων ομάδων αίματος του συστήματος ABO, του συστήματος Rh και του συστήματος Kell, και των παραλλαγών του αντιγόνου D (RhD), του ασθενούς D και του ατελούς D, σε Ελληνικό πληθυσμό (Θεσσαλία), καθώς δημιουργούν προβλήματα ευαισθητοποίησης στην καθημερινή πράξη.

Επίσης, θα γίνει μια προσπάθεια υπολογισμού των γενετικών αποστάσεων, με σκοπό την εκτίμηση της γενετικής ποικιλομορφίας εντός και μεταξύ πληθυσμών και την κατανόηση της φυλογενετικής τους σχέσης.

2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Μελετήθηκαν με τη διαδικασία της τυχαίας δειγματοληψίας (random sampling), 915 ασθενείς και εθελοντές δότες αίματος που επισκέφτηκαν το Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας κατά την διάρκεια της χρονικής περιόδου 18 Απριλίου 2005 έως και 31 Ιανουαρίου 2008.

Από τους 915 δότες αίματος, οι 443 ήταν άνδρες, ηλικίας 0 έως 88 ετών (μέση ηλικία 52) και οι 472 γυναίκες, ηλικίας 0 έως 95 ετών (μέση ηλικία 47).

3. ΜΕΘΟΔΟΙ

Το πειραματικό μέρος της μελέτης αποτελεί:

- η συλλογή του φλεβικού αίματος
- ο καθορισμός ομάδας αίματος του συστήματος ABO, με τη προτυποποιημένη εμπορική δοκιμασία (kit) "ID-Card", "DiaClon ABO/Rh for donors"
- ο καθορισμός ομάδας αίματος του συστήματος Rh, με τη προτυποποιημένη εμπορική δοκιμασία (kit) "ID-Card", "DiaClon ABO/Rh for donors" και τη "Rh-subgroups + K"
- ο καθορισμός ομάδας αίματος του συστήματος Kell, με τη προτυποποιημένη εμπορική δοκιμασία (kit) "ID-Card", "Rh-subgroups + K"
- ο προσδιορισμός του πολυμορφισμού εννέα αλληλόμορφων γονιδίων (τύπου 1, 2, 3, 4.0/4.1, 4.2, 5, 11, 14, 15) της παραλλαγής του αντιγόνου D, του ασθενούς D, με τη προτυποποιημένη εμπορική δοκιμασία "weak D-SSP", (inno-TRAIN Diagnostik GmbH, Kronberg / Taunus, Germany), και
- ο προσδιορισμός του αντιγόνου D και του πολυμορφισμού της παραλλαγής του, του ατελούς D, με τη προτυποποιημένη εμπορική δοκιμασία "CDE-SSP", (inno-TRAIN Diagnostik GmbH, Kronberg / Taunus, Germany).

Σε περίπτωση αναγνώρισης κάποιας ποικιλίας, επιβεβαίωση με PCR και απευθείας εύρεση αλληλουχιών (direct sequencing).

Για όσες ποικιλίες δεν περιλαμβάνονται στις ήδη γνωστές, ανάλυση αλληλουχίας DNA.

4. ΤΕΧΝΙΚΕΣ

Συλλέχθηκε φλεβικό αίμα, 2ml, σε φιαλίδιο (VACUETTE® Greiner Bio-One, Austria) που περιέχει αντιπηκτικό K₃EDTA, και απορρίφθηκαν τα φιαλίδια που παρουσίαζαν στοιχεία ινικής.

4.1. Καθορισμός της συχνότητας των τύπων ομάδας αίματος του συστήματος ABO

Για τον καθορισμό της συχνότητας των τύπων ομάδας αίματος του συστήματος ABO χρησιμοποιήθηκε η προτυποποιημένη εμπορική δοκιμασία (kit) "ID-Card" "DiaClon ABO/Rh for donors" (DiaMed-ID Micro Typing System, Cressier s/Morat, Switzerland), η οποία προσφέρει ένα πλήρη έλεγχο των αντιγόνων ABO και των αντιγόνων RhD και CDE.

Η ID-κάρτα "DiaClon ABO/Rh for donors" περιέχει τους μονοκλωνικούς αντιορούς αντι-A (κυτταρικής σειράς: A5), αντι-B (κυτταρικής σειράς: G $\frac{1}{2}$), αντι-AB (κυτταρικές σειρές: ES 131 (ES-15), Birma-1 και ES-4), αντι-D (κυτταρικές σειρές: ESD-1M και 175-2) και αντι-CDE (κυτταρικές σειρές: MS-24, KM-201, MS-26 και KM-80) ενσωματωμένους σε μικροστήλες γέλης και περιέχει επίσης μια μικροστήλη (control, ctl) που αποτελεί τον αρνητικό μάρτυρα (συντηρητικό: <0,1% NaN₃).

Διαδικασία καθορισμού της συχνότητας των τύπων ομάδας αίματος του συστήματος ABO και του Rh:

α. Παρασκευάστηκε εναιώρημα (suspension) ερυθρών αιμοσφαιρίων 5%, ως εξής:

- τοποθετήθηκε, σε καθαρό σωληνάριο 1000ml φυσιολογικού ορού, 0,5ml από διαλύτη, ο οποίος περιέχει τροποποιημένο χαμηλής ιοντικής ισχύος διάλυμα (Low Ionic Strength Solution, LISS), που αυξάνει το ποσοστό σύνδεσης των αντισωμάτων και έτσι ενισχύει τις αντιδράσεις αντιγόνου με αντίσωμα

- προστέθηκαν 50μl από το ολικό αίμα και αναδεύτηκαν ελαφρά

β. Αμέσως μετά, 10μl του εναιωρήματος επιστοιβάσθηκαν σε όλες τις στήλες των μικροσωληνίσκων

γ. Φυγοκεντρήθηκε η ID-κάρτα, για 10 λεπτά, σε 800g

δ. Διαβάσθηκαν και καταγράφηκαν τα αποτελέσματα.

Τα αποτελέσματα χαρακτηρίσθηκαν ως:

- θετικά, όταν παρατηρήθηκε παραμονή των ερυθρών αιμοσφαιρίων στην επιφάνεια της γέλης ή συγκολλήσεις διασκορπισμένες στη γέλη και

- αρνητικά, όταν παρατηρήθηκε συμπαγής μάζα ερυθρών αιμοσφαιρίων, στο κάτω μέρος της μικροστήλης.

1.2. Η αντίδραση για τους φαινοτύπους ABO χαρακτηρίσθηκε, σύμφωνα με τον πίνακα 1, ως:

- θετική (+++ ή ++++) αντίδραση, που δηλώνει την παρουσία του αντίστοιχου αντιγόνου, ενώ ασθενέστερες αντιδράσεις (+ ή ++), μπορεί να υποδηλώνουν την παρουσία υποομάδων των ομάδων A και B.
- αρνητική αντίδραση, που δηλώνει την απουσία του αντίστοιχου αντιγόνου.

Πίνακας 1. Χαρακτηρισμός φαινοτύπων ABO.			
Αντίδραση			Τύπος ομάδας αίματος
αντι-A	αντι-B	αντι-AB	
θετική (+++ ή ++++)	αρνητική	θετική (+++ ή ++++)	A
αρνητική	θετική (+++ ή ++++)	θετική (+++ ή ++++)	B
θετική (+++ ή ++++)	θετική (+++ ή ++++)	θετική (+++ ή ++++)	AB
αρνητική	αρνητική	αρνητική	O

Η μικροστήλη ct1, πρέπει να δίνει αρνητική αντίδραση και εάν είναι θετική, ο προσδιορισμός των αντιγόνων ABO δεν είναι έγκυρος.

Σε περίπτωση θετικής αντίδρασης, τα ερυθρά αιμοσφαίρια πλυθήκαν με προθερμασμένο στους 37⁰C, διαλύτη που περιείχε βρωμελίνη (πρωτεολυτικό ένζυμο, που τροποποιεί τα αντιγόνα των ερυθρών αιμοσφαιρίων και επομένως βελτιώνει τη δραστηριότητα ορισμένων συστημάτων αντιγόνου / αντισώματος και καταργεί τη δραστηριότητα άλλων) πριν από την προετοιμασία του εναιωρήματος των ερυθρών αιμοσφαιρίων 5% και στη συνέχεια επαναλαμβάνονταν η διαδικασία.

Εάν η αντίδραση ήταν αρνητική, συνεχιζόταν η διαδικασία προσδιορισμού των αντιγόνων, ενώ εάν παρέμεινε θετική, απορρίπτονταν η ID-κάρτα.

4. 2. Καθορισμός της συχνότητας των τύπων ομάδας αίματος του συστήματος Rh

Για τον καθορισμό της συχνότητας των τύπων ομάδας αίματος του συστήματος Rh, χρησιμοποιήθηκαν οι προτυποποιημένες εμπορικές δοκιμασίες:

α. "ID-Card" "DiaClon ABO/Rh for donors", όπως περιγράφηκε και για το καθορισμό της συχνότητας των τύπων ομάδας αίματος του συστήματος ABO.

Η αντίδραση για τον φαινότυπο RhD (παρουσία του αντιγόνου D) χαρακτηρίστηκε ως:

- θετική (+++ ή ++++), που δηλώνει την παρουσία του αντιγόνου, ενώ ασθενέστερες αντιδράσεις (+ ή ++) μπορεί να υποδηλώνουν την ασθενή έκφραση του αντιγόνου (ασθενές D)
- αρνητική, που δηλώνει την απουσία του αντιγόνου.

Η αντίδραση για τον φαινότυπο Rh (παρουσία των αντιγόνων D, C, c, E ή e) χαρακτηρίστηκε ως:

- θετική (+++ ή ++++), που δηλώνει την παρουσία του αντίστοιχου αντιγόνου
- αρνητική, που δηλώνει την απουσία του αντίστοιχου αντιγόνου.

Η μικροστήλη ct1, πρέπει να δίνει αρνητική αντίδραση και εάν είναι θετική, ο προσδιορισμός των αντιγόνων ABO δεν είναι έγκυρος.

Σε περίπτωση θετικής αντίδρασης, ακολουθήθηκε η διαδικασία, όπως περιγράφηκε και για το καθορισμό της συχνότητας των τύπων ομάδας αίματος του συστήματος ABO.

β. Η ID-κάρτα "Rh-subgroups + K" (DiaMed-ID Micro Typing System, Cressier s/Morat, Switzerland), περιέχει αντι-C, αντι-c, αντι-E, αντι-e και αντι-K ανθρώπινης προέλευσης ενσωματωμένο στη γέλη του μικροσωληνίσκου και περιέχει επίσης ένα μικροσωλήνα ct1, που αποτελεί τον αρνητικό μάρτυρα (συντηρητικό: <0,1% NaN₃).

• Διαδικασία καθορισμού της συχνότητας των τύπων ομάδας αίματος του συστήματος Rh:

1. Παρασκευάστηκε εναιώρημα ερυθρών αιμοσφαιρίων 5%, ως εξής:

- τοποθετήθηκε, σε καθαρό σωλήνα, τύπου Wanerman 6ml, διαλύτη, ο οποίος περιέχει τροποποιημένο διάλυμα βρωμελίνης
- προστέθηκαν 50μl από το ολικό αίμα και αναδεύτηκαν ελαφρά
- επώασθη το εναιώρημα για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (18-25°C)

2. Μετά από 15 λεπτά από την επώαση, 10μl του εναιωρήματος, επιστοιβάστηκαν σε όλες τις στήλες των μικροσωληνίσκων

3. Φυγοκεντρήθηκε η ID-κάρτα για 10 λεπτά, σε 800g

4. Διαβάστηκαν και καταγράφηκαν τα αποτελέσματα.

Τα αποτελέσματα χαρακτηρίστηκαν ως:

- θετικά, όταν παρατηρήθηκε παραμονή των ερυθρών αιμοσφαιρίων στην επιφάνεια της γέλης ή συγκολλήσεις διασκορπισμένες στη γέλη και
- αρνητικά, όταν παρατηρήθηκε συμπαγής μάζα ερυθρών αιμοσφαιρίων στο κάτω μέρος της μικροστήλης.

Η αντίδραση για τους φαινοτύπους Rh (C, c, E και e) χαρακτηρίστηκε ως:

- θετική (+++ ή ++++), που δηλώνει την παρουσία του αντίστοιχου αντιγόνου, ενώ ασθενέστερη αντίδραση μπορεί να

υποδηλώνουν την ασθενή έκφραση του αντιγόνου ή παραλλαγές του

- αρνητική, που δηλώνει την απουσία του αντίστοιχου αντιγόνου.

Διπλός πληθυσμός κυττάρων (αρνητικές και θετικές (++++)) αντιδράσεις) στον ίδιο μικροσωλήνα, δηλώνει την παρουσία κυττάρων θετικών και αρνητικών για το αντίστοιχο αντιγόνο, όπως μπορεί να συμβεί μετά από μετάγγιση.

Η μικροστήλη c1, πρέπει να δίνει αρνητική αντίδραση και εάν είναι θετική, ο προσδιορισμός των αντιγόνων Rh δεν είναι έγκυρος.

Σε περίπτωση θετικής αντίδρασης, τα ερυθρά αιμοσφαίρια, πλυθήκαν με προθερμασμένο στους 37°C, διαλύτη που περιείχε βρωμελίνη και, πριν από την προετοιμασία του εναιωρήματος των ερυθρών αιμοσφαιρίων 5% και στη συνέχεια επαναλαμβάνονταν η διαδικασία.

Εάν η αντίδραση ήταν αρνητική, συνεχιζόταν η διαδικασία προσδιορισμού των αντιγόνων, ενώ εάν παρέμεινε θετική, απορρίπτονταν η ID-κάρτα.

4. 3. Καθορισμός της συχνότητας του τύπου ομάδας αίματος του συστήματος Kell

Για τον καθορισμό της συχνότητας των τύπων ομάδας αίματος του συστήματος Kell χρησιμοποιήθηκε η προτυποποιημένη εμπορική δοκιμασία "ID-Card" "Rh-subgroups + K", όπως περιγράφηκε και για το καθορισμό της συχνότητας των τύπων ομάδας αίματος του συστήματος Rh.

Η αντίδραση για το K(+) χαρακτηρίστηκε ως:

- θετική (+++ ή ++++), που δηλώνει την παρουσία του αντιγόνου

- αρνητική, που δηλώνει την απουσία του αντιγόνου.

Ο μικροσωλήνας c1, πρέπει να δίνει αρνητική αντίδραση και εάν είναι θετική, ο προσδιορισμός του αντιγόνου K δεν είναι έγκυρος.

Σε περίπτωση θετικής αντίδρασης, ακολουθήθηκε η διαδικασία όπως περιγράφηκε και για το καθορισμό της συχνότητας των τύπων ομάδας αίματος του συστήματος Rh.

4. 4. Πολυμορφισμός της παραλλαγής του αντιγόνου D - Ασθενές D

Η μελέτη του πολυμορφισμού των εννέα αλληλόμορφων γονιδίων (τύπου 1, 2, 3, 4.0/4.1, 4.2, 5, 11, 14, 15) της παραλλαγής

του αντιγόνου D, του ασθενούς D, του γονιδίου RHD περιλαμβάνει τα παρακάτω πειραματικά βήματα:

α. Απομόνωση (extraction) του γενωμικού DNA

Για την απομόνωση του DNA χρησιμοποιήθηκε το σύστημα Magtration 12GC (Precision System Science Company Limited's, Chiba, Japan), το οποίο μπορεί να επεξεργαστεί μέχρι 12 δείγματα ανά εφαρμογή και επιτρέπει την πλήρη αυτοματοποιημένη απομόνωση χρησιμοποιώντας προτοποθετημένα αντιδραστήρια.

Διαδικασία απομόνωσης του γενωμικού DNA:

1. Τοποθετήθηκε η κάρτα IC του Magtration®-MagaZorb® DNA Common Kit-100 στο σύστημα Magtration 12GC.
2. Τοποθετήθηκε στη σχάρα (rack) του συστήματος, η σειρά μικροσωλήνων προγεμισμένων με αντιδραστήρια (Reagent pre-filled Cartridge) (εικόνα 1), που περιέχει:
 - ρυθμιστικό διάλυμα (buffer) για την πλύση του ρύγχους
 - ρυθμιστικό διάλυμα έκλουσης (elution)
 - ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 2 (απεσταγμένο νερό (dH₂O))
 - ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 1 (Tris - HCl, pH 8.0)
 - εναιώρημα μαγνητικών μορίων (magnetic particle suspension)
 - ρυθμιστικό διάλυμα δέσμευσης (binding)
 - διάλυμα θραύσης (lysis solution) των πυρήνων
 - πρωτεΐνάση K, ένζυμο που προκαλεί πεπτική υδρόλυση οδηγώντας σε αποικοδόμηση των πρωτεϊνών.



Εικόνα 1. Σειρά μικροσωλήνων, προγεμισμένοι με αντιδραστήρια

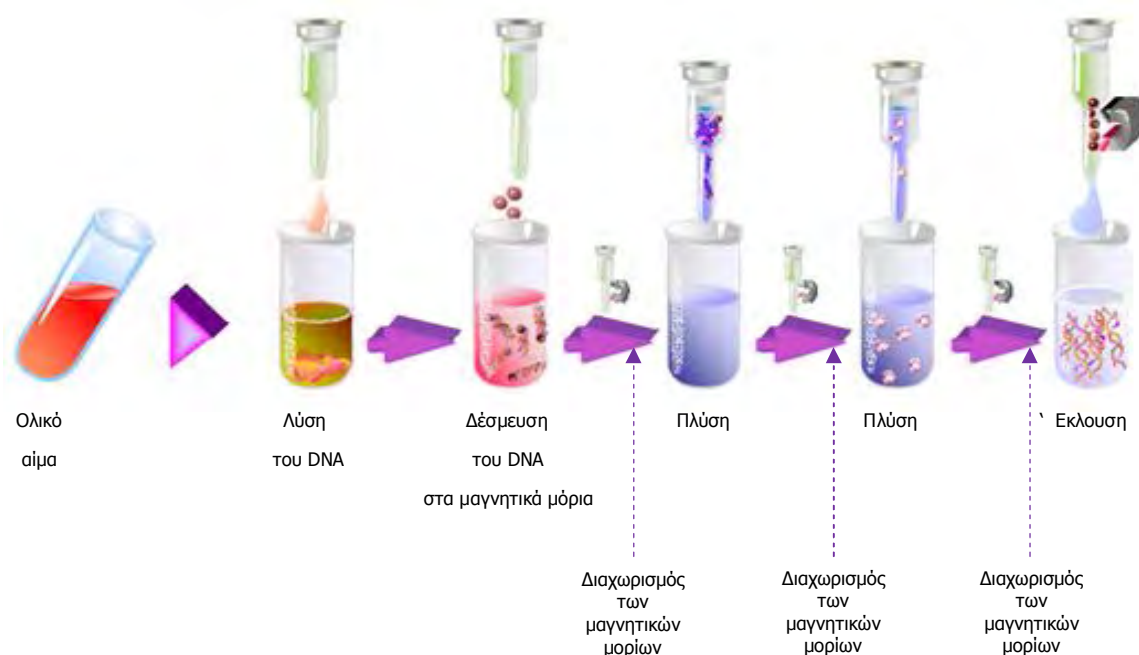
- α. ρυθμιστικό διάλυμα για την πλύση του ρύγχους
- β. ρυθμιστικό διάλυμα έκλουσης
- γ. ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 2
- δ. ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 1
- ε. εναιώρημα μαγνητικών μορίων
- στ. ρυθμιστικό διάλυμα δέσμευσης
- ζ. διάλυμα θραύσης των πυρήνων
- η. πρωτεΐνάση K

3. Τοποθετήθηκαν, σε προβλεπόμενες θέσεις του συστήματος Magtration, ένα άδειο μικροσωληνάριο (micro tube, PP) των 1,5ml, ένα ρύγχος (tip) και ένα μικροσωληνάριο των 1,5ml, που περιέχει 200μl ολικού αίματος (εικόνα 2).



Εικόνα 2. Τοποθέτηση σε προβλεπόμενες θέσεις του συστήματος Magtraction.

4. Επιβεβαιώθηκε ότι όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα έχουν τοποθετηθεί σωστά και έκλεισε η πόρτα
 5. Επιλέχθηκε η "Έναρξη" (start) στον πίνακα λειτουργίας και ακολουθήθηκαν οι οδηγίες που εμφανίστηκαν.
 Η λύση, η δέσμευση, η πλύση και η έκλυση, καθώς και όλες οι αναμείξεις εκτελέστηκαν από το σύστημα (σχήμα 1).



Σχήμα 1. Διαδικασίες που εκτελέστηκαν από το σύστημα.

Η διαδικασία διήρκεσε περίπου 30 λεπτά, και μετά την ολοκλήρωση της συλλέχθηκαν τα μικροσωληνάκια με το απομονωμένο DNA.

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε φωτομέτρηση σε φασματοφωτόμετρο. Η τεχνική αυτή βασίζεται στην ιδιότητα του DNA να απορροφά εκλεκτικά ακτινοβολία μήκους κύματος 260nm. Μετρήθηκε η οπτική πυκνότητα (Optical Density, OD) υδατικού

διαλύματος DNA (αραιωμένο διάλυμα DNA 1:100) σε μήκη κύματος 260 και 280nm, αφού τοποθετήθηκε σε κυψελίδα χαλαζία. Η απορρόφηση σε μήκος κύματος 260nm αντιστοιχεί στο DNA, ενώ σε 280nm στις πρωτεΐνες ή στις άλλες προσμίξεις που έχουν παραμείνει στο διάλυμα. Τιμή οπτικής πυκνότητας στα 260nm ίση με 1, δηλώνει συγκέντρωση του DNA ίση με 50 µg/ml. Υπολογίσθηκε η συγκέντρωση του DNA στο διάλυμα βάσει του τύπου:

$$\text{Συγκέντρωση DNA (}\mu\text{g/ml)} = \text{αραίωση} \times 50 \times \text{OD}_{260}$$

Η καθαρότητα του DNA αξιολογήθηκε με τον προσδιορισμό του λόγου:

$$\text{OD}_{260\text{nm}}/\text{OD}_{280\text{nm}}$$

Ο λόγος θα πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 1,7-1,9, τιμές που δηλώνουν την παρουσία επαρκούς ποσότητας DNA.

Μικρότερες τιμές δηλώνουν την πρόσμειξη με πρωτεΐνες, ενώ μεγαλύτερες πρόσμειξη με RNA.

Αναμείχθηκαν 10µl του δείγματος DNA με 3µl χρωστική (100mM EDTA, 20% w/v ficoll, και 1% μπλε βρωμοφαινόλη), η οποία δεσμεύεται με το DNA, τοποθετήθηκαν, με πιπέτα, στα πηγαδάκια της πηκτής αγαρόζης 1,2% (E-Gel® Agarose Gels, Invitrogen, Carlsbad, California) και ηλεκτροφορήθηκαν με τη χρήση συσκευής ηλεκτροφόρησης (E-Gel® PowerBase, Invitrogen, Carlsbad, California), υπό σταθερή τάση 100V, για 15 λεπτά αφού είχε προηγηθεί προθέρμανση της συσκευής για 15 λεπτά. Με τη διαδικασία αυτή η εκτιμήθηκε η ακεραιότητα, η καθαρότητα και η επάρκεια του DNA.

Τοποθετήθηκε η κάθε πηκτική σε υπεριώδες φως 220 nm (DNR MiniBIS Pro / DNR Bio-Imaging Systems Ltd. Jerusalem, Israel), έγιναν ορατές οι ζώνες του DNA, λόγω του έντονου φθορισμού της χρωστικής όταν εκτεθεί σε υπεριώδη ακτινοβολία (Ultraviolet, UV), και ακολούθησε φωτογράφιση και αποθήκευση της πηκτικής.

β. Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης επιτρέπει την αντιγραφή σε μεγάλες ποσότητες, γρήγορα και εκλεκτικά, ορισμένων αλληλουχιών νουκλεοτιδίων από ένα δείγμα DNA. Η μέθοδος στηρίζεται στην ικανότητα του θερμοσταθερού ενζύμου DNA-πολυμεράση να συνθέτει, από περίσσεια δεσοξυνουκλεοτιδίων, συμπληρωματική έλικα DNA πάνω σε μήτρα προϋπάρχοντος μονόκλωνου DNA.

Η τεχνική της PCR επιτυγχάνεται με τη βοήθεια συσκευών (thermocyclers, θερμικοί κυκλοποιητές) και αποτελείται από

επαναλαμβανόμενους κύκλους (20-30) που περιλαμβάνουν τα στάδια:

1. θέρμανση στους 94⁰C, που επιφέρει αποδιάταξη (denaturation) του DNA
2. μείωση της θερμοκρασίας, όπου επιτυγχάνεται ο υβριδισμός (hybridization) των εκκινητών στις θέσεις των μονόκλωνων DNA που έχουν συμπληρωματική ακολουθία
3. θέρμανση στους 72⁰C που ευνοεί τη σύνδεση της πολυμεράσης στις θέσεις που έχουν υβριδισθεί οι εκκινητές και τη σύνθεση των συμπληρωματικών αλληλουχιών του DNA.

Για την τεχνική της PCR χρησιμοποιήθηκε η προτυποποιημένη εμπορική δοκιμασία "weak D-SSP" (Sequence Specific Priming, εκκινητές ειδικοί για κάθε αλληλουχία) (inno-TRAIN Diagnostik GmbH, Kronberg / Taunus, Germany), που επιτρέπει τη σαφή ανίχνευση των ειδικών διαφορετικών νουκλεοτιδικών αλληλουχιών (σημιακές μεταλλάξεις) μεταξύ των εννέα πιο συχνών αλληλόμορφων γονιδίων του ασθενούς D (τύποι 1, 2, 3, 4.0/4.1, 4.2, 5, 11, 14, 15).

Διαδικασία της PCR:

Για την παρασκευή του κυρίως μείγματος (master mix) (συνολικός όγκος 110μl) τοποθετήθηκαν σε μικροσωληνάρια των 1,5ml:

- 66μl νερό (DEMO S.A., Pharmaceutical Industry, Greece)
- 33μl redPCR που περιέχει dNTPs, ρυθμιστικό διάλυμα για την PCR, ερυθρό κρεσολίου (cresol red) και γλυκερίνη
- 11μl DNA (συγκέντρωσης περίπου 50ng/μl)
- 0,9μl Taq DNA πολυμεράση (5U/μl)

Αναδεύθηκαν καλά και τοποθετήθηκαν, με πιπέτα, 10μl σε κάθε έναν από τους 8 στη σειρά μικροσωληνίσκους (strip) της PCR, κάθε ένας από τους οποίους περιέχει προ-τοποθετημένο και λυοφιλιωμένο μείγμα εκκινητών.

Σε κάθε μικροσωληνίσκο υπάρχουν επίσης εκκινητές για την ενίσχυση του εσωτερικού μάρτυρα (γενετική ακολουθία της ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης, gene sequence of the Human Growth Hormone, HGH), θετικό σήμα τμήματος 434bp.

Στην αρνητική δοκιμασία, για το ασθενές D, ο θετικός μάρτυρας (positive control) θα πρέπει να είναι σαφώς ανιχνεύσιμος.

Κλείστηκαν, αεροστεγώς, οι μικροσωληνίσκοι και τοποθετήθηκαν σε απλό θερμικό κυκλοποιητή (DNA Engine® Thermal Cycler, BIORAD, California, USA) και ξεκίνησε η εφαρμογή.

Οι συνθήκες της PCR περιλαμβάνουν:

94°C	2 λεπτά
94°C	20 δευτερόλεπτα
70°C	60 δευτερόλεπτα x 5 κύκλους
94°C	20 δευτερόλεπτα
65°C	60 δευτερόλεπτα
72°C	45 δευτερόλεπτα x 10 κύκλους
94°C	20 δευτερόλεπτα
61°C	50 δευτερόλεπτα
72°C	45 δευτερόλεπτα x 20 κύκλους
72°C	5 λεπτά

Η διαδικασία διήρκεσε περίπου 30 λεπτά, και μετά την ολοκλήρωση της συλλέχθηκαν οι μικροσωληνίσκοι της PCR.

Αναμείχθηκε, όλο το προϊόν (συνολικός όγκος 10μl) κάθε μικροσωληνίσκου της PCR, με 3μl χρωστικής (100mM EDTA, 20%w/v ficoll, και 1% μπλε βρωμοφαινόλη), και τοποθετήθηκε με πιπέτα, στα πηγαδάκια πηκτής αγαρόζης 2% (E-Gel® Agarose Gels, Invitrogen, Carlsbad, California) και ηλεκτροφορήθηκε με τη χρήση συσκευής ηλεκτροφόρησης (E-Gel® PowerBase, Invitrogen, Carlsbad, California), υπό σταθερή τάση 100V, για 30 λεπτά αφού είχε προηγηθεί προθέρμανση της συσκευής για 15 λεπτά.

Τοποθετήθηκε, η κάθε πηκτική, σε υπεριώδες φως 220 nm, έγιναν ορατά τα προϊόντα της PCR, και ακολούθησε φωτογράφιση της πηκτικής και αποθήκευση της φωτογραφίας.

Η κάθε φωτογραφία αξιολογήθηκε ανάλογα με το θετικό σήμα των προϊόντων της PCR και σύμφωνα με τον πίνακα 2 ("weak D-SSP", inno-TRAIN Diagnostik GmbH, Kronberg / Taunus, Germany).

Πίνακας 2. Τυποποίηση θετικού σήματος (γκρι) των προϊόντων της PCR.								
Πηγαδάκι του μικροσωληνίσκου της PCR	1	2	3	4	5	6	7	8
Προϊόν της PCR (μέγεθος σε bp)	153	126	166	138	112	175 98	125	136
	τύπου 1	τύπου 2	τύπου 3	τύπου 4, 14	τύπου 5	τύπου 4.0, 4.1, 11	τύπου 4.2	τύπου 15
Ασθενές D τύπου 1								
Ασθενές D τύπου 2								
Ασθενές D τύπου 3								
Ασθενές D τύπου 4.0/4.1								
Ασθενές D τύπου 4.2								
Ασθενές D τύπου 5								
Ασθενές D τύπου 11								
Ασθενές D τύπου 14								
Ασθενές D τύπου 15								

Σε περίπτωση D(+) ή D(-) δείγματος, ο εσωτερικός μάρτυρας (HGH) θα πρέπει να είναι σαφώς ανιχνεύσιμος (θετικό σήμα), ως θετική απάντηση πως όλες οι ειδικές αντιδράσεις είναι αρνητικές.

4.5. Πολυμορφισμός της παραλλαγής του αντιγόνου D - Ατελής D

Η μελέτη του αντιγόνου D και του πολυμορφισμού του ατελούς D, του γονιδίου RHD περιλαμβάνει τα παρακάτω πειραματικά βήματα:

α. *Απομόνωση (extraction) του γενωμικού DNA*

Όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.4. (Ειδικό μέρος, Τεχνικές).

β. *Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)*

Για την τεχνική της PCR χρησιμοποιήθηκε η προτυποποιημένη εμπορική δοκιμασία "CDE-SSP" (Sequence Specific Priming, εκκινητές ειδικοί για κάθε αλληλουχία) (inno-TRAIN Diagnostik GmbH, Kronberg / Taunus, Germany).

Η δοκιμασία CDE-SSP αποτελείται από 15 μείγματα (8 πράσινα και 7 μπλε) με διαφορετικούς εκκινητές, που επιτρέπει τη σαφή ανίχνευση του D και των κατηγοριών D.

Διαδικασία της PCR:

Για την παρασκευή του κυρίως μείγματος (συνολικός όγκος 200μl) τοποθετήθηκαν σε μικροσωληνάριο των 1,5ml:

- 120μl νερό (DEMO S.A., Pharmaceutical Industry, Greece)
- 58,4μl redPCR που περιέχει dNTPs, ρυθμιστικό διάλυμα για την PCR, ερυθρό κρεσολίου και γλυκερίνη
- 20μl DNA (συγκέντρωσης περίπου 50ng/μl)
- 1,6μl Taq DNA πολυμεράση (5U/μl)

η σειρά μικροσωληνίων προγεμισμένων με αντιδραστήρια

Αναδεύθηκαν καλά και τοποθετήθηκαν, με πιπέτα, 10μl σε κάθε έναν από τους 15 στη σειρά μικροσωληνίσκους της PCR, κάθε ένας από τους οποίους περιέχει προ-τοποθετημένο και λυοφιλιωμένο μείγμα εκκινητών.

Σε κάθε μικροσωληνίσκο, υπάρχουν επίσης εκκινητές για την ενίσχυση του εσωτερικού μάρτυρα (HGH), θετικό σήμα τμήματος 434bp.

Σε αρνητική δοκιμασία ο θετικός μάρτυρας θα πρέπει να είναι σαφώς ανιχνεύσιμος.

Κλείστηκαν, αεροστεγώς, οι μικροσωληνίσκοι και τοποθετήθηκαν σε απλό θερμικό κυκλοποιητή (DNA Engine® Thermal Cycler, BIORAD, California, USA) και ξεκίνησε η εφαρμογή.

Οι συνθήκες της PCR περιλαμβάνουν:

94°C	2 λεπτά
94°C	20 δευτερόλεπτα
70°C	60 δευτερόλεπτα x 5 κύκλους
94°C	20 δευτερόλεπτα
65°C	60 δευτερόλεπτα
72°C	45 δευτερόλεπτα x 10 κύκλους
94°C	20 δευτερόλεπτα
61°C	50 δευτερόλεπτα
72°C	45 δευτερόλεπτα x 20 κύκλους
72°C	5 λεπτά

Η διαδικασία διήρκεσε περίπου 30 λεπτά, και μετά την ολοκλήρωση της συλλέχθηκαν οι μικροσωληνίσκοι της PCR.

Αναμείχθηκε, όλο το προϊόν (συνολικός όγκος 10μl) κάθε μικροσωληνίσκου της PCR, με 3μl χρωστικής (100mM EDTA, 20%w/v ficoll, και 1% μπλε βρωμοφαινόλη), και τοποθετήθηκε με πιπέτα, στα πηγαδάκια πηκτής αγαρόζης 2% (E-Gel® Agarose Gels, Invitrogen, Carlsbad, California) και ηλεκτροφορήθηκε με τη χρήση συσκευής ηλεκτροφόρησης (E-Gel® PowerBase, Invitrogen, Carlsbad, California), υπό σταθερή τάση 100V, για 30 λεπτά αφού είχε προηγηθεί προθέρμανση της συσκευής για 15 λεπτά.

Τοποθετήθηκε, η κάθε πηκτική, σε υπεριώδες φως 220 nm, έγιναν ορατά τα προϊόντα της PCR, και ακολούθησε φωτογράφιση της πηκτικής και αποθήκευση της φωτογραφίας.

Η κάθε φωτογραφία αξιολογήθηκε ανάλογα με το θετικό σήμα των προϊόντων της PCR και σύμφωνα με τον πίνακα 3 ("CDE-SSP", inno-TRAIN Diagnostik GmbH, Kronberg / Taunus, Germany).

Πίνακας 3. Τυποποίηση θετικού σήματος (γκρι) των προϊόντων της PCR.															
Πηγαδάκι του μικροσωληνίσκου της PCR	Πράσινοι μικροσωληνίσκοι								Μπλε μικροσωληνίσκοι						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Προϊόν της PCR (μέγεθος σε bp)	147	113	122	153	130	122	186	147	137	145	157	155	111	204	166
Ειδικότητα (1-8 εξώνια RHD)	D ₂ C	D ₃	D ₄	D ₅	D ₆	D ₇	D ₉	D ₁₀	C	c c ₂	E	e	C c ₂	C ^W	C ^{VII}
RhD															
Rhd															
RhC															
RhC ^W															
Rhc															
Rhc ²															
RhE															
Rhe															
RhD ^{II}															
RhD ^{IIIa}															
RhD ^{IIIb}															

RhD ^{IIIc}																		
RhD ^{Va}																		
RhD ^{Vb}																		
RhD ^{IV typ III}																		
RhD ^{IV typ IV}																		
RhD ^{Va}																		
RhD ^{VI typ I}																		
RhD ^{VI typ II}																		
RhD ^{VI typ III}																		
RhD ^{VII}																		
DFR																		
DHMii																		
Rh 33 (Ro ^{Har})																		
DNU, DNB																		
DBT																		
DFW																		
DHR, DHMi																		
D non expr. - 1																		
D non expr. - 2																		

5. ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

5.1. Η επιστήμη της στατιστικής προτείνει ένα μεγάλο σύνολο από τεχνικές για την οργάνωση και την ανάλυση των δεδομένων και οι τεχνικές μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε δύο γενικές κατηγορίες:

την *περιγραφική στατιστική* (descriptive statistics), η οποία περιλαμβάνει μεθόδους για την οργάνωση, απλοποίηση και συνοπτική παρουσίαση των δεδομένων (data). Οι κατανομές συχνότητας (frequency distributions) αποτελούν μία από τις πιο γνωστές μεθόδους για την παρουσίαση ενός συνόλου δεδομένων, και

την *επαγωγική στατιστική* (inferential statistics), η οποία περιλαμβάνει τεχνικές που επιτρέπουν την ανάλυση τέτοιων δεδομένων ώστε να γίνει εφικτή η εξαγωγή χρήσιμων και γενικεύσιμων συμπερασμάτων για τους πληθυσμούς (populations), με βάση τις πληροφορίες που συλλέγονται από τα δείγματα (sample).

Ο έλεγχος υποθέσεων (hypothesis testing) επιτρέπει τον έλεγχο της εγκυρότητας μιας θεωρίας και η λογική του περιλαμβάνει τα εξής βήματα:

Βήμα 1^ο: Διατύπωση των Υποθέσεων

Το πρώτο βήμα σε έναν έλεγχο υποθέσεων είναι να διατυπωθεί η μηδενική υπόθεση H_0 (null hypothesis) και η εναλλακτική υπόθεση H_1 (alternative hypothesis) που είναι η ακριβώς αντίθετη από τη μηδενική υπόθεση.

Βήμα 2^ο: Διαμόρφωση των Κριτηρίων για τη Λήψη μιας Απόφασης
Αφού συλλεχτούν κάποια δεδομένα από τα δείγματα, αξιολογείται η αξιοπιστία της μηδενικής υπόθεσης.

Για να δικαιολογηθεί η απόφαση ώστε απορριφθεί η μηδενική υπόθεση, απαιτείται να τεθούν κάποια κριτήρια, που καθορίζουν επακριβώς πόση διαφορά χρειάζεται να υφίσταται ανάμεσα στην τιμή του στατιστικού δείκτη και στην τιμή που προβλέπει η μηδενική υπόθεση για την παράμετρο του πληθυσμού.

Η πιθανότητα τα αποτελέσματα να είναι εσφαλμένα ονομάζεται επίπεδο σημαντικότητας ή επίπεδο α (level of significance or alpha level), η οποία καθορίζεται αυθαίρετα και συνήθως λαμβάνει την τιμή 0,05, και καθορίζει τη μέγιστη πιθανότητα το αποτέλεσμα της στατιστικής ανάλυσης να οφείλεται σε σφάλματα ή τυχαίους παράγοντες, δηλαδή η μέγιστη αποδεκτή πιθανότητα τα αποτελέσματα να είναι εσφαλμένα είναι 5%.

Η τιμή α , συγκρίνεται με το παρατηρούμενο επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας (τιμή p). Η τιμή p υπολογίζεται με την προϋπόθεση ότι η μηδενική υπόθεση είναι αληθής.

Έτσι εάν η τιμή p , που προκύπτει από τα δεδομένα της ανάλυσης, είναι μικρότερη από την τιμή α , τότε απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση, ενώ αν η τιμή p είναι μεγαλύτερη από την τιμή α , τότε δεν απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση, αλλά και ούτε επιβεβαιώνεται.

Βήμα 3^ο: Συλλογή Δεδομένων από Δείγματα

Το επόμενο βήμα στη μέθοδο ελέγχου υποθέσεων είναι η συλλογή των δεδομένων από το δείγμα και ο υπολογισμός των κατάλληλων περιγραφικών στατιστικών δεικτών.

Βήμα 4^ο: Αξιολόγηση της Μηδενικής Υπόθεσης

Στο τελευταίο βήμα της μεθόδου ελέγχου υποθέσεων μελετάμε την εγκυρότητα της μηδενικής υπόθεσης με τη βοήθεια στατιστικών δεικτών, ώστε να λάβουμε μια απόφαση σύμφωνα με τα κριτήρια που έχουμε θέσει στο δεύτερο βήμα. Υπάρχουν λοιπόν δύο δυνατότητες, είτε αποφασίζουμε να απορρίψουμε τη μηδενική υπόθεση (reject the null hypothesis) όταν τα αποτελέσματα που προκύπτουν από το δείγμα είναι σημαντικά (significantly) διαφορετικά από αυτά που προβλέπει η μηδενική υπόθεση, είτε οδηγούμαστε στην απόφαση ότι αποτύχαμε να απορρίψουμε τη μηδενική υπόθεση (fail to reject the null hypothesis) όταν τα αποτελέσματα του πειράματος δεν παρέχουν επαρκείς αποδείξεις ότι η μηδενική υπόθεση δεν ισχύει³⁴⁰.

Στην παρούσα μελέτη:

1) Υπολογίσαμε τις κατανομές συχνότητας με τη χρήση του λογισμικού SPSS (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA)

2) Διατυπώσαμε:

α) τη μηδενική υπόθεση (H_01), δηλαδή ότι οι παρατηρούμενες συχνότητες (παρούσα μελέτη) δεν διαφέρουν από τις αναμενόμενες (άλλων μελετών). Συνεπώς, θα μπορούμε να συμπεράνουμε, ότι οι μελέτες ταιριάζουν και οι πληθυσμοί στους οποίους έγιναν παρουσιάζουν παρόμοια χαρακτηριστικά, και

την εναλλακτική υπόθεση (H_11), απορρίπτοντας την μηδενική υπόθεση, ότι οι παρατηρούμενες συχνότητες δεν μπορούν να προβλεφθούν από τις αναμενόμενες

β) τη μηδενική υπόθεση (H_02), δηλαδή ότι οι παρατηρούμενες συχνότητες (Τουρκία) δεν διαφέρουν από τις αναμενόμενες (άλλων μελετών), και

την εναλλακτική υπόθεση (H_12), απορρίπτοντας την μηδενική υπόθεση, ότι οι παρατηρούμενες συχνότητες δεν μπορούν να προβλεφθούν από τις αναμενόμενες

3) Χρησιμοποιήσαμε και υπολογίσαμε τον στατιστικό δείκτη ελέγχου X^2 (στατιστικό τεστ X^2 , Chi-Square test), με βάση τον τύπο:

$$X^2 = \sum ((\Pi - A)^2 / A),$$

όπου: Π = η παρατηρούμενη και A = η αναμενόμενη συχνότητα

4) Υπολογίσαμε, με τη βοήθεια του λογιστικού φύλλου EXCEL, την τιμή p και εξετάσαμε την υπόθεση σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ ($p < 0,05$).

5.2. Η γενετική απόσταση (genetic distance) διακρίνεται: στην γεωμετρική γενετική απόσταση (geometrical genetic distance) και στην εξελικτική γενετική απόσταση (evolutionary genetic distances), η οποία αποτελεί μέτρο της συνολικής διαφοράς της συχνότητας του κάθε αλληλόμορφου γονιδίου, σε κάθε γονιδιακό τόπο, δύο πληθυσμών και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της γενετικής ποικιλομορφίας εντός και μεταξύ πληθυσμών και στην κατασκευή φυλογενετικών δέντρων (phylogenetic trees).

Η τιμή της γενετικής απόστασης κυμαίνεται μεταξύ 0 και 1. Όσο η τιμή τείνει προς την τιμή 0, τόσο πιο όμοια χαρακτηριστικά παρουσιάζουν οι δυο πληθυσμοί, ενώ όσο τείνει προς την τιμή 1, τόσο πιο διαφορετικά χαρακτηριστικά παρουσιάζουν.

Για υπολογισμό της γενετικής απόστασης ή συγγένειας έχουν αναπτυχθεί αρκετές μέθοδοι, οι πιο συχνές από τις οποίες είναι:

α. η τυπική γενετική απόσταση του Nei³⁴¹, η οποία υπολογίζεται σύμφωνα με τον τύπο:

$$D_A = -\ln \left[\frac{\sum_{i=1}^{n_i} \sum_{j=1}^{n_j} x_{ij} y_{ij}}{\sqrt{\sum_{i=1}^{n_i} \sum_{j=1}^{n_j} x_{ij}^2 \sum_{i=1}^{n_i} \sum_{j=1}^{n_j} y_{ij}^2}} \right]$$

β. η απόσταση Cavalli-Sforza³⁴², η οποία υπολογίζεται σύμφωνα με τον τύπο:

$$D_{CSE} = \frac{4 \sum_{i=1}^{n_i} \left(1 - \sum_{j=1}^{n_j} \sqrt{x_{ij} y_{ij}} \right)}{\sum_{i=1}^{n_i} (n_i - 1)}$$

γ. η γενετική απόσταση του Reynolds³⁴³, η οποία υπολογίζεται σύμφωνα με τον τύπο:

$$D_{\theta} = \frac{\sum_{i=1}^{n_i} \sum_{j=1}^{n_j} (x_{ij} - y_{ij})^2}{2 \sum_{i=1}^{n_i} (1 - \sum_{j=1}^{n_j} x_{ij} y_{ij})}$$

όπου:

X και Y = οι δύο πληθυσμοί,

r = ο αριθμός των γονιδιακών τόπων

m = ο αριθμός των αλληλόμορφων γονιδίων κάθε γονιδιακού τόπου

x_{ij} = η συχνότητα του i αλληλόμορφου γονιδίου, στον j γονιδιακό τόπο του πληθυσμού X

y_{ij} = η συχνότητα του i αλληλόμορφου γονιδίου, στον j γονιδιακό τόπο του πληθυσμού Y

i = ο αριθμός του αλληλόμορφου γονιδίου

j = ο αριθμός του γονιδιακού τόπου

Και τα τρία μέτρα υποθέτουν ότι, όλες οι διαφορές μεταξύ των πληθυσμών προκύπτουν από γενετικές αποκλίσεις (genetic drifts).

Το μοντέλο του Nei, σε ότι αφορά στη γενετική απόσταση, δέχεται ότι υπάρχει μία επίπτωση (rate) ουδέτερης μετάλλαξης (neutral mutation) και κάθε μετάλλαξη συμβαίνει σε ένα εντελώς νέο αλληλόμορφο γονίδιο.

Υποθέτει ότι όλοι οι γονιδιακοί τόποι έχουν την ίδια τιμή ουδέτερης μετάλλαξης, και ότι η γενετική ποικιλομορφία (genetic variability), ενός πληθυσμού βρίσκεται σε ισορροπία μεταξύ μετάλλαξης και γενετικής απόκλισης, και το ενεργό μέγεθος του πληθυσμού, κάθε πληθυσμού, να παραμένει σταθερό.

Τα άλλα δύο μέτρα γενετικής απόστασης (Cavalli-Sforza και Reynolds) βασίζονται στην υπόθεση, ότι δεν υπάρχει καμία μετάλλαξη, και ότι η αλλαγή των συχνοτήτων του γονιδίου, είναι από μόνη της μια γενετική απόκλιση.

Όμως δεν υποθέτουν ότι το μέγεθος του πληθυσμού που φέρει το γονίδιο παραμένει σταθερό και ίσο, σε όλους τους υπό μελέτη πληθυσμούς. Υποθέτουν ότι η αλλαγή στο μέγεθος του πληθυσμού δεν αυξάνει γραμμικά με το χρόνο, αλλά με την πάροδο του χρόνου, η οποία είναι ίση με $1/N$, όπου N είναι το ενεργό (effective) μέγεθος του πληθυσμού.

Έτσι, αν το μέγεθος του πληθυσμού διπλασιάζεται, η γενετική απόκλιση θα πρέπει να συμβαίνει πιο αργά, και η γενετική απόσταση θα περιμένουμε να αυξάνει κατά το ήμισυ ως προς το χρόνο^{344, 345, 346}.

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήσαμε τη γενετική απόσταση του Reynolds, μέσω του προγράμματος GenDist, του λογισμικού πακέτου Phylip (Phylogeny Inference Package).

6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

6.1. Κατανομές της συχνότητας

6.1.1. Υπολογίσθηκε η κατανομή της συχνότητας των τύπων ομάδας αίματος του συστήματος ABO και τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 4.

Πίνακας 4. Κατανομή της συχνότητας των τύπων του συστήματος ABO.			
Τύπος ABO	Άρρενες Ποσοστό, % (n=443)	Θήλεα Ποσοστό, % (n=472)	Σύνολο Ποσοστό, % (n=915)
A	35,9	41,1	38,6 (n=353)
B	15,6	15,9	15,7 (n=144)
AB	7,4	8,3	7,9 (n=72)
O	41,1	34,7	37,8 (n=346)

6.1.2. Υπολογίσθηκε, η κατανομή της συχνότητας των τύπων ομάδας αίματος του συστήματος Rh, μετά από διόρθωση δύο δειγμάτων RhD(-), που τυποποιήθηκαν ως RhD(+), καθώς ανήκαν στην κατηγορία ασθενούς D) και τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 5.

Πίνακας 5. Κατανομή της συχνότητας των τύπων του συστήματος Rh.	
Τύπος Rh	Σύνολο Ποσοστό, % (n=915)
RhD(+)	83,8 (n=767)
RhD(-)	16,2 (n=148)

Η κατανομή της συχνότητας των αντιγόνων C, c, E και e του συστήματος Rh φαίνεται στον πίνακα 6.

Πίνακας 6. Κατανομή της συχνότητας των αντιγόνων C, c, E και e.	
Αντιγόνο	Σύνολο Ποσοστό, % (n=915)
e	85,03
c	51,48
C	48,52
E	19,97

Η κατανομή της συχνότητας του αντιγόνου D (RhD(+)) και των παραλλαγών του, φαίνεται στον πίνακα 7.

Πίνακας 7. Κατανομή της συχνότητας του αντιγόνου D και των παραλλαγών του.	
Αντιγόνο D	Μερικό ποσοστό, % (n=767)
Πλήρες D (Whole D)	96,22 (n=738)
Ατελής D (Partial D)	3,52 (n=27)
Ασθενές D (Weak D)	0,26 (n=2)

Η κατανομή της συχνότητας των γονοτύπων του συστήματος Rh, φαίνεται στον πίνακα 8.

Πίνακας 8. Κατανομή της συχνότητας των γονοτύπων του συστήματος Rh.					
Γονότυποι Rh	Whole D Μερικό ποσοστό, % (n=738)	Partial D Μερικό ποσοστό, % (n=27)	Week D Μερικό ποσοστό, % (n=2)	RhD(-) Μερικό ποσοστό, % (n=148)	Σύνολο Ποσοστό, % (n=915)
DCcee	34,90	37,00			29,29 (n=268)
DCCee	29,70	22,20			24,70 (n=226)
DCcEe	17,88	14,80	50,00		14,97 (n=137)
DccEe	12,00	22,20			10,38 (n=95)
Dccee	2,70	3,70			2,30 (n=21)
DccEE	2,16		50,00		1,86 (n=17)
DCCEE	0,30				0,22 (n=2)
DCCEe	0,10				0,11 (n=1)
dccee				84,5	13,77 (n=125)
dCcee				10,8	1,75 (n=16)
dCCee				0,2	0,33 (n=3)
dCcEe				0,2	0,33 (n=3)
dccEe				0,1	0,10 (n=1)

Η κατανομή της συχνότητας των απλοτύπων του συστήματος Rh, φαίνεται στον πίνακα 9.

Πίνακας 9. Κατανομή της συχνότητας των απλοτύπων του συστήματος Rh.	
Απλότυποι Rh	Σύνολο Ποσοστό, %
DCe	46,12
cde	35,74
DcE	14,43
Dce	1,75
dCe	1,37
dcE	0,33
DCE	0,27

Στο πίνακα 10, φαίνεται η κατανομή της συχνότητας των τύπων της ομάδας αίματος του συστήματος ABO και του συστήματος Rh.

Πίνακας 10. Κατανομή της συχνότητας των τύπων της ομάδας αίματος του συστήματος ABO και του συστήματος Rh.

Τύπος ABO	Τύπος Rh	Άρρενες Ποσοστό, % (n=443)	Θήλεα Ποσοστό, % (n=472)	Σύνολο Ποσοστό, % (n=915)
A	RhD(+)	32,1	31,3	31,7 (n=290)
B		12,9	12,5	12,7 (n=116)
AB		6,3	7,0	6,6 (n=61)
O		36,1	29,4	32,7 (n=299)
A	RhD(-)	3,8	9,7	6,9 (n=63)
B		2,7	3,4	3,1 (n=28)
AB		1,1	1,3	1,2 (n=11)
O		5,0	5,3	5,1 (n=47)

6.1.3. Υπολογίσθηκε η κατανομή της συχνότητας των τύπων ομάδας αίματος του συστήματος Kell και τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 11.

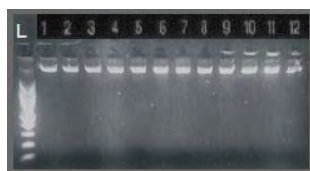
Πίνακας 11. Κατανομή της συχνότητας των τύπων του συστήματος Kell.

Τύποι Kell	Άρρενες Ποσοστό, % (n=443)	Θήλεα Ποσοστό, % (n=472)	Σύνολο Ποσοστό, % (n=915)
K, K(+)	6,1 (n=27)	5,1 (n=24)	5,6 (n=51)
k, K(-)	93,9 (n=416)	94,9 (n=448)	94,4 (n=864)

6.1.4. Πολυμορφισμός της παραλλαγής του αντιγόνου D - Ασθενές D

α. Ακολουθήθηκε η τεχνική που περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.4. (Ειδικό μέρος, Τεχνικές), υπολογίστηκε η συγκέντρωση του DNA στο τελικό διάλυμα και βρέθηκε πως αντιστοιχεί σε ~50mg/ml και οι τιμές OD ratio κυμαίνονταν μεταξύ 1,7 με 1,9.

Το αποτέλεσμα της ηλεκτροφόρησης, μετά από φωτογράφιση φαίνεται στην εικόνα 3.



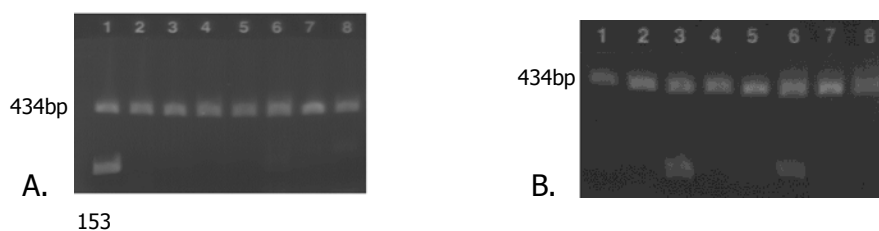
Εικόνα 3. Αποτελέσματα ηλεκτροφόρησης του απομονωμένου DNA.

L: Ladder DNA 100bp και

Διαδρομές 1-12: απομονωμένο DNA.

Η ανάδειξη των προϊόντων της PCR έγινε με ηλεκτροφόρηση και τα αποτελέσματα μετά την αξιολόγηση τους, σύμφωνα με το πίνακα 2 (Ειδικό μέρος, Τεχνικές), ανάλογα με το θετικό σήμα

των προϊόντων της PCR (εικόνα 4), φαίνονται στον πίνακα 12, καθώς επίσης και ο τύπος ομάδος αίματος του συστήματος ABO, ο γενότυπος του συστήματος Rh, και η κατανομή της συχνότητας τους.



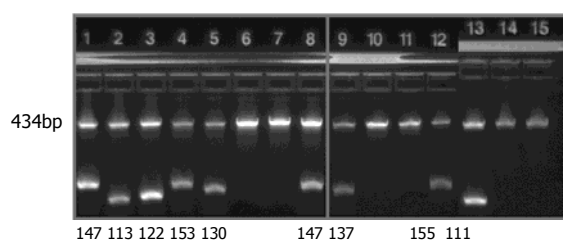
Εικόνα 4. Αποτελέσματα των προϊόντων της PCR, για την τυποποίηση του ασθενούς D.
 Α. Τύπος 1 ασθενούς D
 Β. Ατυποποίητο

Πίνακας 12. Κατανομές συχνότητας των τύπων του ασθενούς D, τύπος συστήματος ABO και γενότυπος του συστήματος Rh.			
Τύπος ασθενούς D	Μερικό Ποσοστό, % (n=767)	Τύπος ABO, Μερικό Ποσοστό, % (n=917)	Γενότυπος Rh, Σύνολο Ποσοστό, % (n=915)
1	0,13 (n=1)	O, 0,11	CcDEe, 0,11
Ατυποποίητο	0,13 (n=1)	B, 0,11	ccDEE, 0,11

6.1.5. Πολυμορφισμός της παραλλαγής του αντιγόνου D - Ατελής D

α. Ακολουθήθηκε η τεχνική που περιγράφεται κεφάλαιο 4.5. (Ειδικό μέρος, Τεχνικές), υπολογίστηκε η συγκέντρωση του DNA στο τελικό διάλυμα και βρέθηκε πως αντιστοιχεί σε ~50mg/ml και οι τιμές OD ratio κυμαίνονταν μεταξύ 1,7 με 1,9.

Η ανάδειξη των προϊόντων της PCR έγινε με ηλεκτροφόρηση και τα αποτελέσματα μετά την αξιολόγηση τους, σύμφωνα με το πίνακα 3 (Ειδικό μέρος, Τεχνικές), ανάλογα με το θετικό σήμα των προϊόντων της PCR (εικόνα 5), φαίνονται στον πίνακα 13.



Εικόνα 5. Αποτελέσματα των προϊόντων της PCR, για την τυποποίηση του ατελούς D, τύπος RhD^{IVb}.

Πίνακας 13. Κατανομές συχνότητας των τύπων του ατελούς D.

Τύπος ατελούς D	Μερικό Ποσοστό, % (n=27)	Μερικό Ποσοστό, % (n=767)
RhD ^{IIIb}	14,81 (n=4)	0,52
RhD ^{IIIc}	3,70 (n=1)	0,13
RhD ^{IVa}	3,70 (n=1)	0,13
RhD ^{IVb}	18,52 (n=5)	0,65
RhD ^{Va}	7,41 (n=2)	0,26
RhD ^{VI typ I}	14,81 (n=4)	0,52
RhD ^{VI typ II}	14,81 (n=4)	0,52
RhD ^{VI typ III}	14,81 (n=4)	0,52
Rh 33 (R ₀ ^{Har})	7,41 (n=2)	0,26

6.2. Σύγκριση αποτελεσμάτων με αποτελέσματα άλλων μελετών

6.2.1. Η κατανομή της συχνότητας των τύπων της ομάδας αίματος του συστήματος ABO, της παρούσας μελέτης και των συχνοτήτων άλλων μελετών, φαίνεται στον πίνακα 14.

Πίνακας 14. Κατανομή της συχνότητας των τύπων του συστήματος ABO της παρούσας μελέτης και των συχνοτήτων άλλων μελετών.

	Τύπος ABO				
	A Ποσοστό, %	B Ποσοστό, %	AB Ποσοστό, %	O Ποσοστό, %	Άγνωστο Ποσοστό, %
Θεσσαλία, Ελλάδα Παρούσα μελέτη	38,60	15,70	7,90	37,80	
Καυκάσιοι Reid, 2004 ⁴³	43,00	9,00	4,00	44,00	
Ασιάτες Reid, 2004 ⁴³	27,00	25,00	5,00	43,00	
Έγχρωμοι Reid, 2004 ⁴³	27,00	20,00	4,00	49,00	
ΒΔ Ελλάδα Fraser, 1969 ³⁴⁷	24,10	10,00	2,56	34,30	28,70
Ελλάδα Κωνσταντούλης, 1958 ³⁴⁸	37,93	12,93	4,75	44,39	
Ινδία Swadesh, 1961 ³⁴⁹	23,43	31,35	6,11	39,11	
Αίγυπτος, Κάιρο Awany, 1965 ³⁵⁰	33,94	20,96	8,65	36,44	
ΝΔ Γερμανία Wagner, 1995 ¹³²	43,21	10,71	4,82	41,21	
Ιταλία Vajani, 1961 ³⁵¹	38,79	11,24	4,17	45,81	
Τουρκία Mizan, 1967 ³⁵²	43,67	16,49	7,43	32,42	

Πακιστάν Lodhi, 1960 ³⁵³	21,39	33,83	37,81	6,97	
Ατσιγγανοί, Ελλάδα ³⁵⁴ Μυλωνά – Καραγιάννη, 1979	29,00	32,00	11,5	27,5	
Ιράν Mohallatee, 1969 ³⁵⁵	28,42	23,66	6,68	41,24	

6.2.2. Η κατανομή της συχνότητας των τύπων της ομάδας αίματος του συστήματος Rh, της παρούσας μελέτης και των συχνοτήτων άλλων μελετών, φαίνεται στον πίνακα 15.

Πίνακας 15. Κατανομή της συχνότητας των τύπων της ομάδας αίματος του συστήματος Rh της παρούσας μελέτης και των συχνοτήτων άλλων μελετών.

	Τύπος Rh		
	RhD(+) Ποσοστό, %	RhD(-) Ποσοστό, %	Άγνωστο Ποσοστό, %
Θεσσαλία, Ελλάδα Παρούσα μελέτη	83,80	16,20	
ΝΔ Γερμανία Wagner, 1995 ¹³²	82,71	17,29	
Καυκάσιοι Reid, 2004 ⁴³	85,00	15,00	
Ασιάτες Luettringhaus, 2006 ³⁵⁶	99,00	1,00	
Έγχρωμοι Αφρικοί Faas, 1997 ⁸⁴	93,50	6,50	
ΒΔ Ελλάδα Fraser, 1969 ³⁴⁷	61,04	5,11	33,83
Ελλάδα Κωνσταντούλης, 1958 ³⁴⁸	88,76	11,23	
Ατσιγγανοί, Ελλάδα Μυλωνά – Καραγιάννη, 1979 ³⁵⁴	70,00	30,00	

Η κατανομή της συχνότητας των γονοτύπων RhD, του συστήματος Rh, της παρούσας μελέτης και των συχνοτήτων άλλων μελετών, φαίνεται στον πίνακα 16.

Πίνακας 16. Κατανομή της συχνότητας των γονοτύπων RhD(+), της παρούσας μελέτης και των συχνοτήτων άλλων μελετών.

Γενότυποι Rh	Παρούσα μελέτη Θεσσαλία, Ελλάδα Ποσοστό % (n=915)	Wagner, 1995 ¹³² ΝΔ Γερμανία Ποσοστό % (n=624163)	Μυλωνά – Καραγιάννη, 1979 ³⁵⁴ Ατσιγγανοί, Ελλάδα Ποσοστό % (n=200)
DCcee	29,29	35,58	33,50
DCCee	24,70	19,49	38,00
DCcEe	14,97	12,49	11,50
DccEe	10,38	11,29	1,00
Dccee	2,30	1,66	4,00
DccEE	1,86	2,02	1,50
DCCcEe	0,11	0,15	

dccee	13,77	15,81	9,00
dCcee	1,75	0,83	
dccEe	0,10	0,43	
dCCee	0,33	0,012	
dCcEe	0,33	0,014	
DCCEE	0,22	0,0004	1,00
dccEe		0,0021	
DCcEE		0,037	0,50
dCCee		0,00016	
dCcEE		0,00016	

Η κατανομή της συχνότητας των απλοτύπων του συστήματος Rh, της παρούσας μελέτης και των συχνοτήτων άλλων μελετών, φαίνεται στον πίνακα 17.

Πίνακας 17. Κατανομή της συχνότητας των απλοτύπων, της παρούσας μελέτης και των συχνοτήτων άλλων μελετών.

Απλότυποι Rh	Παρούσα μελέτη Θεσσαλία, Ελλάδα Ποσοστό % (n=915)	Wagner, 1995 ¹³² ΝΔ Γερμανία Ποσοστό % (n=624163)	Canatan, 1999 ³⁵⁷ Τουρκία Ποσοστό % (n=3061)
DCE	46,12	43,10	46,7
cde	35,74	39,40	33,8
DcE	14,43	13,60	16,1
Dce	1,75	2,10	2,6
dCe	1,37	1,10	0,5
dcE	0,33	0,56	0,08
DCE	0,27	0,15	0,13
dCE		<0,0001	

6.2.3. Η κατανομή της συχνότητας των τύπων της ομάδας αίματος του συστήματος Kell της παρούσας μελέτης και των συχνοτήτων άλλων μελετών φαίνεται στον πίνακα 18.

Πίνακας 18. Κατανομή της συχνότητας των τύπων του συστήματος Kell, της παρούσας μελέτης και των συχνοτήτων άλλων μελετών.

	Τύπος Kell		
	K(+) Ποσοστό, %	K(-) Ποσοστό, %	Άγνωστο Ποσοστό, %
Θεσσαλία, Ελλάδα Παρούσα μελέτη	5,60	94,40	
Καυκάσιοι Reid, 2004 ⁴³	9,00	91,00	
Άραβες Reid, 2004 ⁴³	25,00	75,00	
Έγχρωμοι Reid, 2004 ⁴³	2,00	98,00	

ΒΔ Ελλάδα Fraser, 1969 ³⁴⁷	8,48	51,74	9,76
Ατσίγγανοι, Ελλάδα Μυλωνά – Καραγιάννη 1979 ³⁵⁴	6,75	93,25	
ΝΔ Γερμανία Wagner, 1995 ¹³²	7,82	92,18	
Τουρκία Canatan, 1999 ³⁵⁷	5,42	94,58	

6.3. Έλεγχος υποθέσεων

6.3.1. Πραγματοποιήθηκε ο έλεγχος της υπόθεσης H_01 , όπως αυτός διατυπώνεται στο κεφάλαιο 5.1 (Ειδικό μέρος, Ανάλυση αποτελεσμάτων), χρησιμοποιώντας τον στατιστικό δείκτη χ^2 , σε επίπεδο σημαντικότητας 5% ($p < 0,05$).

Τα αποτελέσματα για τους τύπους του συστήματος ABO, με βαθμούς ελευθερίας "m"=3, φαίνονται στα πινακάκια 1 έως 6.

1	ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ n=915	ΙΝΔΙΑ, Swadesh, 1961 ³⁴⁹ n=600		
	%	%	χ^2	p
A	38,60	23,43	0,059618886	0,996196879
B	15,70	31,35	0,156001592	0,984358516
AB	7,90	6,11	0,004055823	0,999931387
O	37,80	39,11	0,000453995	0,999997428

2	ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ n=915	ΑΙΓΥΠΤΟΣ, ΚΑΙΡΟ, Awany, 1965 ³⁵⁰ n=601		
	%	%	χ^2	p
A	38,60	33,94	0,005625803	0,999887963
B	15,70	20,96	0,017622675	0,999381084
AB	7,90	8,65	0,000712025	0,999994948
O	37,80	36,44	0,000489312	0,999997122

3	ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ n=915	ΙΤΑΛΙΑ, Vajani, 1961 ³⁵¹ n=1967		
	%	%	χ^2	p
A	38,60	38,79	9,35233E-06	0,999999992
B	15,70	11,24	0,012669809	0,999622146
AB	7,90	4,17	0,017611266	0,999381683
O	37,80	45,81	0,016973571	0,999414849

4	ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ n=915	ΙΡΑΝ, Mohallatee, 1969 ³⁵⁵ n=16368		
	%	%	χ^2	p
A	38,60	28,42	0,026847772	0,998839391
B	15,70	23,66	0,040357707	0,997869623
AB	7,90	6,68	0,001884051	0,999978262
O	37,80	41,24	0,003130582	0,999953

5	ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ n=915	ΤΟΥΡΚΙΑ, Mizan, 1967 ³⁵² n=8430		
	%	%	χ^2	p
A	38,60	43,67	0,006659301	0,999855757
B	15,70	16,49	0,000397516	0,999997892
AB	7,90	7,43	0,00027962	0,999998757
O	37,80	32,42	0,007657249	0,999822201

6	ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ n=915	ΠΑΚΙΣΤΑΝ, Lodhi, 1960 ³⁵³ n=201		
	%	%	χ^2	p
A	38,60	21,39	0,076731632	0,994475345
B	15,70	37,81	0,311370764	0,957875952
AB	7,90	6,97	0,00109481	0,999990369
O	37,80	33,83	0,00416955	0,999928483

Τα αποτελέσματα για τους γονοτύπους του συστήματος Rh, με βαθμούς ελευθερίας "m"=12, φαίνονται στα πινακάκια 1 έως 3.

1	ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ n=915	ΝΔ ΓΕΡΜΑΝΙΑ, Wagner, 1995 ¹³² n=624163		
	%	%	χ^2	p
DCcee	29,29	35,58	0,011121111	1,0000000000000000
DCCee	24,70	19,49	0,013924272	1,0000000000000000
DCcEe	14,97	12,49	0,004934898	1,0000000000000000
DccEe	10,38	11,29	0,000729434	1,0000000000000000
Dccee	2,30	1,66	0,002429693	1,0000000000000000
DccEE	1,86	2,02	0,000130044	1,0000000000000000
DCCeE	0,11	0,15	0,000110489	1,0000000000000000
dccee	13,77	15,81	0,002630989	1,0000000000000000
dCcee	1,75	0,83	0,010167328	1,0000000000000000
dccEe	0,10	0,43	0,002532558	1,0000000000000000
dCCee	0,33	0,012	0,083144277	0,9999999999930820
dCcEe	0,33	0,014	0,070366898	0,9999999999974440
DCCEE	0,22	0,0004	1,190054464	0,9999628804313100
DCcEE		0,037		
dCCeE		0,00016		
dCcEE		0,00016		
dccEE		0,0021		

2	ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ n=915	ΤΟΥΡΚΙΑ, CANATAN, 1999 ³⁵⁷ n=3061		
	%	%	χ^2	p
DCcee	29,29	33,00	0,004700279	1,0000000000000000
DCCee	24,70	21,80	0,003403651	1,0000000000000000
DCcEe	14,97	30,50	0,161025134	0,9999999996468980
DccEe	10,38	10,40	2,94507 x 10 ⁻⁷	1,0000000000000000
Dccee	2,30	2,70	0,000714391	1,0000000000000000
DccEE	1,86	2,40	0,004700279	1,0000000000000000
DCCeE	0,11		0,001092896	1,0000000000000000
dccee	13,77	11,60	0,003421109	1,0000000000000000
dCcee	1,75		0,017486339	0,9999999999999990
dccEe	0,10	0,98	0,07744	0,999999999954720
dCCee	0,33		0,003278689	1,0000000000000000
dCcEe	0,33		0,003278689	1,0000000000000000
DCCEE	0,22	0,03	0,001626967	1,0000000000000000
DCcEE				
dCCeE				
dCcEE				
dccEE				

3	ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ n=915	ΑΤΣΙΓΓΑΝΟΙ, ΕΛΛΑΔΑ, ΜΥΛΩΝΑ – ΚΑΡΑΓΙΑΝΝΗ, 1979 ³⁵⁴ n=200		
	%	%	χ^2	p
DCcee	29,29	33,50	0,006052425	1,0000000000000000
DCCee	24,70	38,00	0,071622854	0,999999999971590
DCcEe	14,97	11,50	0,008054331	1,0000000000000000
DccEe	10,38	1,00	0,084788295	0,999999999922250
Dccee	2,30	4,00	0,012665105	1,0000000000000000
DccEE	1,86	1,50	0,000689529	1,0000000000000000
DCCeE	0,11		0,001092896	1,0000000000000000
dccee	13,77	9,00	0,016526347	1,0000000000000000

dCcee	1,75		0,017486339	1,0000000000000000
dccEe	0,10		0,001000000	1,0000000000000000
dCCee	0,33		0,003278689	1,0000000000000000
dCcEe	0,33		0,003278689	1,0000000000000000
DCCEe	0,22	1,00	0,027935792	0,9999999999999999
DCcEe		0,50		
dCCEE				
dCcEE				
dccEE				

Τα αποτελέσματα για τους απλοτύπους του συστήματος Rh, με βαθμούς ελευθερίας "m"=8, φαίνονται στα πινακάκια 1 και 2.

1	ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ n=915	ΝΔ ΓΕΡΜΑΝΙΑ, Wagner, 1995 ¹³² n=624163		
	%	%	X ²	p
DCE	46,12	43,10	0,002116102	0,9999999999999480
dce	35,74	39,40	0,0033999898	0,9999999999996530
DcE	14,43	13,60	0,000506544	1,0000000000000000
Dce	1,75	2,10	0,000583333	1,0000000000000000
dCe	1,37	1,10	0,000662727	0,9999999999999990
dcE	0,33	0,56	0,000944643	0,999999999999980
DCE	0,27	0,15	0,00096	0,999999999999980
dCE		<0,0001	0,000001	1,0000000000000000

2	ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ n=915	ΤΟΥΡΚΙΑ, CANATAN, 1999 ³⁵⁷ n=3061		
	%	%	X ²	p
DCE	46,12	46,70	7,29402 x 10 ⁻⁵	1,0000000000000000
dce	35,74	33,80	0,00105305	0,9999999999999970
DcE	14,43	16,10	0,00193271	0,9999999999999640
Dce	1,75	2,60	0,004128571	0,9999999999992450
dCe	1,37	0,50	0,005524818	0,9999999999975790
dcE	0,33	0,08	0,001893939	0,999999999999660
DCE	0,27	0,13	0,000725926	0,9999999999999990
dCE				

Τα αποτελέσματα για τους τύπους του συστήματος Kell, με βαθμούς ελευθερίας "m"=1, φαίνονται στα πινακάκια 1 έως 3.

1	ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ n=915	ΝΔ ΓΕΡΜΑΝΙΑ, Wagner, 1995 ¹³² n=624163		
	%	%	X ²	p
K+	5,60	7,82	0,00688286	0,9933880935531302
K-	94,40	92,18	0,0005839	0,9807217578110630

2	ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ n=915	ΤΟΥΡΚΙΑ, CANATAN, 1999 ³⁵⁷ n=3061		
	%	%	X ²	p
K+	5,60	5,42	1,16364 x 10 ⁻⁵	0,9972782523198020
K-	94,40	94,58	6,77249 x 10 ⁻⁷	0,9993433800175460

3	ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ n=915	ΑΤΣΙΓΓΑΝΟΙ, ΕΛΛΑΔΑ, ΜΥΛΩΝΑ – ΚΑΡΑΓΙΑΝΝΗ, 1979 ³⁵⁴ n=200		
	%	%	X ²	p
K+	5,60	6,75	0,002840909	0,9574927375166880

K-	94,40	93,25	0,000165344	0,9897405943385860
----	-------	-------	-------------	--------------------

6.3.2. Πραγματοποιήθηκε ο έλεγχος της υπόθεσης H_0 , όπως αυτός διατυπώνεται στο κεφάλαιο 5.1. (Ειδικό μέρος, Ανάλυση αποτελεσμάτων), χρησιμοποιώντας τον στατιστικό δείκτη χ^2 , σε επίπεδο σημαντικότητας 5% ($p < 0,05$).

Τα αποτελέσματα για τους τύπους του συστήματος ABO, με βαθμούς ελευθερίας "m"=3, φαίνονται στα πινακάκια 1 έως 5.

1	ΤΟΥΡΚΙΑ, Mizan, 1967 n=8430	ΙΝΔΙΑ, Swadesh, 1961 ³⁴⁹ n=600		
	%	%	χ^2	p
A	43,67	23,43	0,093807557	0,992570043
B	16,49	31,35	0,133911219	0,987478278
AB	7,43	6,11	0,002345087	0,999969818
O	32,42	39,11	0,013805089	0,999570385

2	ΤΟΥΡΚΙΑ, Mizan, 1967 n=8430	ΑΙΓΥΠΤΟΣ, ΚΑΙΡΟ, Awany, 1965 ³⁵⁰ n=601		
	%	%	χ^2	p
A	43,67	33,94	0,021679162	0,999156549
B	16,49	20,96	0,01211698	0,999646547
AB	7,43	8,65	0,00200323	0,999976168
O	32,42	36,44	0,004984701	0,99990654

3	ΤΟΥΡΚΙΑ, Mizan, 1967 n=8430	ΙΤΑΛΙΑ, Vajani, 1961 ³⁵¹ n=1967		
	%	%	χ^2	p
A	43,67	38,79	0,005453263	0,999893072
B	16,49	11,24	0,016714676	0,999428141
AB	7,43	4,17	0,014303634	0,999546971
O	32,42	45,81	0,05530293	0,9965979

4	ΤΟΥΡΚΙΑ, Mizan, 1967 n=8430	ΙΡΑΝ, Mohallatee, 1969 ³⁵⁵ n=16368		
	%	%	χ^2	p
A	43,67	28,42	0,053254523	0,996783188
B	16,49	23,66	0,031175804	0,998549602
AB	7,43	6,68	0,000757066	0,999994461
O	32,42	41,24	0,023995188	0,999018521

5	ΤΟΥΡΚΙΑ, Mizan, 1967 n=8430	ΠΑΚΙΣΤΑΝ, Lodhi, 1960 ³⁵³ n=201		
	%	%	χ^2	p
A	43,67	21,39	0,113670346	0,990147922
B	16,49	37,81	0,275647301	0,964541549
AB	7,43	6,97	0,000284791	0,999998722
O	32,42	33,83	0,000613233	0,999995962

Τα αποτελέσματα για τους γονοτύπους του συστήματος Rh, με βαθμούς ελευθερίας "m"=12, φαίνονται στα πινακάκια 1 και 2.

1	ΤΟΥΡΚΙΑ, CANATAN, 1999 ³⁵⁷ n=3061	ΝΔ ΓΕΡΜΑΝΙΑ, Wagner, 1995 ¹³² n=624163		
	%	%	χ^2	p
DCcee	33,00	35,58	0,001870826	1,0000000000000000
DCCee	21,80	19,49	0,002737866	1,0000000000000000
DCCeE	30,50	12,49	0,259695837	1,0000000000000000
DccEe	10,40	11,29	0,000701594	0,9999999999999980
Dccee	2,70	1,66	0,006515663	1,0000000000000000

DccEE	2,40	2,02	0,000714851	1,0000000000000000
DCCee		0,15		
dccee	11,60	15,81	0,011210689	1,0000000000000000
dCcee		0,83		
dccEe	0,98	0,43	0,007034884	1,0000000000000000
dCCee		0,012		
dCcEe		0,014		
DCCEE	0,03	0,0004	0,021904	1,0000000000000000
DCcEE		0,037		
dCCee		0,00016		
dCcEE		0,00016		
dccEE		0,0021		

2	ΤΟΥΡΚΙΑ, CANATAN, 1999 ³⁵⁷ n=3061	ΑΤΣΙΓΓΑΝΟΙ, ΕΛΛΑΔΑ, ΜΥΛΩΝΑ – ΚΑΡΑΓΙΑΝΝΗ, 1979 ³⁵⁴ n=200		
	%	%	X ²	p
DCcee	33,00	33,50	7,57576 x 10 ⁻⁵	1,0000000000000000
DCCee	21,80	38,00	0,120385321	0,999999999372620
DCcEe	30,50	11,50	0,118360656	0,999999999432830
DccEe	10,40	1,00	0,084961538	0,999999999921290
Dccee	2,70	4,00	0,006259259	1,0000000000000000
DccEE	2,40	1,50	0,003375	1,0000000000000000
DCCee				
dccee	11,60	9,00	0,005827586	1,0000000000000000
dCcee				
dccEe	0,98		0,0098	1,0000000000000000
dCCee				
dCcEe				
DCCEE	0,03	1,00	0,313633333	0,999999819395800
DCcEE		0,50		
dCCee				
dCcEE				
dccEE				

Τα αποτελέσματα για τους απλοτύπους του συστήματος Rh, με βαθμούς ελευθερίας "m"=8, φαίνονται στο πινακάκι 1.

1	ΤΟΥΡΚΙΑ, CANATAN, 1999 ³⁵⁷ n=3061	ΝΔ ΓΕΡΜΑΝΙΑ, Wagner, 1995 ¹³² n=624163		
	%	%	X ²	p
DCE	46,70	43,10	0,003006961	0,99999999997870
dce	33,80	39,40	0,007959391	0,999999999895810
DcE	16,10	13,60	0,004595588	0,99999999988410
Dce	2,60	2,10	0,001190476	0,99999999999950
dCe	0,50	1,10	0,003272727	0,99999999997020
dcE	0,08	0,56	0,004114286	0,99999999992550
DCE	0,13	0,15	2,66667 x 10 ⁻⁵	1,0000000000000000
dCE		<0,0001		

Τα αποτελέσματα για τους τύπους του συστήματος Kell, με βαθμούς ελευθερίας "m"=1, φαίνονται στα πινακάκια 1 και 2.

1	ΤΟΥΡΚΙΑ, CANATAN, 1999 ³⁵⁷ n=3061	ΝΔ ΓΕΡΜΑΝΙΑ, Wagner, 1995 ¹³² n=624163		
	%	%	X ²	p
K+	5,42	7,82	0,00736573	0,9931606466919772
K-	94,58	92,18	0,00062486	0,9800571269829560

2	ΤΟΥΡΚΙΑ, CANATAN, 1999 ³⁵⁷ n=3061	ΑΤΣΙΓΓΑΝΟΙ, ΕΛΛΑΔΑ, ΜΥΛΩΝΑ – ΚΑΡΑΓΙΑΝΝΗ, 1979 ¹³² n=200		
	%	%	χ^2	p
K+	5,42	6,75	0,002620593	0,9591727465986500
K-	94,58	93,25	0,000189694	0,9890111169392960

6.4. Γενετική απόσταση

6.4.1. Πραγματοποιήθηκε εκτίμηση της γενετικής απόστασης, όπως αυτή αναφέρεται στο κεφάλαιο 5.2. (Ειδικό μέρος, Ανάλυση αποτελεσμάτων) και τα αποτελέσματα για τους τύπους του συστήματος ABO, φαίνονται στον πίνακα 19.

Πίνακας 19. Γενετική απόσταση για τους τύπους του συστήματος ABO.													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	0	0,0046	0,0382	0,0090	0,0756	0,0074	0,0185	0,0217	0,0037	0,0339	0,1528	0,0130	0,0040
2	0,0046	0	0,0536	0,0033	0,0729	0,0004	0,0198	0,0146	0,0117	0,0417	0,1938	0,0162	0,0147
3	0,0382	0,0536	0	0,0730	0,0776	0,0635	0,0233	0,0463	0,0161	0,0136	0,0765	0,0195	0,0343
4	0,0090	0,0033	0,0730	0	0,0955	0,0021	0,0383	0,0309	0,0226	0,0653	0,2162	0,0328	0,0155
5	0,0756	0,0729	0,0776	0,0955	0	0,0775	0,0461	0,0433	0,0630	0,0503	0,1700	0,0476	0,1008
6	0,0074	0,0004	0,0635	0,0021	0,0775	0	0,0252	0,0174	0,0167	0,0497	0,2077	0,0215	0,0182
7	0,0185	0,0198	0,0233	0,0383	0,0461	0,0252	0	0,0046	0,0086	0,0050	0,1535	0,0007	0,0335
8	0,0217	0,0146	0,0463	0,0309	0,0433	0,0174	0,0046	0	0,0166	0,0179	0,1897	0,0061	0,0419
9	0,0037	0,0117	0,0161	0,0226	0,0630	0,0167	0,0086	0,0166	0	0,0164	0,1278	0,0046	0,0095
10	0,0339	0,0417	0,0136	0,0653	0,0503	0,0497	0,0050	0,0179	0,0164	0	0,1290	0,0064	0,0473
11	0,1528	0,1938	0,0765	0,2162	0,1700	0,2077	0,1535	0,1897	0,1278	0,1290	0	0,1426	0,1479
12	0,0130	0,0162	0,0195	0,0328	0,0476	0,0215	0,0007	0,0061	0,0046	0,0064	0,1426	0	0,0259
13	0,0040	0,0147	0,0343	0,0155	0,1008	0,0182	0,0335	0,0419	0,0095	0,0473	0,1479	0,0259	0

όπου:

- 1 = Θεσσαλία, Ελλάδα, Παρούσα μελέτη
- 2 = Ελλάδα (Κωνσταντούλης, 1958)³⁴⁸
- 3 = Ατσιγγανοί, Ελλάδα (Μυλωνά – Καραγιάννη, 1979)³⁵⁴
- 4 = Καυκάσιοι (Reid, 2004)⁴³
- 5 = ΝΔ Γερμανία (Wagner, 1995)¹³²
- 6 = Ιταλία (Vajani, 1961)³⁵¹
- 7 = Ασιάτες (Reid, 2004)⁴³
- 8 = Έγχρωμοι (Reid, 2004)⁴³
- 9 = Αίγυπτος, Κάιρο (Awng, 1965)³⁵⁰
- 10 = Ινδία (Swadesh, 1961)³⁴⁹
- 11 = Πακιστάν (Lodhi, 1960)³⁵¹
- 12 = Ιράν (Mohallatee, 1969)³⁵⁵
- 13 = Τουρκία (Mizan, 1967)³⁵²

6.4.2. Τα αποτελέσματα για το αντιγόνο D, του συστήματος Rh, φαίνονται στον πίνακα 20.

Πίνακας 20. Γενετική απόσταση για το αντιγόνο D, του συστήματος Rh.

	Παρούσα μελέτη	Ελλάδα	Αιτήγγανοι	Καυκάσιοι	ΝΔ Γερμανία	Έγχρωμοι Αφρικανοί	Ασιάτες
Θεσσαλία, Ελλάδα Παρούσα μελέτη	0	0,010217	0,052204	0,000547	0,000426	0,045688	0,136904
Ελλάδα Κωνσταντούλης, 1958 ³⁴⁸	0,010217	0	0,101750	0,006087	0,014713	0,013981	0,087788
Αιτήγγανοι, Ελλάδα ³⁵⁴ Μυλωνά – Καραγιάννη, 1979	0,052204	0,101750	0	0,062500	0,043760	0,169402	0,276645
Καυκάσιοι Reid, 2004 ⁴³	0,000547	0,006087	0,062500	0	0,001935	0,036570	0,124881
ΝΔ Γερμανία Wagner, 1995 ¹³²	0,000426	0,014713	0,043760	0,001935	0	0,054044	0,147883
Έγχρωμοι Αφρικανοί Faas, 1997 ⁸⁴	0,045688	0,013981	0,169402	0,036570	0,054044	0	0,041045
Ασιάτες Luettringhaus, 2006 ³⁵⁶	0,136904	0,087788	0,276645	0,124881	0,147883	0,041045	0

Τα αποτελέσματα για τους απλοτύπους του συστήματος Rh, φαίνονται στον πίνακα 21.

Πίνακας 21. Γενετική απόσταση για τους απλοτύπους του συστήματος Rh.

	Παρούσα μελέτη	Καυκάσιοι	ΝΔ Γερμανία	Έγχρωμοι Αφρικανοί	Ασιάτες	Αμερικανοί	Τουρκία
Θεσσαλία, Ελλάδα Παρούσα μελέτη	0	0,001893	0,001832	0,170238	0,132843	0,092159	0,001725
Καυκάσιοι Reid, 2004 ⁴³	0,001893	0	0,000900	0,147434	0,150023	0,096153	0,003748
ΝΔ Γερμανία ¹³² Wagner, 1995	0,001832	0,000900	0	0,164044	0,160260	0,108002	0,005245
Έγχρωμοι Αφρικανοί ⁸⁴ Faas, 1997	0,170238	0,147434	0,164044	0	0,306037	0,202433	0,167848
Ασιάτες Luettringhaus, 2006 ³⁵⁶	0,132843	0,150023	0,160260	0,306037	0	0,074206	0,121599
Αμερικανοί Reid, 2004 ⁴³	0,092159	0,096153	0,108002	0,202433	0,074206	0	0,080856
Τουρκία Canatan, 1999 ³⁵⁷	0,001725	0,003748	0,005245	0,167848	0,121599	0,080856	0

4.3. Τα αποτελέσματα για τους τύπους του συστήματος Kell, φαίνονται στον πίνακα 22.

Πίνακας 22. Γενετική απόσταση για τύπους του συστήματος Kell.

	Παρούσα μελέτη	Αιτήγγανοι	Καυκάσιοι	ΝΔ Γερμανία	Έγχρωμοι Αφρικανοί	Άραβες	Τουρκία
Θεσσαλία, Ελλάδα Παρούσα μελέτη	0	0,000814	0,007583	0,003292	0,019652	0,133092	0,000177
Αιτήγγανοι, Ελλάδα ³⁵⁴ Μυλωνά – Καραγιάννη, 1979	0,000814	0	0,003483	0,000847	0,026607	0,117379	0,001546
Καυκάσιοι Reid, 2004 ⁴³	0,007583	0,003483	0	0,000903	0,046053	0,086780	0,009533
ΝΔ Γερμανία Wagner, 1995 ¹³²	0,003292	0,000847	0,000903	0	0,035628	0,102094	0,004648
Έγχρωμοι Αφρικανοί ⁸⁴ Faas, 1997	0,019652	0,026607	0,046053	0,035628	0	0,203462	0,016238
Άραβες Reid, 2004 ⁴³	0,133092	0,117379	0,086780	0,102094	0,203462	0	0,138353
Τουρκία Canatan, 1999 ³⁵⁷	0,000177	0,001546	0,009533	0,004648	0,016238	0,138353	0

7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι καθημερινές δοκιμασίες συμβατότητας εστιάζονται στην ανίχνευση των αντιγόνων των ομάδων αίματος ABO, Rhesus και Kell, καθώς είναι οι πιο σημαντικές στην κλινική ιατρική και αποτελούν ιδιαίτερα πολυμορφικά και ανοσογόνα συστήματα. Η σημασία των αντιγόνων τους είναι πολύ μεγάλη, αφού η παραγωγή αντισωμάτων μπορεί να προκαλέσει αιμολυτικές αντιδράσεις μετά από μετάγγιση ή αιμολυτική νόσο των νεογνών.

Όμως, παρά την προφανή κλινική σημασία τους, οι φυσιολογικές λειτουργίες των αντιγόνων παραμένουν ασαφείς και για αυτό γίνονται πολλές μελέτες για την συσχέτιση των φαινοτύπων με νοσήματα. Άτομα με ομάδα αίματος O, που δεν εκφράζουν ούτε το αντιγόνο A, ούτε το αντιγόνο B, είναι υγιή¹¹, ενώ σπάνια βρίσκονται άτομα με έλλειψη όλων των αντιγόνων ενός συστήματος, όπως άτομα με φαινότυπο Rh_{null} (σύστημα Rh)^{147,149} και με φαινότυπο McLeod (σύστημα Kell)³⁵⁸.

Τα αντιγόνα, επίσης έχουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της ακεραιότητας της μεμβράνης^{43,359,360,361}, ενώ πρόσφατες μελέτες προτείνουν ότι ορισμένα αντιγόνα, όπως τα Rh, είναι στενά συνδεδεμένα με σημαντικές λειτουργίες των ερυθρών αιμοσφαιρίων (μεταφορά αμμωνίας)^{169,181,188}.

Είναι επομένως, σημαντικό ο σαφής καθορισμός της ομάδας αίματος, όχι μόνο με ορολογικές εξετάσεις, αλλά και σε μοριακό επίπεδο, ώστε να διασφαλιστεί η ασφαλέστερη δυνατή χρήση του αίματος, ιδίως σε ανοσοκατασταλαμένα και πρόσφατα μεταγγισθέντα άτομα. Για το λόγο αυτό, η παρούσα μελέτη έχει ως σκοπό τον καθορισμό των συχνοτήτων των ομάδων αίματος ABO, Rhesus και Kell και των παραλλαγών της ομάδας αίματος Rhesus, του μερικού D και του ασθενούς D, σε Ελληνικό πληθυσμό (Κεντρική Ελλάδα, Θεσσαλία), καθώς οι παραλλαγές ευθύνονται για λάθη στην τυποποίηση και επομένως στην ευαισθητοποίηση των ασθενών.

1. Σύστημα ABO

Σε ότι αφορά τις ομάδες αίματος του συστήματος ABO, η **ομάδα τύπου A** εμφανίζεται ευρέως στην Ευρώπη, ιδιαίτερα σε άτομα που κατοικούν σε μεγάλες δασικές και ορεινές περιοχές. Το αλληλόμορφο γονίδιο A στο αίμα είναι πιο συχνό, σε όλο τον κόσμο, από το αλληλόμορφο γονίδιο B και εμφανίζεται σε περίπου 21% του πληθυσμού³⁶².

Η Marion Reid και Christine Lomas-Francis το 2004, συνοψίζοντας την διεθνή βιβλιογραφία, αναφέρουν πως η συχνότητα εμφάνισης του φαινοτύπου A, στους Καυκάσιους είναι 43%, στους Έγχρωμους 27%, στους Ασιάτες 27% και στους Μεξικανούς 28%⁴³.

Η ομάδα τύπου Β εμφανίζεται σε άτομα που κατοικούν σε λιβάδια και περιοχές της ερήμου³⁶². Στους Καυκάσιους η συχνότητα εμφάνισης του φαινοτύπου Β είναι 9%, στους Έγχρωμους 20%, στους Ασιάτες 25% και στους Μεξικανούς 13%⁴³.

Η ομάδα τύπου ΑΒ συναντάται σπάνια σε παγκόσμιο επίπεδο, περίπου 1% των ανθρώπων³⁶². Στους Καυκάσιους, όπως και στους Έγχρωμους πληθυσμούς, η συχνότητα εμφάνισης του φαινοτύπου ΑΒ είναι 4% (3% το αλληλόμορφο γονίδιο Α1Β και 1% το αλληλόμορφο γονίδιο Α2Β), στους Ασιάτες 5% (το αλληλόμορφο γονίδιο Α1Β) και στους Μεξικανούς 4% (το αλληλόμορφο γονίδιο Α1Β) ⁴³.

Η ομάδα τύπου Ο είναι πολύ συχνή σε όλο τον κόσμο, περίπου το 63% των ανθρώπων³⁶². Στους Καυκάσιους, η συχνότητα εμφάνισης του φαινοτύπου Ο, είναι 44%, στους Έγχρωμους 49%, στους Ασιάτες 43% και στους Μεξικανούς 55%⁴³.

Στην Ελλάδα, η συχνότητα εμφάνισης των τύπων Α, Β, ΑΒ και Ο, είναι 37,93, 12,93, 4,75 και 44,39%, αντίστοιχα (n=6378)³⁴⁸. Ο George Fraser αναφέρει, ότι η συχνότητα εμφάνισης των φαινοτύπων ΑΒΟ σε δύο γειτονικά χωριά, Γαβριά και Καλόβατος, στο νομό Άρτας, της βορειοδυτική Ελλάδας είναι 24,41, 10,00 και 2,55 και 34,30%, αντίστοιχα (n=860, 28,7% άγνωστο)³⁴⁷.

Στη παρούσα μελέτη, σε πληθυσμό της περιφέρειας της Θεσσαλίας, η συχνότητα εμφάνισης των τύπων Α, Β, ΑΒ και Ο, είναι 35,9, 15,6, 7,4 και 41,1%, αντίστοιχα (n=915).

Οι κατανομές της συχνότητας μας, συμφωνούν με αυτές που αναφέρονται στη βιβλιογραφία, για τους Καυκάσιους και τους Ευρωπαίους, όπως αυτό φαίνεται από τον έλεγχο υποθέσεων (χ^2), καθώς δεν παρατηρήσαμε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά.

Προσπαθώντας να εξηγήσουμε την γενετική απόσταση των πληθυσμών που μελετήσαμε, αναφέρουμε ότι οι μεταναστευτικές κινήσεις των ελληνικών φύλων, από τα μέσα περίπου του 11^{ου} μέχρι και τον 9^ο αιώνα π.Χ., είναι γνωστές ως 1^{ος} ελληνικός αποικισμός. Ελληνικά φύλα μετακινήθηκαν από τη Θεσσαλία προς το βορειοανατολικό Αιγαίο και τα δυτικά παράλια της Μ. Ασίας.

Από τον 9^ο μέχρι τον 6^ο αιώνα π.Χ. πολιτισμός, αργότερα γνωστός ως Φοινικικός, κυριάρχησε στη Μεσόγειο Θάλασσα, εγκαθιστώντας εμπόριο και αποικίες προς τη Κύπρο στα ανατολικά, προς το Αιγαίο, την Ιταλία, τη Βόρεια Αφρική και την Ισπανία στα δυτικά. Εμπορευόντουσαν πολύτιμα μέταλλα και προϊόντα όπως το κρασί, το ελαιόλαδο, και κυρίως το ξύλο από τους περίφημους κέδρους του Λιβάνου.

Από τα τέλη του 9ου και τον 8^ο αιώνα π.χ., η βαθμιαία βελτίωση των συνθηκών ζωής, γενικότερα, έκανε τις θαλάσσιες επικοινωνίες συστηματικότερες προς την αναζήτηση πρώτων υλών κυρίως μετάλλων (σίδηρος και χαλκός).

Κατά τον 2^ο ελληνικό αποικισμό, 8^{ος} αιώνας π.Χ., μαζικές μετακινήσεις πληθυσμών για λόγους πολιτικούς, οικονομικούς και οπωσδήποτε επιβίωσης, από Ανατολή προς Δύση, υπήρξαν σε εξέλιξη από τον κυρίως Ελλαδικό χώρο προς την Σικελία, Νότιο Ιταλία, Νότιες Γαλατικές ακτές, και ακτές της Ιβηρικής Χερσονήσου.

Δεν πρόκειται για μετακινήσεις αιχμαλώτων ή δούλων, αλλά για ελεύθερους πολίτες που αδυνατούν να συντηρηθούν (λόγω δυσμενών κοινωνικο - οικονομικών συνθηκών) ή που η πολιτεία έχει αποφασίσει με νόμο τον αποικιακό μεταναστευτισμό. Το φαινόμενο αυτό, κατά την ροή των χρόνων, αλλοιώνει τα αρχικά αποικιακά χαρακτηριστικά του, με αποτέλεσμα, κατά την περίοδο της μέσης εποχής του Βυζαντίου να αποτελέσει το ορόσημο των επεκτατικών - ανακτητικών πολέμων του Ιουστινιανού σε ολόκληρη την Ιταλική χερσόνησο, Σικελία, και μέρους του σημερινού Ανατολικού και Νοτίου τμήματος της Ισπανίας τον 6^ο αιώνα, με τις μετακινήσεις και εγκαταστάσεις μέρους του στρατού αλλά και του απαραίτητου υπαλληλικού διοικητικού προσωπικού.

Ήδη μαζικές μεταναστεύσεις λαών από Βορρά προς Νότο, λόγω δυσμενών κλιματικών συνθηκών, με υπερβολικό ψύχος και αδυναμία συστηματικής καλλιέργειας, έχουν ήδη συμβεί στην Ευρωπαϊκή ήπειρο κατά τον 3^ο αιώνα, με καταλυτικές αλλαγές στην σύνθεση των πληθυσμών, λόγω της συνεχούς κινητικότητας των.

Οι μετακινήσεις συνεχίζονται κατά την περίοδο της εικονομαχικής έριδας στα μέσα του 7^{ου} αιώνα με αρχές του 8^{ου} αιώνα, όταν πληθυσμοί εικονολατρών, αλλά και πολυάριθμοι μοναχοί, συρρέουν στην Δύση εξαιτίας των σκληρών θρησκευτικών διώξεων από τους εικονομάχους αυτοκράτορες του Βυζαντίου.

Οι μετακινήσεις ελληνικών πληθυσμών συνεχίζονται με αμείωτη ένταση όταν Αβαρικοί, αλλά κυρίως Σλαβικοί πληθυσμοί, διεισδύουν στα Βαλκάνια και στον Ελλαδικό χώρο αντίστοιχα, με αποτέλεσμα πολυάριθμοι πληθυσμοί να μετακινηθούν προς την Δύση στα τέλη του 6^{ου} με αρχές του 7^{ου} αιώνα.

Παρόμοιες μετακινήσεις παρατηρούνται καθ' όλη τη διάρκεια του 7^{ου} αιώνα εξαιτίας των Αραβικών κατακτήσεων στην Μικρά Ασία και σε πολλές Ανατολικές επαρχίες του Βυζαντίου.

Συνέχεια των μετακινήσεων παρουσιάζεται και μετά την Ελληνική επανάσταση, κατά την δημιουργία του ανεξάρτητου Ελληνικού κράτους (1830), ενώ έως τη δεκαετία του 1880 παρουσιάζεται το φαινόμενο ελληνικοί πληθυσμοί, από φτωχές ορεινές περιοχές της Ηπείρου και της Δυτικής Μακεδονίας, να εκπατρίζονται για να δουλέψουν κυρίως ως εποχιακοί εργάτες, προτιμώντας τις πιο κοντινές επαρχίες της Οθωμανικής Αυτοκρατορίας και ιδιαίτερα εκείνες όπου κατοικούσαν συμπαγείς ελληνικοί πληθυσμοί (Θράκη, Κωνσταντινούπολη, περιοχές της Μικρασιατικής ενδοχώρας).

Νέα μεταναστευτικά ρεύματα παρατηρούνται κατά τον Ελληνο - τουρκικό πόλεμο του 1897, και τους Βαλκανικούς πολέμους κατά την περίοδο 1912-1913.

Εξχωριστό κεφάλαιο από μόνο του αποτελεί η Μικρασιατική Καταστροφή του 1922.

Κατά την περίοδο του μεσοπολέμου, στα χρόνια της κατοχής, αλλά και μετά την λήξη του εμφυλίου, σημαντικό τμήμα του ελληνικού πληθυσμού για λόγους οικονομικής ανέχειας και υποσιτισμού αλλά και για πολιτικούς λόγους, μεταναστεύει προς Βόρεια και Νότια Αμερική, Ανατολική κα Δυτική Ευρώπη, Σοβιετική Ένωση, Νότιο Αφρική, Αίγυπτο και Αυστραλία.

Όσον αφορά στην Ινδία, οι πρώτοι ιθαγενείς κάτοικοι της χώρας εξοντώθηκαν ή αφομοιώθηκαν από λαούς που κατέβηκαν από το Βορρά τον 2^ο αιώνα π.Χ. και επέβαλαν τη θρησκεία τους, το Βεδισμό. Ως αντίδραση σ' αυτήν την καταπίεση γεννήθηκε ο Βουδισμός, ο Ζαΐνισμός και πολλές αιρέσεις των τριών αυτών θρησκειών που προκάλεσαν φυλετικούς και πολιτικούς αγώνες ανάμεσα στις κατά τόπους ηγεμονίες.

Ο βασιλιάς των Περσών Δαρείος Α΄, επωφελήθηκε από τις διαμάχες αυτές και εισέβαλε στο παράκτιο δυτικό τμήμα της χώρας που το κατέλαβε τον 6^ο αιώνα π.χ.

Κατά την αρχαιότητα η Ινδία ήταν χωρισμένη σε 118 βασίλεια, ενώ για πρώτη φορά οι Ινδοί ήρθαν σ' επαφή με το δυτικό κόσμο τον 4^ο αιώνα π.χ., με την προέλαση του Μεγάλου Αλέξανδρου μέχρι τον Ινδό ποταμό.

Μετά το θάνατο του Μεγάλου Αλεξάνδρου δημιουργήθηκαν ινδικά κρατίδια με Έλληνες ηγεμόνες που διατηρήθηκαν μέχρι το 50 π.Χ.

Από τότε νέα φύλα εισβάλλουν από την κεντρική Ασία στην Ινδία και επικρατούν. Γενικά, από τα τέλη του 2ου αιώνα παρατηρείται κατάτμηση των εδαφών που ήλεγχαν στον ινδικό χώρο οι Έλληνες.

Την ίδια περίοδο (3^{ος} αιώνας), οι αθίγγανοι που αποτελούν ινδικό φύλο νομάδων, αποσπώνται από την Ινδία, παραμένουν μεγάλο χρονικό διάστημα στην Περσία και κατά τον 8^ο αιώνα αρχίζουν να εισέρχονται κατά κύματα στη Βυζαντινή

αυτοκρατορία και στην Αίγυπτο, όπου έμειναν εκεί για πολλά χρόνια. Αργότερα επεξετάθησαν, άλλοι προς Βόρεια Αφρική, Ισπανία και Ευρώπη, άλλοι στην Ελλάδα και στη Βόρειο Βαλκανική. Στην υπόλοιπη Ευρώπη διασπάρθηκαν από τον 15^ο αιώνα και μετά.

Τον 7^ο αιώνα η Ινδία εξακολουθεί να είναι διαιρεμένη σε κρατίδια. Από αυτήν την εξασθένηση της χώρας επωφελήθηκαν οι μουσουλμάνοι, που εισέβαλαν για πρώτη φορά το 711 και υπόταξαν τις χώρες γύρω από τον Ινδό. Η μουσουλμανική κατάκτηση της Ινδίας ολοκληρώνεται στις αρχές του 14^{ου} αιώνα. Στο τέλος του 14^{ου} αιώνα εισέβαλε στην Ινδία, ο Ταμερλάνος και οι ταταρικές ορδές, που λεηλάτησαν και κατέστρεψαν τα πάντα. Μετά την ταταρική εισβολή ακολούθησε η επικράτηση των Μογγόλων που τη διαδέχθηκε η αντίστοιχη ευρωπαϊκή, με πρωτοπόρους τους Πορτογάλους.

Την ίδια εποχή

Κατά τις αρχές του 17^{ου} αιώνα αποφάσισαν να αντικαταστήσουν τους Πορτογάλους, οι Ολλανδοί, οι Γάλλοι και κυρίως οι Άγγλοι, οι οποίοι συμπεριέλαβαν και την περιοχή του σημερινού Πακιστάν στην Βρετανική αυτοκρατορία.

Μετά από μακρές και δυσχερείς διαπραγματεύσεις, το 1947 η Ινδία χωρίστηκε σε δύο αυτόνομα κράτη, στο πλαίσιο της βρετανικής κοινοπολιτείας: το μουσουλμανικό Πακιστάν και τη μεγάλη, αυτόνομη Ινδική Δημοκρατία.

Συμπερασματικά, με την μετακίνηση και ανάμειξη των πληθυσμών κυρίως της Νοτίου Ευρώπης, της Βορείου Αφρικής και της Δυτικής και Κεντρικής Ασίας μπορεί να εξηγηθεί η ομοιογένεια που παρουσιάζουν όσον αφορά στις ομάδες αίματος. Έτσι παρατηρήσαμε μικρή γενετική απόσταση των Ελλήνων (παρούσα μελέτη και Κωνσταντούλης) με τους Ιταλούς (0,0074 και 0,0004), τους Καυκάσιους (0,0090 και 0,0033) και τους Αιγύπτιους (0,0037 και 0,0117), λίγο μεγαλύτερη με τους Ατσίγγανους (0,0382) και τους ΝΔ Γερμανούς (0,0756) και μεγάλη με τους Πακιστανούς (0,1528).

Επίσης, παρατηρήσαμε μικρή γενετική απόσταση των Ινδών με τους Ασιατικούς πληθυσμούς (0,0050) και τους Ιρανούς (0,0064) και τη μεγάλη με τους Πακιστανούς (0,1290), καθώς το σημερινό Πακιστάν αποτελούσε τμήμα της Αυτοκρατορίας του Ασόκα (3^{ος} αιώνας π.χ.), ο οποίος υπήρξε ένθερμος οπαδός του Βουδισμού και ένας από τους μεγαλύτερους προστάτες και ιεραποστόλους του και αυτό εξηγεί και τη μεγάλη γενετική απόσταση (0,0765 έως 0,2162) που εμφανίζουν οι Πακιστανοί από τους υπόλοιπους πληθυσμούς, ενώ λίγο μικρότερη με τους Ατσίγγανους (0,0765).

Αναφέρουμε ότι τις μεγαλύτερες τιμές γενετικής απόστασης, εκτός από τους Πακιστανούς εμφανίζουν οι ΝΔ Γερμανοί (0,0433 έως 0,17000).

2. Σύστημα Rh

Η πλειοψηφία των ανθρώπων στον κόσμο είναι **RhD (+)** και η κατανομή του αντιγόνου D διαφέρει σε μεγάλο βαθμό μεταξύ των εθνικοτήτων. Περίπου 82-88% των Ευρωπαίων και Λευκών πληθυσμών της Βόρειας Αμερικής, φέρουν το αντιγόνο D, περίπου το 95% των Αφρικανικών πληθυσμών⁷⁶, ενώ είναι ένα υψηλής συχνότητας αντιγόνο στους Ασιάτες (περίπου 99,6-99,9%)⁷⁷.

Η έκφραση του αντιγόνου D ποικίλει σημαντικά στα άτομα με RhD(+), καθώς εξαρτάται από την παρουσία των άλλων αντιγόνων Rh (C, E, c, e)^{88,90}.

Το αντιγόνο C εμφανίζεται με συχνότητα 68% στους Καυκάσιους, 27% στους Έγχρωμους πληθυσμούς και 93% στους Ασιάτες, ενώ το **αντιγόνο c** με συχνότητα 80% στους Καυκάσιους, 96% στους Έγχρωμους και 47% στους Ασιάτες⁴³.

Το αντιγόνο E εμφανίζεται με χαμηλή συχνότητα στους Καυκάσιους, στους Έγχρωμους και στους Ασιάτες (29%, 22% και 39%, αντίστοιχα), ενώ το **αντιγόνο e** με υψηλή συχνότητα (98%, 98% και 96%, αντίστοιχα)⁴³.

Η συχνότητα του φαινοτύπου **RhD (-)** ποικίλλει ευρέως στα διάφορα μέρη του κόσμου. Το υψηλότερο ποσοστό βρίσκεται στους Λευκούς πληθυσμούς (17,3%) και ανάλογα με τον πληθυσμό, κυμαίνεται μεταξύ 3-25%⁹². Είναι πιο συχνός στους Καυκάσιους (15-17%), ενώ εμφανίζεται σπάνια στους Αφρικανικούς πληθυσμούς 3-7%^{84,93}. Στους Ασιάτες (1-3%)³⁵⁶ εμφανίζεται, συμπεριλαμβανομένου του φαινοτύπου D_{e1}, σε λιγότερο από 0,5%, στον πληθυσμό της Κίνας^{139,363} και 0,15-0,5% στην Ιαπωνία³⁶⁴.

Στην Ελλάδα, η συχνότητα εμφάνισης των φαινοτύπων RhD(+) και RhD(-), είναι 88,76 και 11,23%, αντίστοιχα (n=6378)³⁴⁸. Στη βορειοδυτική Ελλάδα, είναι 61,04 και 5,11%, αντίστοιχα (n=860, 33,83% άγνωστο)³⁴⁷.

Στη παρούσα μελέτη, η συχνότητα εμφάνισης **RhD (+)** και **RhD (-)**, είναι 83,8 και 16,2%, αντίστοιχα (n=915), και των αντιγόνων C, c, E και e, είναι 48,52, 51,48, 19,97 και 85,03% αντίστοιχα, ενώ των **γονοτύπων Rh** είναι 29,29 ο DCcee, 24,70 ο DCCee, 14,97 ο DCcEe, 13,77 ο dccee, 10,38 ο DccEe, 2,30 ο Dccee, 1,86 ο DCcEE, 1,75 ο dCcee, 0,33 ο dCCee, 0,33 ο dCcEe, 0,22 ο DCCEE, 0,11 ο DCCEe και 0,11% ο dccEe,

και των **απλοτύπων Rh** είναι 46,12 ο DcE, 35,74 ο dce, 14,43 ο DcE, 1,75 ο Dce, 1,37 ο dCe, 0,33 ο dcE, και 0,27% ο DCE.

Οι κατανομές της συχνότητας μας, συμφωνούν με αυτές που αναφέρονται στη βιβλιογραφία, για τους Καυκάσιους και τους Ευρωπαίους όπως αυτό φαίνεται από τον έλεγχο υποθέσεων (χ^2), καθώς δεν παρατηρήσαμε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά.

Όσον αφορά στο αντιγόνο D, παρατηρήσαμε μικρή γενετική απόσταση, των Ελλήνων (παρούσα μελέτη και Κωνσταντούλης) με τους Καυκάσιους (0,000547 και 0,006087), τους ΝΔ Γερμανούς (0,00426 και 0,014713), λίγο μεγαλύτερη με τους Έγχρωμους (0,045688) και τους Ασιίγγανους (0,052204) και μεγάλη με τους Ασιάτες (0,136904), οι οποίοι παρουσιάζουν και τις μεγαλύτερες τιμές (0,041045 έως 0,276645).

Όσον αφορά τους απλοτύπους Rh, επίσης παρατηρήσαμε τη μικρή γενετική απόσταση, που έχουμε με τους Καυκάσιους (0,001893), τους ΝΔ Γερμανούς (0,001832) και τους Τούρκους (0,001725), οι οποίοι εμφανίζουν πρότυπο Λευκού πληθυσμού και αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι η μελέτη περιλαμβάνει άτομα από την Αιτάλεια (Νότια Τουρκία), την Άγκυρα και τα Άδανα (Νότια Τουρκία). Μεγαλύτερη γενετική απόσταση παρουσιάζουν οι Έγχρωμοι (0,147434 έως 0,306037) οι Ασιάτες (0,74206 έως 0,303037) και οι Αμερικανοί (0,074206 έως 0,202433).

3. Παραλλαγές αντιγόνου D

Στην Ευρώπη περίπου 1% του πληθυσμού φέρει αποκλίνοντα αλληλόμορφα γονίδια RHD που κωδικοποιούν παραλλαγές του αντιγόνου D. Στους Λευκούς πληθυσμούς, το 0,2-1% έχει ερυθρά αιμοσφαίρια με μειωμένη έκφραση του αντιγόνου D¹³².

Ασθενές D

Οι πιο συχνοί τύποι ασθενούς D είναι ο τύπος 1, ο τύπος 2 και ο τύπος 3, που αποτελούν το 93,49% μεταξύ όλων των τύπων ασθενούς D, ενώ ο τύπος 4 και ο τύπος 5 αποτελούν το 1,3 και 0,84%, αντίστοιχα^{11,43}.

Στην παρούσα μελέτη, βρήκαμε ότι οι τύποι ασθενούς D αποτελούν το 0,26% (n=2) των RhD(+) (n=767) και συγκεκριμένα του τύπου 1 το 0,13% και ατυποποίητο το 0,13%.

Ατελές D

Οι πιο συχνοί τύποι ατελούς D είναι οι D^{VII}, D^{VI}, D^{IV}, D^V και DII με συχνότητες εμφάνισης 0,111, 0,014, 0,010, 0,003 και 0,003%, αντίστοιχα¹³⁴.

Στην παρούσα μελέτη, βρήκαμε ότι οι τύποι μερικού D αποτελούν το 3,52% (n=27) των RhD(+) (n=767) και συγκεκριμένα 0,52 ο D^{IIb}, 0,13 ο D^{IIc}, 0,13 ο D^{IVa}, 0,65 ο D^{IVb}, 0,26 ο D^{Va}, 0,52 ο D^{VI typ I}, 0,52 ο D^{VI typ II}, 0,52 ο D^{VI typ II} και 0,26 ο D^{Har}.

4. Σύστημα Kell

Η συχνότητα του αντιγόνου Kell στους Καυκάσιους είναι 9%, στους Έγχρωμους περίπου 2% και στους Άραβες περίπου 25%^{11,43}. Στη Νοτιοδυτική Γερμανία ο φαινότυπος K(+), δηλαδή KK και Kk αποτελεί το 7,82% και ο φαινότυπος K(-), δηλαδή kk, το 92,18% (n=624.164)¹³².

Στη βορειοδυτική Ελλάδα ο φαινότυπος **K(+)** και ο **K(-)** αποτελούν το 8,48% και το 51,74%, αντίστοιχα (n=860, 9,76% άγνωστο)³⁴⁷.

Στη παρούσα μελέτη, η συχνότητα εμφάνισης του φαινοτύπου K(+) και ο K(-) αποτελούν το 5,60% και το 94,40%, αντίστοιχα.

Οι κατανομές της συχνότητας μας, συμφωνούν με αυτές που αναφέρονται στη βιβλιογραφία, για τους Καυκάσιους και τους Ευρωπαίους όπως αυτό φαίνεται από τον έλεγχο υποθέσεων (χ^2), καθώς δεν παρατηρήσαμε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά.

Όσον αφορά το αντιγόνο Kell, παρατηρήσαμε μικρή γενετική απόσταση, των Ελλήνων με τους Καυκάσιους (0,007583), τους ΝΔ Γερμανούς (0,003292) και τους Τούρκους (0,000177), οι οποίοι εμφανίζουν, επίσης πρότυπο Λευκού πληθυσμού και αυτό εξηγείται από το ίδιο γεγονός όπως και για τους απλοτύπους Rh. Μεγαλύτερη γενετική απόσταση παρουσιάζουν οι Άραβες (0,086780 έως 0,203462).

8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μελέτη βρήκαμε ότι:

- οι κατανομές της συχνότητας μας, ως προς τα συστήματα ομάδων αίματος ABO, Rh, Kell, συμφωνούν με αυτές που αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία, για τους Καυκάσιους και τους Ευρωπαίους, καθώς παρατηρήσαμε μικρή γενετική απόσταση, ενώ δεν παρατηρήσαμε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά, κατά τον έλεγχο των υποθέσεων
- οι παραλλαγές του αντιγόνου D αποτελούν το 3,78% των ατόμων με RhD(+). Τούτο είναι σημαντικό καθώς τα άτομα με ασθενές D δεν εμφανίζουν αντισώματα, αλλά άτομα με ατελές D μπορεί να εμφανίσουν κλινικά σημαντικά αντισώματα, έναντι των επιτόπων που τους λείπουν, και έτσι μπορεί λανθασμένα να τυποποιηθούν ως RhD(+) και να μεταγγιστούν με πλήρες D, προκαλώντας ευαισθητοποίηση τους. Επίσης, επίτοκες με ασθενές D μπορεί να τυποποιηθούν ως RhD(-) και να κυοφορούν RhD(+) μωρό, οπότε να μην χρειάζονται ανοσοσφαιρίνη που περιέχει αντι-D, και επίτοκες με ατελές D μπορεί να τυποποιηθούν ως RhD(+), με RhD(+) μωρό το οποίο μπορεί να τις ευαισθητοποιήσει.

Η παρούσα μελέτη παρουσιάζει με σαφήνεια την κατανομή της συχνότητας εμφάνισης των κλινικά σημαντικών τύπων των ομάδων αίματος, ABO, Rh και Kell, και των παραλλαγών της ομάδας αίματος Rhesus, του ατελούς D και του ασθενούς D, σε Ελληνικό πληθυσμό (περιφέρεια Θεσσαλίας).

Η μελέτη επιβεβαιώνει το έργο άλλων ερευνητών, και δείχνει ότι η ομάδα αίματος τύπου O, η Rh(+) και η K(-) εμφανίζονται με υψηλή συχνότητα σε Καυκάσιους και παρουσιάζει τη γενετική απόσταση μεταξύ πληθυσμών.

Οι πληροφορίες παρέχονται με την ελπίδα πως θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως πρόσθετη συμβολή:

- στο γνωστικό πεδίο της έρευνας των ομάδων αίματος, και μπορεί επίσης να είναι χρήσιμες για το σχεδιασμό προγραμμάτων μετάγγισης του αίματος, καθώς είναι αναπόσπαστο τμήμα των χαρακτηριστικών του Ελληνικού πληθυσμού,
- στη πληθυσμιακή γενετική, καθώς λόγω της ομογενοποίησης των πληθυσμών αλλά και της γνώσης των κοινών και σπάνιων χαρακτηριστικών των ομάδων αίματος, μπορεί να γίνει καλύτερη η χρήση του αίματος σε παγκόσμιο επίπεδο, και
- στην κατασκευή φυλογενετικών δένδρων, η οποία θα πρέπει, εκτός των περισσότερων ατόμων, να περιλαμβάνει και ορισμένες φυλετικές ομάδες ή άτομα απομονωμένων περιοχών.

9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Wilson W. From Sacrifice to Lifesaver: The Changing Symbols of Blood. Perspectives look in health 4(2), 1999
Διαθέσιμο: http://www.paho.org/English/DPI/Number9_article1.htm
2. Daniels G. Human Blood Groups, Blackwell Science, Second ed. Cambridge, 2002
3. Daniels G. Molecular blood grouping. Vox Sang. 87(1):s63-s69, 2004
4. Reid ME, Lomas-Francis C. Blood Group Antigen and antibodies: A guide to clinical relevance and technical tips. SSB Books, 2007
Διαθέσιμο: <http://www.SBBPocketbook.com>
5. ISBT. The Bristol Institute For Transfusion Sciences and The International Blood Group Reference Laboratory, 2008
Διαθέσιμο:<http://ibgrrl.blood.co.uk/ISBTPages/ISBTTerminologyPages/Terminology%20Home%20Page.htm>
6. Αποστολάκης ΜΙ. Στοιχεία φυσιολογίας του ανθρώπου. Τόμος Α. 3^η έκδοση. Θεσσαλονίκη, 1993
7. Landsteiner K. Zur Kenntnis der antifermentativen, lytischen und agglutinierenden Wirkungen der Blutserums und der Lymphe. Zbl. bakt. 27:357-366, 1900
8. Landsteiner K. Über Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen blutes. Agglutination phenomena in normal human blood. Wien. Klin. Wochenschr. 14:1132-1134, 1901
9. Decastello von A, Sturli A. Über die isoagglutinie im Serum gesunder und kranker menschen. Munchen Med. Wochenschr. 26:1090-1095, 1902
10. Owen R. Karl Landsteiner and the First Human Marker Locus. Genetics 155:995-998, 2000
11. Dean L. Blood Groups and Red Cell Antigens. National Library of Medicine (US), NCBI, 2005
Διαθέσιμο: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=Books>
12. Bernstein F. Zusammenfassende Betrachtungen über die erblichen Blutstrukturen des Menschen. Z. Indukt. Abstammungs. Vererbungslehre. 37:237-370, 1925
13. Crow JF. Felix Bernstein and the First Human Marker Locus. Genetics 133(1):4, 1993
14. Σπανός ΘΑ, Αιμοδοσία ΙΙ, Στοιχεία Αιματολογίας - Αιμοθεραπείας. Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδης, 2001
15. Yip SP, Yow CM, Lewis WH. DNA polymorphism at the ABO locus in the Chinese population of Hong Kong. Hum Hered. 45:266-271, 1995
16. Ogasawara K, Yabe R, Uchikawa M, Saitou N, Bannai M, Nakata K, Takenaka M, Fujisawa K, Ishikawa Y, Juji T, Tokunaga K. Molecular genetic analysis of variant phenotypes of the ABO blood group system. Blood 88(7):2732, 1996
17. Yip SP. Single-tube multiplex PCR-SSCP analysis distinguishes 7 common ABO alleles and readily identifies new alleles. Blood 95(4):1487-1492, 2000
18. Fuchs CS, Mayer RJ. Gastric carcinoma. N. Engl. J. Med. 333:32-41, 1995
19. Aird I, Bentall HH, Mehigan JA, Roberts JAF. The blood groups in relation to peptic ulceration and carcinoma of colon, rectum, breast, and bronchus. Brit. M. J. 315, 1954
20. Mourant AE, Kopec AC, Domainiewska-Sobczak K. Blood-groups and blood-clotting. Lancet 1:223-228, 1973
21. Preston AE, Barr A. The plasma concentration of factor VIII in the normal population. II. The effects of age, sex and blood group. Br. J. Haematol. 10:238-245, 1964
22. Kingsbury KJ. Relation of ABO blood groups to atherosclerosis. Lancet 1:199-203, 1971

23. O'Donnell J, Laffan MA. The relationship between ABO histo-blood group, factor VIII and von Willebrand factor. *Transfus. Med.* 1(4):343-351, 2001
24. Garratty G. Relationship of blood groups to disease: do blood group antigens have a biological role? *Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Soc.* 43(1):113-121, 2005
25. D'Adamo P. *The Individualist*, 2006
Διαθέσιμο:<http://www.dadamo.com/wiki/wiki.pl/>
26. Sazama K. Reports of 355 transfusion-associated deaths: 1976 through 1985. *Transfusion* 30:583-590, 1990
27. Williamson LM, Lowe S, Love EM, Cohen H, Soldan K, McClelland DB, Skacel P, Barbara JA. Serious hazards of transfusion (SHOT) initiative: analysis of the first two annual reports. *B.M.J.* 319:16-19, 1999
28. Ozolek JA, Watchko JF, Mimouni F. Prevalence and lack of clinical significance of blood group incompatibility in mothers with blood type A or B. *J. Pediatr.* 125:87-91, 1994
29. Jeon H, Calhoun B, Pothiwala M, Herschel M, Baron BW. Significant ABO hemolytic disease of the newborn in a group B infant with a group A2 mother. *Immunohematol.* 16:105-108, 2000
30. Haque KM, Rahman M. An unusual case of ABO-haemolytic disease of the newborn. *Bangladesh Med. Res. Coun. Bull.* 26:61-64, 2000
31. Grundbacher FJ. The etiology of ABO hemolytic disease of the newborn. *Transfusion* 20:563-568, 1980
32. Bucher KA, Patterson AM Jr, Elston RC, Jones CA, Kirkman HN Jr. Racial difference in incidence of ABO hemolytic disease. *Am. J. Public Health.* 66:854-858, 1976
33. Toy PT, Reid ME, Papenfuss L, Yeap HH, Black D. Prevalence of ABO maternal-infant incompatibility in Asians, Blacks, Hispanics and Caucasians. *Vox Sang.* 54:181-183, 1988
34. Yamamoto F, McNeill PD, Hakomori S. Genomic organization of human histo-blood group ABO genes. *Glycobiology* 5:51-58, 1995
35. Bennett EP, Steffensen R, Clausen H, Weghuis DO, Geurts van Kessel A. Genomic cloning of the human histo-blood group ABO locus. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 211:347, 1995
36. Yamamoto F, Clausen H, White T, Marken J, Hakomori S. Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system. *Nature* 345:229-233, 1990
37. Yamamoto F, Hakomori S. Sugar-nucleotide donor specificity of histo-blood group A and B transferases is based on amino acid substitutions. *J. Biol. Chem.* 265:19257-19262, 1990
38. Watkins WM, Morgan WTJ. Possible genetical pathways for the biosynthesis of blood group mucopolysaccharides. *Vox Sang.* 4(2):97-119, 1959
39. Watkins WM. Blood-Group Substances. *Science* 152:172-181, 1966
40. Yamamoto F. Review: ABO blood group system--ABH oligosaccharide antigens, anti-A and anti-B, A and B glycosyltransferases, and ABO genes. *Immunohematology* 20(1):3-22, 2004
41. Schroeder M, Jensen M. *Life's Blood. Class Notes*, 2006
Διαθέσιμο:http://faculty.matcmadison.edu/mljensen/BloodBank/lectures/abo_blood_group_system.htm
42. Bhende YM, Deshpande CK, Bhatia HM, Sanger R, Race RR, Morgan WT, Watkins WM. A "new" blood group character related to the ABO system. *Lancet* 1(6714):903-904, 1952
43. Reid ME, Lomas-Francis C. *The Blood Group Antigen Facts Book*. New York: Elsevier Academic Press. Second ed. 2004
44. Kelly RJ, Ernst LK, Larsen R D, Bryant JG, Robinson JS, Lowe JB. Molecular basis for H blood group deficiency in Bombay (Oh) and para-Bombay individuals. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 91: 5843-5847, 1994.
45. Rouquier S, Lowe JB, Kelly RJ, Fertitta AL, Lennon GG, Giorgi D. Molecular cloning of a human genomic region containing the H blood

group alpha-(1,2)fucosyltransferase gene and two H locus-related DNA restriction fragments: isolation of a candidate for the human secretor blood group locus. *J. Biol. Chem.* 270:4632-4639, 1995

46. Yu LC, Yang YH, Broadberry RE, Chen YH, Lin M. Heterogeneity of the human H blood group alpha(1,2)fucosyltransferase gene among para-Bombay individuals. *Vox Sang.* 72:36-40, 1997

47. Zhu K, Amin MA, Kim MJ, Katschke KJ Jr, Park CC, Koch AE. A novel function for a glucose analog of blood group H antigen as a mediator of leukocyte-endothelial adhesion via intracellular adhesion molecule 1. *J. Biol. Chem.* 278:21869-21877, 2003

48. Reguigne-Arnould I, Couillin P, Mollicone R, Faure, S, Fletcher A, Kelly RJ, Lowe JB, Oriol R. Relative positions of two clusters of human alpha-L-fucosyltransferases in 19q (FUT1-FUT2) and 19p (FUT6-FUT3-FUT5) within the microsatellite genetic map of chromosome 19. *Cytogenet. Cell. Genet.* 71:158-162, 1995

49. Ball SP, Tongue N, Gibaud A, Le Pendu J, Mollicone R, Gerard G, Oriol R. The human chromosome 19 linkage group FUT1 (H), FUT2 (Se), LE, Lu, PEPD, C3, APOC2, DS19S7 and DS19S9. *Ann. Hum. Genet.* 55:225-233, 1991

50. Oriol R, Danilovs J, Hawkins BR. A new genetic model proposing that the Se gene is a structural gene closely linked to the H gene. *Am. J. Hum. Genet.* 33:421-431, 1981

51. Le Pendu J, Clamagirand-Mulet C, Cartron J-P, Gerard G, Vitrac D, Oriol R. H-deficient blood groups of Reunion Island. III. Alpha-2-L-fucosyltransferase activity in sera of homozygous and heterozygous individuals. *Am. J. Hum. Genet.* 35:497-507, 1983

52. Wagner FF, Flegel WA. Polymorphism of the h allele and the population frequency of sporadic nonfunctional alleles. *Transfusion* 37:284-290, 1997

53. Wagner T, Vadon M, Staudacher E, Schmarada A, Gassner C, Helmsberg W, Lanzer G, Flegel WA, Wagner FF. A new h allele detected in Europe has a missense mutation in alpha(1,2)-fucosyltransferase motif II. *Transfusion* 41:31-38, 2001

54. Koda Y, Soejima M, Johnson PH, Smart E, Kimura H. Missense mutation of FUT1 and deletion of FUT2 are responsible for Indian Bombay phenotype at ABO blood group system. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 238: 21-25, 1997

55. Gerard G, Vitrac D, Le Pendu J, Muller A, Oriol R. H-deficient blood groups (Bombay) of Reunion Island. *Am. J. Hum. Genet.* 34:937-947, 1982

56. Le Pendu J, Gerard G, Vitrac D, Juszczak G, Liberge G, Rouger P, Salmon C, Lambert F, Dalix A-M, Oriol R. H-deficient blood groups of Reunion Island. II. Differences between Indians (Bombay phenotype) and whites (Reunion phenotype). *Am. J. Hum. Genet.* 35:484-496, 1983

57. Fernandez-Mateos P, Cailleau A, Henry S, Costache M, Elmgren A, Svensson L, Larson G, Samuelsson BE, Oriol R, Mollicone R. Point mutations and deletion responsible for the Bombay H null and the Reunion H weak blood groups. *Vox Sang.* 75:37-46, 1998

58. Etzioni A, Frydman M, Pollack S, Avidor I, Phillips ML, Paulson JC, Gershoni-Baruch R. Recurrent severe infections caused by a novel leukocyte adhesion deficiency. *N. Engl. J. Med.* 327:1789, 1992

59. Etzioni A, Phillips LM, Paulson JC, Harlan JM. Leukocyte adhesion deficiency (LAD) II. *Ciba Found. Symp.* 189:51-78, 1995

60. Marquardt T, Lühn K, Srikrishna G, Freeze HH, Harms E, Vestweber D. Correction of leukocyte adhesion deficiency type II with oral fucose. *Blood* 94(12):3976-3985, 1999

61. Etzioni A, Tonetti M, Vestweber D, Marquardt T. Fucose supplementation in leukocyte adhesion deficiency type II. *Blood* 95(11):3641-3643, 2000

62. Freeze HH. Sweet solution: sugars to the rescue. *J. Cell Biol.* 158(4):615-616, 2002

63. Levine P, Stetson RE. An unusual case of intra-group agglutination. *J. Am. Med. Assoc.* 113:126-127, 1939
64. Owen R. Karl Landsteiner and the First Human Marker Locus. *Genetics* 155:995-998, 2000
65. Landsteiner K, Wiener A. An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for rhesus blood. *Proc. Soc. Exp. Biol. (NY)* 43:223-224, 1940
66. Καλλινίκου-Μανιάτη Α, Ιατρική των μεταγγίσεων. Ιατρικές Εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε, Αθήνα, 2001
67. Levine P, Burnham L, Katzin EM, Vogel P. The role of isoimmunization in the pathogenesis of erythroblastosis fetalis. *Am. J. Obst. & Gynec.* 42: 925-937, 1941
68. Levine P, Katzin EM, Burnham L. Isoimmunization in pregnancy: its possible bearing on the etiology of erythroblastosis fetalis. *JAMA* 116:825-827, 1941
69. Levine P, Celano MJ, Wallage J, Sanger R. A human "D-like" antibody. *Nature* 198:596-597, 1963
70. Fisk RT, Foord AG. Observations on the Rh agglutinin of human blood. *Am. J. Clin. Path.* 12:545-552, 1942
71. Landsteiner K, Wiener AS. Studies on agglutinin (Rh) in human blood reacting with anti-rhesus sera and with human isoantibodies. *Jour. Exper. Med.* 74:309-320, 1941
72. Levine P. A survey of the significance of the Rh factor. *Blood* 3(2):3-26, 1948
73. Avent ND, Reid ME. The Rh blood group system: a review. *Blood* 95(2):375-387, 2000
74. Westhoff CM. The Structure and Function of the Rh antigen Complex. *Semin. Hematol.* 44(1):42-50, 2007
75. Hyland CA, Wolter LC, Liew YW, Saul A. A southern analysis of Rh blood group genes: association between restriction fragment length polymorphism patterns and Rh serotypes. *Blood* 83(2):566-572, 1994
76. Mourant AE, Kopec AC, Domaniewska-Sobczak K. The distribution of the human blood groups and other polymorphisms. London: Oxford University Press, 1976
77. Zhao TM: Human blood group genetics. 1st Edition. Science Press, Beijing, S. 103-106, 1987
78. Fisher RA, Race RR. Rh gene frequencies in Britain. *Nature* 157:48-49, 1946
79. Simsek S, de Jong CA, Cuijpers HT, Bleeker PM, Westers TM, Overbeeke MA, Goldschmeding R, van der Schoot CE, von dem Borne AE. Sequence analysis of cDNA derived from reticulocyte mRNAs coding for Rh polypeptides and demonstration of E/e and C/c polymorphisms. *Vox Sang.* 67:203-209, 1994
80. Avent ND, Daniels GL, Martin PG, Green CA, Finning KM, Warner KM. Molecular investigation of the Rh C/c polymorphism [abstract]. *Transfus Med.* 7(1):18 1997
81. Mouro I, Colin Y, Chérif-Zahar B, Cartron J-P, Le Van Kim C. Molecular genetic basis of the human Rhesus blood group system. *Nature Genet.* 5:62-65, 1993
82. Issitt PD. An invited review: the Rh antigen e, its variants, and some closely related serological observations. *Immunohematology* 7:29-36, 1991
83. Steers F, Wallace M, Johnson P, Carritt B, Daniels G. Denaturing gradient gel electrophoresis: a novel method for determining Rh phenotype from genomic DNA. *Br J Haematol.* 94:417-421, 1996
84. Faas BHW, Beckers EAM, Wildoer P, Ligthart PC, Overbeeke MA, Zondervan HA, von dem Borne AE, van der Schoot CE. Molecular background of VS and weak C expression in blacks. *Transfusion* 37:38-44, 1997

- 85.** Huang C-H, Reid ME, Chen Y, Novaretti M. Deletion of Arg229 in RhCE polypeptide alters expression of RhE and CE-associated Rh6. *Blood* 90(1):272a, 1997
- 86.** Westhoff CM, Silberstein LE, Sipherd B, Demetry J. Altered "e" antigen expression associated with 16Cys in exon 1 of the RHce gene. *Transfusion* 38(1):64s, 1998
- 87.** Noizat-Pirenne F, Mouro I, Gane P, Okubo Y, Hori Y, Rouger P, Le Pennec PY, Cartron JP. Heterogeneity of blood group RhE variants revealed by serological analysis and molecular alteration of the RHCE gene and transcript. *Br. J. Haematol.* 103:429-436, 1998
- 88.** Colin Y, Cherif-Zahar B, Le Van Kim C, Raynal V, Van Huffel V, Cartron JP. Genetic basis of the RhD positive and RhD-negative blood group polymorphism as determined by Southern analysis. *Blood* 78(10):2747-2752, 1991
- 89.** Wagner FF, Frohmajer A, Ladewig B, Eicher NI, Lonicer CB, Müller TH, Siegel MH, Flegel WA. Weak D alleles express distinct phenotypes. *Blood* 95(8):2699-2708, 2000
- 90.** Flegel WA. The Genetics of the Rhesus Blood Group System. *Dtsch Arztebl.* 104(10):A651-657, 2007
- 91.** Race RR. The Rh genotypes and Fisher's theory. *Blood* 3(2):27-42, 1948
- 92.** Wagner FF, Flegel WA. Review: the molecular basis of the Rh blood group phenotypes. *Immunohematology* 20(1):23-36, 2004
- 93.** Singleton BK, Green CA, Avent ND, Martin PG, Smart E, Daka A, Olaga EG, Hawthorne LM, Daniels G. The presence of an RHD pseudogene containing a 37bp duplication and a nonsense mutation is present in most Africans with the Rh D-negative blood group phenotype. *Blood* 95(1):12-18, 2000
- 94.** Avent ND, Martin PG, Armstrong-Fisher SS, Liu W, Finning KM, Maddocks D, Urbaniak SJ. Evidence of genetic diversity underlying Rh D-, weak D (D^w), and partial D phenotypes as determined by multiplex polymerase chain reaction analysis of the RHD gene. *Blood* 89(7):2568-2577, 1997
- 95.** Avent ND, Jones JW, Liu W, Scott ML, Voak D, Flegel WA, Wagner FF, Green C. Molecular basis of the D variant phenotypes DNU and DII allows localization of critical amino acids required for expression of RhD epitopes epD3, 4 and 9 to the sixth external domain of the RhD protein. *British Journal of Haematology* 97(2):366-371, 1997
- 96.** Le Van Kim C, Mouro I, Chérif-Zahar B, Raynal V, Cherrier V, Cartron, JP, Colin Y. Molecular cloning and primary structure of the human blood group RhD polypeptide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10925-10929, 1992
- 97.** Arce MA, Thompson ES, Wagner S, Coyne KE, Ferdman BA, Lublin DM. Molecular cloning of RhD cDNA derived from a gene present in RhD-positive, but not RhD-negative individuals. *Blood* 82(2):651-655, 1993
- 98.** Andrews KT, Wolter LC, Saul A, Hyland CA. The RhD- trait in a white patient with the RhCCee phenotype attributed to a four-nucleotide deletion in the RHD gene. *Blood* 92(5):1839-1840, 1998
- 99.** Huang C-H. Alteration of RH gene structure and expression in human dCCee and Dcw- red blood cells: phenotypic homozygosity versus genotypic heterozygosity. *Blood* 88(6):2326-2333, 1996
- 100.** Faas BH, Beckers EA, Simsek S, Overbeeke MA, Pepper R, van Rhenen DJ, von dem Borne AE, van der Schoot CE. Involvement of Ser103 of the Rh polypeptides in G epitope formation. *Transfusion* 36:506-511, 1996
- 101.** Rouillac C, Colin Y, Hughes-Jones NC, Beolet M, D'Ambrosio AM, Cartron JP, Le Van Kim C. Transcript analysis of D category phenotypes predicts hybrid Rh D-CE-D proteins associated with alteration of D epitopes. *Blood* 85(10):2937-2944, 1995α

- 102.** Chang JG, Wang JC, Yang TY, Tsan KW, Shih MC, Peng CT, Tsai CH. Human RhDel is caused by a deletion of 1,013 bp between introns 8 and 9 including exon 9 of RHD gene. *Blood* 92(7):2602-2604, 1998
- 103.** Tylis YC, Don LS. The limitations of site-directed mutagenesis in the localization of Rh D epitopes. *Blood* 96(3):1196-1199, 2000
- 104.** Flegel WA, Denomme GA, Yazer MH. On the Complexity of D Antigen Typing: A Handy Decision Tree in the Age of Molecular Blood Group Diagnostics. *J. Obstet. Gynaecol. Can.* 29(9):746-752, 2007
- 105.** Scott M. Rh serology - Coördinator's report. *Transfusion Clin. Biol.* 6:333-337, 1996
- 106.** Avent ND, Butcher SK, Liu W, Mawby WJ, Mallinson G, Parsons SF, Anstee DJ, Tanner MJA. Localization of the C termini of the Rh (rhesus) polypeptides to the cytoplasmic face of the human erythrocyte membrane. *J. Biol. Chem.* 267:5134-15139, 1992
- 107.** Ridgwell K, Spurr NK, Laguda B, MacGeoch C, Avent ND, Tanner MJ. Isolation of cDNA clones for a 50 kDa glycoprotein of the human erythrocyte membrane associated with Rh (rhesus) blood-group antigen expression. *Biochem. J.* 287:223-228, 1992
- 108.** Wagner FF, Gassner C, Müller TH, Schönitzer D, Schunter F, Flegel WA. Three molecular structures cause Rhesus D category VI phenotypes with distinct immunohematologic features. *Blood* 91(6):2157-2168, 1998
- 109.** Omi T, Okuda H, Iwamoto S, Kajii E, Takahashi J, Tanaka M, Tani Y, Fraser RH, Seno T. Detection of Rh23 in the partial D phenotype associated with the D(Va) category. *Transfusion* 40:256-258, 2000
- 110.** Wagner FF, Ernst M, Sonneborn HH, Flegel WA. A D(V)-like phenotype is obliterated by A226P in the partial D DBS. *Transfusion* 41(8):1052-1058, 2001
- 111.** Mouro I, Le Van Kim C, Rouillac C, van Rhenen DJ, Le Penne PY, Bailly P, Cartron JP, Colin Y. Rearrangements of the blood group RhD gene associated with the DVI category phenotype. *Blood* 83(4):1129-1135, 1994
- 112.** Rouillac C, Le Van Kim C, Beolet M, Cartron JP, Colin Y. Leu110Pro substitution in the RhD polypeptide is responsible for the DVII category blood group phenotype. *Am. J. Hematol.* 49:87-88, 1995
- 113.** Beckers EAM, Faas BHW, von dem Borne AEGK, Overbeeke MAM, van Rhenen DJ, van der Schoot CE. The R₀Har Rh:33 phenotype results from substitution of exon 5 of the RHCE gene by the corresponding exon of the RHD gene. *Br. J. Haematol.* 92:751-757, 1996
- 114.** Tippett P, Lomas-Francis C, Wallace M. The Rh antigen D: partial D antigens and associated low incidence antigens. *Vox Sang.* 70:123-131, 1996
- 115.** Wagner FF, Eicher NI, Jorgensen JR, Lonicer CB, Flegel WA. DNB: a partial D with anti-D frequent in Central Europe. *Blood* 100(6):2253-2256, 2002
- 116.** Avent ND, Martinez A, Flegel WA, Olsson ML, Scott ML, Nogués N, Písacka M, Daniels G, van der Schoot E, Muñoz-Díaz E, Madgett TE, Storry JR, Beiboer SH, Maaskant-van Wijk PA, von Zabern I, Jiménez E, Tejedor D, López M, Camacho E, Cheroutre G, Hacker A, Jinoch P, Svobodova I, de Haas M. The Blood Gen project: toward mass-scale comprehensive genotyping of blood donors in the European Union and beyond. *Transfusion* 47:40s-46s, 2007
- 117.** Stratton F: A new Rh allelomorph. *Nature* 158:25-26, 1946
- 118.** Issitt PD, Anstee DJ. *Applied Blood Group Serology*. Miami: Montgomery Scientific Publications, 1998
- 119.** Agre PC, Davies DM, Issitt PD, Lamy BM, Schmidt PJ, Treacy M, Vengelen-Tyler V. A proposal to standardize terminology for weak D antigen. *Transfusion* 32(1):86-87, 1992
- 120.** Flegel WA, Wagner FF. Molecular Biology of partial D and weak D: Implications for Blood Bank Practice. *Clin. Lab.* 48:53-59, 2002

- 121.** Beckers EAM, Faas BHW, Overbeeke MAM, von dem Borne AEGK, van Rhenen DJ, van der Schoot CE: Molecular aspects of the weak-D phenotype. *Transfusion* 35:50S, 1995
- 122.** Rouillac C, Gane P, Cartron J-P, Le Pennec PY, Colin Y: Molecular basis of the altered antigenic expression of RhD in weak D (Du) and RhC/e in RN phenotypes. *Blood* 87(11):4853-4861, 1996
- 123.** Beckers EAM, Faas BHW, Ligthart P, Overbeeke MA, von dem Borne AE, van der Schoot CE, van Rhenen DJ: Lower antigen site density and weak D immunogenicity cannot be explained by structural genomic abnormalities or regulatory defects of the RHD gene. *Transfusion* 37(6):616-623, 1997
- 124.** Wagner FF, Gassner C, Müller TH, Schönitzer D, Schunter F, Flegel WA: Molecular basis of weak D phenotypes. *Blood* 93(1):385-393, 1999
- 125.** Flegel WA. Weak D types by number. The Rhesus Site. DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg-Hessen. 1998-2009
Διεύθυνση: <http://www.uni-ulm.de/~fwagner/RH/RB/>
- 126.** Flegel WA. RHCE-alleles with some RHD-resemblance by mutated position. The Rhesus Site. DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg-Hessen. 1998-2009
Διεύθυνση: <http://www.uni-ulm.de/~fwagner/RH/RB/>
- 127.** Cowley NM, Saul A, Hyland CA. RHD gene mutations and the weak D phenotype: an Australian blood donor study. *Vox Sang.* 79:251-252, 2000
- 128.** Müller TH, Wagner FF, Trockenbacher A, Eicher NI, Flegel WA, Schönitzer D, Schunter F, Gassner C. PCR screening for common weak D types shows different distributions in three Central European populations. *Transfusion* 41:45-52, 2001
- 129.** Döscher A, Ladewig B, Das Gupta C, Gnoth S, Janßen S. Molecular genetic RHD characterization of 577 cases with serologic suspect for weak D (abstract). *Transfus. Med. Hemother.* 30(1):1-56, 2003
- 130.** Kamesaki T, Iwamoto S, Kumada M, Omi T, Okuda H, Tanaka M, Takahashi J, Obara K, Seno T, Tani Y, Kajii E. Molecular characterization of weak D phenotypes by site directed mutagenesis and expression of mutant Rh-green fluorescence protein fusions in K562 cells. *Vox Sang.* 81:254-258, 2001
- 131.** Wagner FF. Die molekulare Basis der RH Haplotypen mit schwacher Expression des Antigens D [The molecular basis of RH haplotypes expressing weak D antigens]. Habilitationsschrift. Universität Ulm; 1999
Διεύθυνση: http://vts.uni-ulm.de/query/longview.meta.asp?document_id=584
- 132.** Wagner FF, Kasulke D, Kerowgan M, Flegel WA: Frequencies of the blood groups ABO, Rhesus, D category VI, Kell, and of clinically relevant high-frequency antigens in South-Western Germany. *Infusionsther Transfusions med.* 22:285-290, 1995
- 133.** Garratty G. Do we need to be more concerned about weak D antigens? *Transfusion* 45(10):1547-1551, 2005
- 134.** Hemker MB, Ligthart PC, Berger L, van Rhenen DJ, van der Schoot CE, Wijk PA. DAR, a new RhD variant involving exons 4, 5, and 7, often in linkage with ceAR, a new Phce variant frequently found in African blacks. *Blood* 94(12):4337-4342, 1999
- 135.** Noizat-Pirenne F, Verdier M, Lejealle A, Mercadier A, Bonin P, Peltier-Pujol F, Fialaire-Legendre A, Tournamille C, Philippe Bierling P, Ansart-Pirenne H. Weak D phenotypes and transfusion safety: where do we stand in daily practice? *Transfusion* 47(9):1616-1620, 2007
- 136.** Wagner FF, Flegel WA. RHD gene deletion occurred in the Rhesus box. *Blood* 95(12):3662-3668, 2000
- 137.** Okubo Y, Yamaguchi H, Nagao N. A D variant, Del? *Transfusion* 24:542, 1984

- 138.** Kemp TJ, Poulter M, Carritt B. A recombination hot spot in the Rh gene revealed by analysis of unrelated donors with the rare D-phenotype. *Am. J. Hum. Genet.* 59:1066-1073, 1996
- 139.** Shao CP, Maas JH, Su YQ, Kohler M, Legler TJ. Molecular background of Rh D-positive, D-negative, D(el) and weak D phenotypes in Chinese. *Vox Sang.* 83:156-161, 2002
- 140.** Wagner FF, Frohmajer A, Flegel WA. RHD positive haplotypes in D negative Europeans. *BMC Genetics* 2:10, 2001
- 141.** Luettringhaus TA, Cho D, Ryang DW, Flegel WA. An easy RHD genotyping strategy for D- East Asian persons applied to Korean blood donors. *Transfusion* 46(12):2128-2137, 2006
- 142.** Fukumori Y, Hori Y, Ohnoki S, Nagao N, Shibata H, Okubo Y, Yamaguchi H. Further analysis of Del (D-elute) using polymerase chain reaction (PCR) with RHD gene-specific primers. *Transfus. Med.* 7: 227-23, 1997
- 143.** Sun CF, Chou CS, Lai NC, Wang WT. RHD gene polymorphisms among RhD-negative Chinese in Taiwan. *Vox Sang.* 75: 52-57, 1998
- 144.** Sun CF, Liu JP, Chen DP, Wang WT, Yang TT. Use of real time PCR for rapid detection of Del phenotype in Taiwan. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 38(3):258-263, 2008
- 145.** Chen AX, Wu JJ, Xu FJ, Zhang LY, Ni YH, Fu QH. Molecular basis of Rh DEL phenotype in Zhejiang Han population. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi.* 14(5):1029-1032, 2006
- 146.** Chang TY, Don Siegel DL. Genetic and immunological properties of phage-displayed human anti-Rh(D) antibodies: implications for Rh(D) epitope topology. *Blood* 91(8):3066-3078, 1998
- 147.** Seidl S, Spielmann W, Martin H. Two siblings with Rh_{null} disease. *Vox Sang.* 23:182-189, 1972
- 148.** Hemker M.B, Cheroutre G, van Zwieten R, Maaskant-van Wijk PA, Roos D, Loos JA, van der Schoot CE, von dem Borne AE. The Rh complex exports ammonium from human red blood cells. *British Journal of Haematology*; 122(2): 333-340, 2003
- 149.** Reid ME. The Rh Antigen D: A Review for Clinicians. *Blood Bulletin* 10(1), 2008
- 150.** Cartron JP. RH blood group system and molecular basis of Rh-deficiency. *Baillieres Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 12(4):655-689, 1999
- 151.** Levine P, Celano MJ, Falkowski F: A second example of ---/--- blood or Rh-null. *Nature* 204:892-893, 1964
- 152.** Ishimori T, Hasekura H. A Japanese with no detectable Rh blood group antigens due to silent Rh alleles or deleted chromosomes. *Transfusion* 7(2):84-87, 1967
- 153.** Chérif-Zahar B, Raynal V, Le Van Kim C, D'Ambrosio AM, Bailly P, Cartron JP, Colin Y. Structure and expression of the RH locus in the Rh-deficiency syndrome. *Blood* 82(2):656-662, 1993
- 154.** Hyland CA, Chérif-Zahar B, Cowley N, Raynal V, Parkes J, Saul A, Cartron JP. A Novel single missense mutation identified along the RH50 gene in a composite heterozygous Rhnull blood donor of the regulator type. *Blood* 91(4):1458-1463, 1998
- 155.** Molaro G, Reali G. The contribution of molecular diagnosis to erythrocyte immunohaematology, with particular regard to null phenotypes. *Blood Transf.* 1:18-40, 2003
- 156.** Huang C-H, Cheng G, Liu Z, Chen Y, Reid ME, Halverson G, Okubo Y. Molecular basis for Rh(null) syndrome: identification of three new missense mutations in the Rh50 glycoprotein gene. *Am. J Hematol.* 62(1):25-32, 1999
- 157.** Chérif-Zahar B, Matassi G, Raynal V, Gane P, Mempel W, Perez C, Cartron JP. Molecular Defects of the RHCE Gene in Rh-Deficient Individuals of the Amorph Type. *Blood* 92(2):639-646, 1998
- 158.** Chérif-Zahar B, Matassi G, Raynal V, Gane P, Delaunay J, Arrizabalaga B and Cartron JP. Rh-Deficiency of the Regulator Type

- Caused by Splicing Mutations in the Human RH50 Gene. *Blood* 92(7):2535-2540, 1998
- 159.** Kawano M, Iwamoto S, Okuda H, Fukuda S, Hasegawa N, Kajii E. A splicing mutation of the RHAG gene associated with the Rhnull phenotype. *Ann. Hum. Genet.* 62(Pt2):107-113, 1998
- 160.** Huang C-H, Chen Y, Reid ME, Seidl C. Rh_{null} Disease: The Amorph Type Results From a Novel Double Mutation in RhCe Gene on D-Negative Background. *Blood* 92(2):664-671, 1998
- 161.** Rosa KA, Reid ME, Lomas-Francis C, Powell VI, Costa FF, Stinghen ST, Watanabe AM, Carboni EK, Baldon JP, Jucksch MM, Castilho L. Rhnull syndrome: identification of a novel mutation in RHce. *Transfusion* 45(11):1796-1798, 2005
- 162.** Chown B, Lewis M, Kaita H, Lowen B. An unlinked modifier of Rh blood groups: effects when heterozygous and when homozygous. *Am. J. Hum. Genet.* 24:623-637, 1972
- 163.** Huang C-H. The human Rh50 glycoprotein gene - structural organization and associated splicing defect resulting in Rhnull disease. *J Biol. Chem.* 273:2207-2213, 1998
- 164.** Chérif-Zahar B, Raynal V, Gane P, Mattei MG, Bailly P, Gibbs B, Colin Y, Cartron JP. Candidate gene acting as a suppressor of the RH locus in most cases of Rh-deficiency. *Nat Genet.* 12(2):168-173, 1996
- 165.** Avent ND, Ridgwell K, Tanner MJA, Anstee DJ. cDNA cloning of a 30 kDa erythrocyte membrane protein associated with Rh (Rhesus)-blood-group-antigen expression. *Biochem J.* 271:821-825, 1990
- 166.** Eyers SA, Ridgwell K, Mawby WJ, Tanner MJ. Topology and organization of human Rh (rhesus) blood group-related polypeptides. *J. Biol. Chem.* 269:6417-6423, 1994
- 167.** Avent ND, Liu W, Warner KM, Mawby WJ, Jones JW, Ridgwell K, Tanner KJA. Immunochemical analysis of the human erythrocyte Rh polypeptides. *J Biol Chem.* 271:14233-14239, 1996
- 168.** Westhoff CM. Deciphering the function of the Rh family of proteins. *Transfusion* 45(2):117s-121s, 2005
- 169.** Lupo D, Li XD, Durand A, Tomizaki T, Cherif-Zahar B, Matassi G, Merrick M, Winkler FK. The 1.3Å resolution structure of Nitrosomonas europaea Rh50 and mechanistic implications for NH₃ transport by Rhesus family proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104(49):19303-19308, 2007
- 170.** Marini AM, Urrestarazu A, Beauwens R, André B. The Rh (rhesus) blood group polypeptides are related to NH₄⁺ transporters. *Trends. Biochem. Sci.* 22:460-461, 1997
- 171.** Marini AM, Matassi G, Raynal V, Andre B, Cartron JP, Cherif-Zahar B. The human Rhesus-associated RhAG protein and a kidney homologue promote ammonium transport in yeast. *Nature Genetics* 26:341-344, 2000
- 172.** Soupene E, King N, Field E, Liu P, Niyogi KK, Huang C-H, Kustu S. Rhesus expression in a green alga is regulated by CO₂. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 99:7769-7773, 2002
- 173.** Hung CYC, Tsui KTN, Wilson JM, Nawata CM, Wood CM, Wright PA. Rhesus glycoprotein gene expression in the mangrove killifish *Kryptolebias marmoratus* exposed to elevated environmental ammonia levels and air. *J. Exp. Biol.* 210:2419-2429, 2007
- 174.** Rutherford JC, Lin X, Nielsen K, Heitman J. Amt2 Permease Is Required To Induce Ammonium-Responsive Invasive Growth and Mating in *Cryptococcus neoformans*. *Eukaryot. Cell.* 7:237-246, 2008
- 175.** Merrick M, Javelle A, Durand A, Severi E, Thornton J, Avent ND, Conroy MJ, Bullough PA. The *Escherichia coli* AmtB protein as a model system for understanding ammonium transport by Amt and Rh proteins. *Transfus. Clin. Biol.* 13:97-102, 2006
- 176.** Nygaard TP, Rovira C, Peters GH, Jensen MO. Ammonium Recruitment and Ammonia Transport by *E. coli* Ammonia Channel AmtB. *Biophys. J.* 91:4401-4412, 2006

- 177.** Bostick DL, Brooks CL III. On the Equivalence Point for Ammonium (De) protonation during Its Transport through the AmtB Channel. *Biophys. J.* 92:L103-L105, 2007
- 178.** Zheng L, Kostrewa D, Bernèche S, Winkler FK, Li X.-D. The mechanism of ammonia transport based on the crystal structure of AmtB of *Escherichia coli*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 101:17090-17095, 2004
- 179.** Andrade SL, Dickmanns A, Ficner R, Einsle O. Crystal structure of the archaeal ammonium transporter Amt-1 from *Archaeoglobus fulgidus*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 102:14994-14999, 2005
- 180.** Winkler FK. Amt/MEP/Rh proteins conduct ammonia. *Pflugers. Arch.* 451:701-707, 2006
- 181.** Khademi S, O'Connell J3rd, Remis J, Robles-Colmenares Y, Miercke LJ, Stroud RM. Mechanism of ammonia transport by Amt/MEP/Rh: structure of AmtB at 1.35Å. *Science* 305(5690):1573-1574, 2004
- 182.** Javelle A, Thomas G, Marini AM, Kramer R, Merrick M. In vivo functional characterization of the *Escherichia coli* ammonium channel AmtB: evidence for metabolic coupling of AmtB to glutamine synthetase. *Biochem. J.* 390:215-222, 2005
- 183.** Siewe RM, Weil B, Burkovski A, Eikmanns BJ, Eikmanns M, Kramer R. Functional and Genetic Characterization of the (Methyl)ammonium Uptake Carrier of *Corynebacterium glutamicum*. *J. Biol. Chem.* 271:5398-5403, 1996
- 184.** Mayer M, Schaaf G, Mouro I, Lopez C, Colin Y, Neumann P, Cartron JP, Ludewig U. Different Transport Mechanisms in Plant and Human AMT/Rh-type Ammonium Transporters. *J. Gen. Physiol.* 127:133-144, 2006
- 185.** Javelle A, Lupo D, Li XD, Merrick M, Chami M, Ripoche P, Winkler FK. Structural and mechanistic aspects of Amt/Rh proteins. *J. Struct. Biol.* 158:472-481, 2007
- 186.** Nakada T, Westhoff CM, Kato A, Hirose S. Ammonia secretion from fish gill depends on a set of Rh glycoproteins. *FASEB J.* 21:1067-1074, 2007
- 187.** Genz J, Taylor JR, Grosell M. Effects of salinity on intestinal bicarbonate secretion and compensatory regulation of acid-base balance in *Opsanus beta*. *J. Exp. Biol.* 211(14):2327-2335, 2008
- 188.** Weidinger K, Neuhauser B, Gilch S, Ludewig U, Meyer O, Schmidt I. Functional and physiological evidence for a Rhesus-type ammonia transporter in *Nitrosomonas europaea*. *FEMS Microbiol. Lett.* 273(2):260-267, 2007
- 189.** Soupene E, Inwood W, Kustu S. Lack of the Rhesus protein Rh1 impairs growth of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* at high CO₂. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 101:7787-7792, 2004
- 190.** Kustu S, Inwood W. Biological gas channels for NH₃ and CO₂: evidence that Rh (Rhesus) proteins are CO₂ channels. *Transfusion Clinique et Biologique* 13:103-110, 2006
- 191.** Peng J, Huang CH. Rh proteins vs Amt proteins: an organismal and phylogenetic perspective on CO₂ and NH₃ gas channels. *Transfus. Clin. Biol.* 13:85-94, 2006
- 192.** Endeward V, Cartron JP, Ripoche P, Gros G. Red cell membrane CO₂ permeability in normal human blood and in blood deficient in various blood groups, and effect of DIDS. *Transfus. Clin. Biol.* 13:123-127, 2006
- 193.** Endeward V, Cartron JP, Ripoche P, Gros G. RhAG protein of the Rhesus complex is a CO₂ channel in the human red cell membrane. *FASEB J.* 22:64-73, 2008
- 194.** Matassi G, Cherif-Zahar B, Pesole G, Raynal V, Cartron JP. The members of the RH gene family (RH50 and RH30) followed different evolutionary pathways. *J. Mol. Evol.* 48:151-159, 1999
- 195.** Westhoff CM, Ferreri-Jacobia M, Mak DO, Foskett JK. Identification of the Erythrocyte Rh Blood Group Glycoprotein as a Mammalian Ammonium Transporter. *J. Biol. Chem.* 277:12499-12502, 2002

196. Ripoche P, Bertrand O, Gane P, Birkenmeier C, Colin Y, Cartron JP. Human Rhesus-associated glycoprotein mediates facilitated transport of NH₃ into red blood cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 101:17222-17227, 2004
197. Conroy MJ, Bullough PA, Merrick M, Avent ND. Modelling the human rhesus proteins: implications for structure and function. *Br. J. Haematol.* 131:543-551, 2005
198. Callebaut I, Dulin F, Bertrand O, Ripoche P, Mouro I, Colin Y, Mornon JP, Cartron JP. Hydrophobic cluster analysis and modeling of the human Rh protein three-dimensional structures. *Transfus. Clin. Biol.* 13:70-84, 2006
199. Westhoff CM, Storry JR, Walker P, Lomas-Francis C, Reid ME. A new hybrid RHCE gene (CeNR) is responsible for expression of a novel antigen. *Transfusion* 44(7):1047-1051, 2004
200. Hartel-Schenk S, Agre P. Mammalian red cell membrane Rh polypeptides are selectively palmitoylated subunits of a macromolecular complex. *J. Biol. Chem.* 267:5569-5574, 1992
201. Pollack W, Ascari WQ, Crispen JF, O'Connor RR, Ho TY: Studies on Rh prophylaxis. II. Rh immune prophylaxis after transfusion with Rh-positive blood. *Transfusion* 11:340-344, 1971
202. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. *Blood Transfusion in Clinical Medicine.* Oxford, England: Blackwell Science 1997
203. Woodrow JC, Donohoe WT: Rh-immunization by pregnancy: results of a survey and their relevance to prophylactic therapy. *Br. Med. J.* 4: 139-144, 1968
204. Ouwehand WH, Wallington TB. Adaptive immunity and transfusion. *Vox Sang.* 87(1):s35-s38, 2004
205. Ansart-Pirenne H, Asso-Bonnet M, Le Pennec PY, Roussel M, Patereau C, Noizat-Pirenne F. RhD variants in Caucasians: consequences for checking clinically relevant alleles. *Transfusion* 44(9):1282-1286, 2004
206. Kulkarni S, Mohanty D, Gupte S, Vasantha K, Joshi S. Flow cytometric quantification of antigen D sites on red blood cells of partial D and weak D variants in India. *Transfus. Med.* 16(4):285-289, 2006
207. Flegel WA, Wagner FF. Rhesus Immunisierungsregister (RIR) [The Rhesus Immunization Surveillance]. Ulm, DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg, Ulm 1998
 Διαθέσιμο: <http://www.uni-ulm.de/~wflegel/RH/RIR>
208. Falkenburg JH, Fibbe WE, van der Vaart-Duinkerken N, Nichols ME, Rubinstein P, Jansen J. Human erythroid progenitor cells express Rhesus antigens. *Blood* 66(3):660-663, 1985
209. Rearden A, Masouedis SP. Blood group D antigen content of nucleated red cell precursors. *Blood* 50(6):981-986, 1977
210. Cherif-Zahar B, Bloy B, Le Van Kim C, Blanchard D, Bailly P, Hermand P, Salmon C, Cartron J-P, Colin Y: Molecular cloning and protein structure of a human blood group Rh polypeptide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:6243-6247, 1990
211. Southcott MJG, Tanner MJ, Anstee DJ. The expression of human blood group antigens during erythropoiesis in a cell culture system. *Blood* 93(12):4425-4435, 1999
212. Chown B. On a search for Rhesus antibodies in very young fetuses. *Arch. Dis. Child.* 30(151):232-233, 1955
213. Zhu A, Haller S, Li H, Chaudhuri A, Blancher A, Suyama K. Use of RhD fusion protein expressed on K562 cell surface in the study of molecular basis for D antigenic epitopes. *Journal of Bio-Chemistry* 274(9):5731-5737, 1999
214. Wagner T, Körmöczy GF, Buchta C, Vandon M, Lanzer G, Mayr WR, Legler TJ. Anti-D immunization by DEL red blood cells. *Transfusion* 45(4):520-526, 2005

215. Smythe JS, Avent ND, Judson PA, Parsons SF, Martin PG, Anstee DJ. Expression of RHD and RHCE gene products using retroviral transduction of K562 cells establishes the molecular basis of Rh blood group antigens. *Blood* 87(7):2968-2973, 1996
216. Westhoff CM. The Rh blood group system in review: a new face for the next decade. *Transfusion* 44:1663-1673, 2004
217. Wayne AS, Kevy SV, Nathan DG. Transfusion management of sickle cell disease. *Blood* 81(5):1109-1123, 1993
218. Cox JV, Steane E, Cunningham G, Frenkel EP. Risk of alloimmunization and delayed hemolytic transfusion reactions in patients with sickle cell disease. *Arch. Intern. Med.* 148:2485-2489, 1988
219. Aygun B, Padmanabhan S, Paley C, Chandrasekaran V. Clinical significance of RBC alloantibodies and autoantibodies in sickle cell patients who received transfusions. *Transfusion* 42:37-43, 2002
220. Bowman JM. RhD hemolytic disease of the newborn. *N. Engl. J. Med.* 339(24):1775-1777, 1998
221. Diamond LK, Blackfan KD, Baty JM. Erythroblastosis fetalis and its association with universal edema of the fetus, icterus gravis neonatorum and anemia of the newborn. *The Journal of Pediatrics* 1(3):269-309, 1932
222. Marsal W. Κλινική Βιοχημεία. Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας, 1998
223. Μεσσήνης ΙΕ, Επίτομη Μαιευτική & Γυναικολογία. MD communications, 2005
224. Giblett ER. Blood group alloantibodies: an assessment of some laboratory practices. *Transfusion* 17(4):299-308, 1977
225. Heddle NM, Klama L, Frassetto R, O'Hoski P, Leaman B. A retrospective study to determine the risk of red cell alloimmunization and transfusion during pregnancy. *Transfusion* 33(3):217-220, 1993
226. Hoeltge GA, Domen RE, Rybicki LA, Schaffer PA. Multiple red cell transfusions and alloimmunization: experience with 6996 antibodies detected in a total of 159,262 patients from 1985 to 1993. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 119:42-45, 1995
227. Vos GH, Vos D, Kirk RI, Sanger R: A sample of blood with no detectable Rh antigens. *Lancet* 1:14, 1961
228. Ballas SK, Clark MR, Mohandas N, Colfer HF, Caswell MS, Bergren MO, Perkins HA, Shohet SB. Red cell membrane and cation deficiency in Rh null syndrome. *Blood* 63(5):1046-1055, 1984
229. Majsky A. Some cases of leukaemia with modifications of the D(Rho)-receptor. *Neoplasma* 14:335-344, 1967
230. Mohandas K, Najfield V, Gilbert H, Azar P, Skerrett D. Loss and reappearance of Rho(D) antigen on the red blood cells of an individual with acute myelogenous leukemia. *Immunohematol.* 10:134-135, 1994
231. Winters JL, Howard DS. Red blood cell antigen changes in malignancy: case report and review. *Immunohematol.* 17:1-9, 2001
232. Callender ST, Kay HE, Lawler SD, Millard RE, Sanger R, Tippett PA. Two populations of Rh groups together with chromosomally abnormal cell lines in the bone marrow. *Br. Med. J.* 1:131-133, 1971
233. Northoff H, Goldmann SF, Lattke H, Steinbach P. A patient, mosaic for Rh and Fy antigens lacking other signs of chimerism or chromosomal disorder. *Vox Sang.* 47:164-169, 1984
234. Salaru NNR, Lay WH. Rh blood group mosaicism in a healthy elderly woman. *Vox Sang.* 48:362-365, 1985
235. Cooper B, Tishler PV, Atkins L, Breg WR. Loss of Rh antigen associated with acquired Rh antibodies and a chromosome translocation in a patient with myeloid metaplasia. *Blood* 54(3):642-647, 1979
236. Kőrmőczi GF, Dauber E, HaasOA, Legler TJ, Clausen FB, Fritsch G, Raderer M, Buchta C, Petzer AL, Schönitzer D, Mayr WR, Gassner C. Mosaicism due to myeloid lineage-restricted loss of heterozygosity as

- cause of spontaneous Rh phenotype splitting. *Blood* 110(6):2148-2157, 2007
- 237.** Marsh WL, Chaganti RS, Gardner FH, Mayer K, Nowell PC, German J. Mapping human autosomes: evidence supporting assignment of rhesus to the short arm chromosome no.1. *Science* 183:966-968, 1974
- 238.** Eid SS. Molecular basis of RhD-positive/D-negative chimerism in two patients. *Eastern Mediterranean health journal* 10(1/2):228-241, 2004
Διαθέσιμο:http://www.emro.who.int/Publications/emhj/1001_2/Molecular.htm
- 239.** Chérif-Zahar B, Mattéi MG, Le Van Kim C, Bailly P, Cartron JP, Colin Y. Localization of the human Rh blood group gene structure to chromosome region 1p34.3-1p36.1 by in situ hybridization. *Hum. Genet.* 86(4):398-400, 1991
- 240.** MacGeoch C, Mitchell CJ, Carritt B, Avent ND, Ridgwell K, Tanner MJA, Spurr NK. Assignment of the chromosomal locus of the human 30-kDal Rh (Rhesus) blood group-antigen-related protein (Rh30A) to chromosome region 1p36.13->p34. *Cytogenet. Cell. Genet.* 59:261-263, 1992
- 241.** Avent ND, Madgett TE, Lee ZE, Head DJ, Maddocks DG, Skinner LH. Molecular biology of Rh proteins and relevance to molecular medicine. *Expert Rev. Mol. Med.* 8(13):1-20, 2006
- 242.** Kumada M, Iwamoto S, Kamesaki T, Okuda H, Kajii E. Entire sequence of a mouse chromosomal segment containing the gene Rhcd and a comparative analysis of the homologous human sequence. *Gene* 299:165-172, 2002
- 243.** Blancer A, Klein J, Socha WW. (The Rhesus system) *Molecular Biology and Evolution of Blood Group and MHC antigens in Primates.* Springer Verlag, Heidelberg, Germany. 147-218, 1997
- 244.** Kitano T, Sumiyama K, Shiroishi T, Saitou N. Conserved evolution of the Rh50 gene compared to its homologous Rh blood group gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 249:78-85, 1998
- 245.** Apoil PA, Roubinet F, Blancer A. Gorilla RH-like genes and antigens. *Immunogenetics* 49:125-133, 1999
- 246.** Apoil PA, Blancer A. Sequences and evolution of mammalian RH gene transcripts and proteins. *Immunogenetics* 49:15-25, 1999
- 247.** Wagner FF, Flegel WA. RHCE represents the ancestral RH position while RHD is the duplicated gene. Letter to the editor. *Blood* 99(6):2271-2273, 2002
- 248.** Westhoff CM, Wylie DE. Investigation of the human Rh blood groups system in nonhuman primates and other species with serologic and southern blot analysis. *J. Mol. Evol.* 39:87-92, 1994
- 249.** Westhoff CM, Wylie DE. Investigation of the RH locus in gorillas and chimpanzees. *J. Mol. Evol.* 42(6):658-668, 1996
- 250.** Apoil PA, Blancer A. Rh gene evolution in primates: study of intron sequences. *Mol. Biol. Evol.* 17(1):127-36, 2000
- 251.** Ridgwell K, Evers SA, Mawby WJ, Anstee DJ, Tanner MJ. Studies on the glycoprotein associated with Rh (rhesus) blood group antigen expression in the human red blood cell membrane. *J. Biol. Chem.* 269:6410-6416, 1994
- 252.** de Vetten MP, Agre P. The Rh polypeptide is a major fatty acid-acylated erythrocyte membrane protein. *J. Biol. Chem.* 263:18193-18196, 1998
- 253.** Hermand P, Mouro I, Huet M, Bloy C, Suyama K, Goldstein J, Cartron JP, Bailly P. Immunochemical characterization of rhesus proteins with antibodies raised against synthetic peptides. *Blood* 82(2):669-676, 1993
- 254.** Chérif-Zahar B, Le Van Kim C, Rouillac C, Raynal V, Cartron J-P, Colin Y. Organization of the gene (RHCE) encoding the human blood group RhCcEe antigens and characterization of the promoter region. *Genomics* 19:68-74, 1994

- 255.** Mouro-Chanteloup I, D'Ambrosio A-M, Gane P, Le Van Kim C, Virginie Raynal, Dhermy D, Cartron J-P, Colin Y. Cell-surface expression of RhD blood group polypeptide is posttranscriptionally regulated by the RhAG glycoprotein *Blood* 100(3):1038-1047, 2002
- 256.** Kajii E, Umenishi F, Iwamoto S, Ikemoto S. Isolation of a new cDNA clone encoding an Rh polypeptide associated with the Rh blood group system. *Hum. Genet.* 91:157-162, 1993
- 257.** Basu MK, Flamm M, Schachter D, Bertles JF, Maniatis A. Effects of modulating erythrocyte membrane cholesterol on Rho(D) antigen expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 95:887-893, 1980
- 258.** Wilson R, Ainscough R, Anderson K, Baynes C, Berks M, Bonfield J, Burto J, Connell M, Copsey T, Cooper J, Coulson A, Craxton M, Dear S, Du Z, Durbin R, Favello A, Fraser A, Fulton L, Gardner A, Green P, Hawkins T, Hillier L, Jier M, Johnston L, Jones M, Kershaw J, Kirsten J, Laisster N, Latreille P, Lightning J, Lloyd C, Mortimore B, O'Callaghan M, Parsons M, Percy C, Rifken L, Roopra A, Saunders D, Shownkeen R, Sims M, Smaldon N, Smith A, Smith M, Sonnhammer E, Staden R, Sulston J, Thierry-mieg J, Thomas K, Vaudin M, Vaughan K, Waterston R, Watson A, Weinstock L, Wilkinson-sproat J, Wohldman P. 2.2 Mb of contiguous nucleotide sequence from chromosome III of *C. elegans*. *Nature* 368:32-38, 1994
- 259.** Seack J, Pancer Z, Muller IM, Muller WE. Molecular cloning and primary structure of a Rhesus (Rh)-like protein from the marine sponge *Geodia cydonium*. *Immunogenetics.* 46:493-498, 1997
- 260.** Huang C-H, Liu Z, Cheng GJ. Molecular biology and genetics of the Rh blood group system. *Semin Hematol.* 37(2):150-165, 2000
- 261.** Liu Z, Peng J, Rong Mo R, Hui C-C, Huang CH. Rh Type B Glycoprotein Is a New Member of the Rh Superfamily and a Putative Ammonia Transporter in Mammals *J. Biol. Chem.* 276(2):1424-1433, 2001
- 262.** Liu Z, Chen Y, Mo R, Hui C-C, Cheng J-F, Mohandas N, Huang C-H. Characterization of human RhCG and mouse Rhcg as novel nonerythroid Rh glycoprotein homologues predominantly expressed in kidney and testis. *J. Biol. Chem.* 275:25641-25651, 2000
- 263.** McKusick VA. The Human Genome Database Project, Johns Hopkins University, Baltimore, MD Online Mendelian Inheritance in Man, 1999
- 264.** Moore S, Green C. The identification of specific Rhesus-polypeptide-blood-group-ABH-active-glycoprotein complexes in the human red-cell membrane. *Biochem J.* 244(3):735-741, 1987
- 265.** Avent ND, Judson PA, Parsons S.F, Mallinson G, Anstee D.J, Tanner MJA, Evans PR, Hodges E, Maciver AG, Holmes C. Monoclonal antibodies that recognize different membrane proteins that are deficient in Rhnull human erythrocytes. One group of antibodies reacts with a variety of cells and tissues whereas the other group is erythroid-specific. *Biochem. J.* 251(2): 499-505, 1988
- 266.** Avent ND, Ridgwell K, Mawby WJ, Tanner MJ, Anstee DJ, Kumpel B. Protein-sequence studies on Rh-related polypeptides suggest the presence of at least two groups of proteins which associate in the human red-cell membrane. *Biochem. J.* 256(3): 1043-1046, 1988
- 267.** Agre P, Cartron J-P. Molecular biology of the Rh antigens. *Blood* 78(3):551-563, 1991
- 268.** Anstee DJ, Tanner MJ. Biochemical aspects of the blood group Rh (rhesus) antigens. *Baillieres Clin. Haematol.* 6:401-422, 1993
- 269.** Hermand P, Gane P Mattei M.G, Sistonen P, Cartron J-P, Bailly P. Molecular basis and expression of the LW(a)/LW(b) blood group polymorphism. *Blood* 86(4):1590-1594, 1995
- 270.** Bailly P, Tontti E, Hermand P, Cartron JP, Gahmberg CG. The red cell LW blood group protein is an intercellular adhesion molecule which binds to CD11/CD18 leukocyte integrins. *Eur. J. Immunol.* 25:3316-3320, 1995
- 271.** Lindberg FP, Gresham HD, Schwarz E, Brown EJ. Molecular cloning of integrin-associated protein: an immunoglobulin family member with

- multiple membrane-spanning domains implicated in alpha v beta 3-dependent ligand binding. *J. Cell. Biol.* 123:485-496, 1993
- 272.** Gao AG, Lindberg FP, Finn MB, Blystone SD, Brown EJ, Frazier WA. Integrin-associated protein is a receptor for the C-terminal domain of thrombospondin. *J. Biol. Chem.* 271(1):21-24, 1996
- 273.** Head DJ, Lee ZE, Swallah MM, Avent ND. Ligation of CD47 mediates phosphatidylserine expression on erythrocytes and a concomitant loss of viability in vitro. *Br. J. Haematol.* 130(5):788-790, 2005
- 274.** Brown E, Hooper L, Ho T, Gresham H. Integrin-associated protein: a 50-kD plasma membrane antigen physically and functionally associated with integrins. *J. Cell. Biol.* 111:2785-2794, 1990
- 275.** Mawby WJ, Holmes CH, Anstee DJ, Spring FA, Tanner MJ. Isolation and characterization of CD47 glycoprotein: a multispreading membrane protein which is the same as integrin-associated protein (IAP) and the ovarian tumour marker OA3. *Biochem. J.* 304:525-530, 1994
- 276.** Lindberg FP, Lublin DM, Telen MJ, Veile RA, Miller YE, Donis-Keller H, Brown EJ. Rh-related antigen CD47 is the signal-transducer integrin-associated protein. *J. Biol. Chem.* 269(3):1567-1570, 1994
- 277.** Reinhold MI, Lindberg FP, Plas D, Reynolds S, Peters MG, Brown EJ. In vivo expression of alternatively spliced forms of integrin-associated protein (CD47). *J. Cell. Sci.* 108:3419-3425, 1995
- 278.** Schwartz MA, Brown EJ, Fazeli B. A 50-kDa integrin-associated protein is required for integrin-regulated calcium entry in endothelial cells. *J. Biol. Chem.* 268:19931-19934, 1993
- 279.** Siebert PD, Fukuda M. Molecular cloning of a human glycophorin B cDNA: nucleotide sequence and genomic relationship to glycophorin A. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 84(19):6735-9. 1987
- 280.** Kudo S, Fukuda M. Structural organization of glycophorin A and B genes: glycophorin B gene evolved by homologous recombination at Alu repeat sequences. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 86(12): 4619-4623, 1989
- 281.** Onda M, Kudo S, Rearden A, Mattei M-G, Fukuda M. Identification of a precursor genomic segment that provided a sequence unique to glycophorin B and E genes. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 90:7220-7224, 1993
- 282.** Dahr W, Beyreuther K, Steinbach H, Gielen W, Krüger J. Structure of the Ss blood group antigens, II: a methionine/threonine polymorphism within the N-terminal sequence of the Ss glycoprotein. *Hoppe Seylers Z Physiol. Chem.* 361(6):895-906, 1980
- 283.** Palacajornsuk P. Review: molecular basis of MNS blood group variants. *Immunohematology.* 22(4):171-182, 2006
- 284.** Chaudhuri A, Polyakova J, Zbrzezna V, Willians K, Gulati S, Pogo AO. Cloning of glycoprotein D cDNA, which encodes the major subunit of the Duffy group system and the receptor for the Plasmodium vivax malaria parasite. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 90:10793-10797, 1993
- 285.** Cavasini CE, de Mattos LC, D'Almeida Couto AAR, D'Almeida Couto YSC, Gollino Y, Moretti LJ, Bonini-Domingos CR, Rossit ARB, Castilho L, Machado RLD. Duffy blood group gene polymorphisms among malaria vivax patients in four areas of the Brazilian Amazon region. *Malar. J.* 6:167, 2007
- 286.** Donahue RP, Bias WB, Renwick JH, McKusick VA. Probable assignment of the Duffy blood group locus to chromosome 1 in man. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 61:949-955, 1968
- 287.** Iwamoto S, Li J, Omi T, Ikemoto S, Kajii E. Identification of a novel exon and spliced form of Duffy mRNA that is the predominant transcript in both erythroid and postcapillary venule endothelium. *Blood* 87(1):378-385, 1996
- 288.** Parasol N, Reid M, Rios M, Castilho L, Harari I, Kosower S. A novel mutation in the coding sequence of the FY*B allele of the Duffy chemokine receptor gene is associate with na altered erythrocyte phenotype. *Blood* 92(7):2237-2243, 1998
- 289.** Jenkins PB, Abou-Alfa GK, Dhermy D, Bursaux E, Féo C, Scarpa AL, Lux SE, Garbarz M, Forget BG, Gallagher PG. A nonsense mutation in

the erythrocyte band 3 gene associated with decreased mRNA accumulation in a kindred with dominant hereditary spherocytosis. *J. Clin. Invest.* 97(2): 373-380, 1996

290. Tanner MJA. The structure and function of band 3 (AE1). Recent developments. *Mol. Membr. Biol.* 14:155-165, 1997

291. Lux SE, John KM, Kopito RR, Lodish HF. Cloning and characterization of band 3, the human erythrocyte anion-exchange protein (AE1). *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 86:9089-9093, 1989

292. Lee D, Contreras M, Robson SC, Rodeck CH, Whittle MJ. Recommendations for the use of anti-D immunoglobulin for Rh prophylaxis. *Transfusion Medicine* 9(1):93-97, 1999

293. Geifman-Holtzman O, Wojtowycz M, Kosmas E, Artal R. Female alloimmunization with antibodies known to cause hemolytic disease. *Obstet. Gynecol.* 89(2):272-275, 1997

294. Coombs RRA, Mourant AE, Race RR. A new test for the detection of weak and incomplete Rh agglutinins. *Br. J. Exp. Pathol.* 26:255-266, 1945

295. Coombs RRA, Mourant AE, Race RR. In vivo isosensitization of red cells in babies with haemolytic disease. *The Lancet* 247(6391):264-266, 1946

296. Levine P, Wigod M, Backer AM, Ponder R. The Kell-Cellano (K-k) genetic system of human blood factors. *Blood* 4(7):869-872, 1949

297. Lee S. Molecular basis of Kell blood group phenotypes. *Vox Sang.* 73:1-11, 1997

298. Moise KJ. Fetal anemia due to non-Rhesus-D red-cell alloimmunization. *Semin. Fetal. Neonat. Med.* 13(4):207-214, 2008

299. Mourant AE. *Blood Relations, Blood Groups and Anthropology.* Oxford University Press, Oxford, UK, 1983

300. Redman CM, Avellino G, Pfeffer SR, Mukherjee TK, Nichols M, Rubinstein P, Marsh WL. Kell blood group antigens are part of a 93,000 Dalton red cell membrane protein. *J. Biol. Chem.* 261:9521-9525, 1986

301. Lee S, Zambas ED, Marsh WL, Redman CM. Molecular cloning and primary structure of Kell blood group protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88(14):6353-6357, 1991

302. Russo D, Lee S, Reid M, Redman CM. Topology of Kell Blood Group Protein and the Expression of Multiple Antigens by Transfected Cells. *Blood* 84(10):3518-3523, 1994

303. Khamlichi S, Bailly P, Blanchard D, Goossens D, Cartron JP, Bertrand O. Purification and partial characterization of the erythrocyte Kx protein deficient in McLeod patients. *Eur. J. Biochem.* 228(3):931-934, 1995

304. Russo D, Redman CM, Lee S. Association of XK and Kell blood group proteins. *J. Biol. Chem.* 273(22):13950-13956, 1998

305. Yu LC, Twu YC, Chang CY, Lin M. Molecular Basis of the Kell-null Phenotype. A mutation at the splice site of human KEL gene abolishes the expression of Kell blood group antigens. *J. Biol. Chem.* 276(13):10247-10252, 2001

306. Koda Y, Soejima M, Tsuneoka M, Yasumoto K, Higashitani T, Sagawa K, Kimura H. Heterozygosity for two novel null alleles of the KEL gene causes the Kell-null phenotype in a Japanese woman. *Br. J. Haematol.* 117(1):220-225, 2002

307. Wester ES, Storry JR, Schneider K, Nilsson Sojka B, Poole J, Olsson ML. Genetic basis of the K(0) phenotype in the Swedish population. *Transfusion* 45(4):545-549, 2005

308. Lin M, Wang CL, Chen FS, Ho LH. Fatal hemolytic transfusion reaction due to anti-Ku in a Knull patient. *Immunohematol.* 19:19-21, 2003

309. Allen FH Jr, Krabbe SM, Corcoran PA. A new phenotype (McLeod) in the Kell blood-group system. *Vox Sang.* 6:555-560, 1961

- 310.** Danek A, Rubio JP, Rampoldi L, Ho M, Dobson-Stone C, Tison F, Symmans WA, Oechsner M, Kalckreuth W, Watt JM, Corbett AJ, Hamdalla HH, Marshall AG, Sutton I, Dotti MT, Malandrini A, Walker RH, Daniels G, Monaco AP. McLeod neuroacanthocytosis: genotype and phenotype. *Ann. Neurol.* 50(6):755-64, 2001
- 311.** Hewer E, Danek A, Schoser BG, Miranda M, Reichard R, Castiglioni C, Oechsner M, Goebel HH, Heppner FL, Jung HH. McLeod myopathy revisited: more neurogenic and less benign. *Brain* 130(12):3285-3296, 2007
- 312.** Wagner T, Berer A, Lanzer G, Geissler K. Kell is not restricted to the erythropoietic lineage but is also expressed on myeloid progenitor cells. *Br. J. Haematol.* 110:409-411, 2000
- 313.** Wagner T, Resch B, Reiterer F, Gassner C, Lanzer G. 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. Pediatr. Hematol. Oncol.* 26:13-15, 2004
- 314.** Lee S, Zambas ED, Marsh WL, Redman CM. The human Kell blood group gene maps to chromosome 7q33 and its expression is restricted to erythroid cells. *Blood* 81(10):2804-2809, 1993
- 315.** Russo D, Wu X, Redman CM, Lee S. Expression of Kell blood group protein in nonerythroid tissues. *Blood* 96(1):340-346, 2000
- 316.** Lee S, Sha Q, Wu X, Galenda G, Peng J. Expression profile of mouse Kell, XK and XPLAC mRNA. *J. Histochem. Cytochem.* 55:365-374, 2007
- 317.** Chu TH, Yazdanbakhsh K, Oyen R, Smart E, Reid ME. Production and characterization of anti-kell monoclonal antibodies using transfected cells as the immunogen. *Br. J. Haematol.* 106(3):817-823, 1999
- 318.** Gilmour JE, Pittman S, Nesbitt R, Scott ML. Effect of the presence or absence of J chain on expression of recombinant anti-Kell immunoglobulin M. *Transfus. Med.* 18(3):167-174, 2008
- 319.** Bowman JM, Harman FA, Manning CR, Pollock JM. Erythroblastosis fetalis produced by anti-k. *Vox Sang.* 56:187-189, 1989
- 320.** de Jonge N, Martens JE, Milani AL, Krijnen JL, van Krimpen C, Ponjee GA. Haemolytic disease of the newborn due to anti-K antibodies. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 67:69-72, 1996
- 321.** Collinet P, Subtil D, Puech F, Vaast P. Successful treatment of extremely severe fetal anemia due to Kell alloimmunization. *Obstet. Gynecol.* 100:1102-1105, 2002
- 322.** Zelinski T, Coghlan G, Myal Y, Shiu RPC, Phillips S, White L, Lewis M: Genetic linkage between the Kell blood group system and prolactin-inducible protein loci: Provisional assignment of KEL to chromosome 7. *Ann. Hum. Genet.* 55(2):137-140, 1991
- 323.** Lee S, Wu X, Reid M, Zelinski T, Redman C. Molecular basis of the Kell (K1) phenotype. *Blood* 85(4):912-916, 1995
- 324.** Daniels G. The molecular genetics of blood group polymorphism. *Transpl. Immunol.* 14(3-4):143-153, 2005
- 325.** Lee S, Wu X, Reid M, Redman C. Molecular basis of the K:6,-7 [Js(a+b-)] phenotype in the Kell blood group system. *Transfusion* 35(10):822-825, 1995
- 326.** Lee S, Wu X, Son S, Naime D, Reid M, Okudo Y, Sistonen P, Redman C. Point mutations characterize KEL10, the KEL3, KEL4, and KEL21 alleles, and the KEL17 and KEL11 alleles. *Transfusion* 36:490-494, 1996
- 327.** Yazdanbakhsh K, Lee S, Yu Q, Reid M. Identification of a Defect in the Intracellular Trafficking of a Kell Blood Group Variant. *Blood* 94(1):310-318, 1999
- 328.** Turner AJ, Tanzawa K. Mammalian membrane metalloproteinases: NEP, ECE, KELL, and PEX. *FASEB J.* 11(5):355-364, 1997
- 329.** Clozel M, Breu V, Burri K, Cassal JM, Fischli W, Gray GA, Hirth G, Loffler BM, Muller M, Neidhart W. Pathophysiological role of

endothelin revealed by the first orally active endothelin receptor antagonist. *Nature* 365:759-761, 1993

330. Emoto N, Yanagisawa M. Endothelin-converting enzyme-2 is a membrane-bound, phosphoramidon-sensitive metalloprotease with acidic pH optimum. *J. Biol. Chem.* 270(25):15262-15268, 1995

331. Lipman ML, Panda D, Bennett HPJ, Henderson JE, Shane E, Shen YN, Goltzman D, Karaplis AC. Cloning of human PEX cDNA. Expression, subcellular localization, and endopeptidase activity. *J. Biol. Chem.* 273(22):13729-13737, 1998

332. Ouimet T, Facchinetti P, Rose C, Bonhomme MC, Gros C, Schwartz JC. Neprilysin II: A putative novel metalloprotease and its isoforms in CNS and testis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 271(3):565-570, 2000

333. Bowe AE, Finnegan R, Jan de Beur SM, Cho J, Levine MA, Kumar R, Schiavi SC. FGF-23 inhibits renal tubular phosphate transport and is a PHEX substrate. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 284:977-981, 2001

334. Ghaddar G, Ruchon AF, Carpentier M, Marcinkiewicz M, Seidah NG, Crine P, Desgroseillers L, Boileau G. Molecular cloning and biochemical characterization of a new mouse testis soluble-zinc-metalloprotease of the neprilysin family. *Biochem. J.* 347(2):419-429, 2000

335. Turner AJ, Brown CD, Carson JA, Barnes K. The neprilysin family in health and disease. *Adv. Exp. Med. Biol.* 477:229-240, 2000

336. Xu D, Emoto N, Giaid A, Slaughter C, Kaw S, deWit D, Yanagisawa M. ECE-1: A membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big endothelin-1. *Cell* 78(3):473-485, 1994

337. Yanagisawa M, Inoue A, Ishikawa T, Kasuya Y, Kimura S, Kumagaye S, Nakajima K, Watanabe TX, Sakakibara S, Goto K. Primary structure, synthesis, and biological activity of rat endothelin, an endothelium-derived vasoconstrictor peptide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85(18):6964-6967, 1988

338. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 332(6163):411-415, 1988

339. Lee S, Lin M, Mele A, Cao Y, Farmar J, Russo D, Redman C. Proteolytic processing of big endothelin-3 by the kell blood group protein. *Blood* 94(4):1440-1450, 1999

340. Κατσάνος Χ, Αβούρης Ν. Στατιστικές μέθοδοι ανάλυσης πειραματικών δεδομένων συνεργασίας. Εκδόσεις Κλειδάριθμος, Αθήνα, 2008

341. Nei, M. Genetic distance between populations. *The American Naturalist.* 106(949):283-291, 1972

342. Cavalli-Sforza LL and Edwards AWF. Phylogenetic Analysis: Models and estimation procedures. *Evolution.* 32 550-570. 1967

343. Reynold J, Weir BS and Cockerham CC. Estimation of the coancestry coefficient: Basis for short-term genetic distance. *Genetics,* 105: 767-769, 1983

344. Kalinowski ST. Evolutionary and statistical properties of three genetic distances *Molecular Ecology.* Blackwell Science, Oxford. 11, 1263-1273, 2002

345. Felsenstein J. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle. 2005

346. Altarayah JA. Διερεύνηση της γενετικής ποικιλομορφίας φυλών προβάτων και αξιολόγηση τους με σκοπό το σχεδιασμό κατάλληλων σχημάτων επιλογής. Διδακτορική διατριβή. Θεσσαλονίκη. 2006

347. Fraser GR, teinberg AG, Defaranas B, MAYO O, Stamatoyannopoulos G, Motulsky AG. Gene Frequencies at Loci Determining Blood-Group and Serum-Protein Polymorphisms in Two Villages of Northwestern Greece. *Am. J. Hum. Genet.* 21(1): 46-60, 1969

348. Constantoulis NC, Padoussis M. The distribution of ABO, MNS and Rh blood groups in Greece. *Vow. Sang.* 3(3):145-154, 1958
349. Swadesh A. ABO blood group in relation to eosinophilia. *Anthropologist.* 8:33-39, 1961
350. Awany AY, Kamel K and Hoerman KC. ABO blood groups and haemoglobin variants among Nubian Egyptians. *UAR amer J Phys. Anthro.* 23:81-82, 1965
351. Vajani, Stime stastiche delle frequenze geniche del sistema ABO e del FaHore RH in popoloazioni di milanesi e di combardi, *Boll 1st Sierater Milano.*40:451-472, 1961
352. Mizan N, Turan and Alptekin, Aytan. The frequencies of ABO blood groups and their distribution according to the geographical regions in Turkey, Ankara. *The Turkish Red Crescent Soc.* 16, 1967
353. Lodhi MAK. A study of blood groups in Multan (West Pakistan). *Medicus, Karachi.* 20(2):53-61, 1960
354. Μυλωνά-Καραγιάννη Χριστίνα. Ομάδες αίματος των ασιγγανών της Ελλάδος. Διδακτορική διατριβή. Αθήνα. 1979
355. Mohallatee EA and Haghshenas M. Frequency and distribution of ABO and Rho(d) blood groups in Shiraz Israel *J Med Sci.* 5:1081-1082, 1969
356. Luettringhaus TA, Cho D, Ryang DW, Flegel WA. An easy RHD genotyping strategy for D- East Asian persons applied to Korean blood donors. *Transfusion* 46:2128-2137, 2006
357. Canatan D, Acar N, Kilic B. Rh Subgroups and Kell Antigens in Patients With Thalassemia and in Donors in Turkey. *Tr. J. of Medical Sciences.* 29:155-157, 1999
358. Allen FH Jr, Krabbe SM, Corcoran PA. A new phenotype (McLeod) in the Kell blood-group system. *Vox Sang.* 6:555-60, 1961
359. Cartron JP, Bailly P, Le Van Kim C, Cherif-Zahar B, Matassi G, Bertrand O, Colin Y. Insights into the structure and function of membrane polypeptides carrying blood group antigens. *Vox Sang.* 74(S2):29-64, 1998
360. Cartron JP. Molecular basis of red cell protein antigen deficiencies. *Vox Sang.* 78(2):7-23, 2000
361. Garratty G. Relationship of blood groups to disease: do blood group antigens have a biological role? *Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Soc.* 43(1):113-121, 2005
362. O'Neil D. Distribution of Blood Types. Behavioral Sciences Department, Palomar College, San Marcos, California. Copyright© 1998-2008
Διαθέσιμο: <http://anthro.palomar.edu/vary/Default.htm>
363. Qun X, Jianye Z, Qinyou W, Shixun Z, Guiling SI. RHD gene polymorphism among RhD-negative Han Chinese. *Chinese Medical Journal* 116(10):1539-1543, 2003

9.1. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1.

A. Διαθέσιμο: <http://www.bumc.du.edu> Boston university medical campus William Harvey. 'Exercitatio Anatomia de Motu Cordis et Sanguinis in Animalibus', 1628,

Διαθέσιμο:

http://www.bartsandthelondon.nhs.uk/aboutus/history/main.asp?ht_id=1

B. Διαθέσιμο:

<http://home.netcom.com/~jskipper/victoria/vg199910.html#review>

Blundell J: "Experiments on the Transfusion of Blood by the Syringe," *MEDICOCHIR TRANS* 9:56-92, 1818.

Διαθέσιμο:

http://www.pbs.org/wnet/redgold/innovators/bio_blundell.html

Εικόνα 2.

Διαθέσιμο:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/map_search.cgi?taxid=9606&query=

Εικόνα 3.

Διαθέσιμο:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/map_search.cgi?taxid=9606&query=

Εικόνα 4.

Helmus Y, Denecke J, Yakubenia S, Robinson P, Luhn K, Watson DL, McGrogan PJ, Vestweber D, Marquardt T and Wild MK. Leukocyte adhesion deficiency II patients with a dual defect of the GDP-fucose transporter. *Blood* 107(10):3959 - 3966, 2006

Εικόνα 5.

Avent ND, Madgett TE, Lee ZE, Head DJ, Maddocks DG, Skinner LH. Molecular biology of Rh proteins and relevance to molecular medicine. *Expert. Rev. Mol. Med.* 8(13):1-20, 2006

Εικόνα 6.

A. Chang JG, Wang JC, Yang TY, Tsan KW, Shih MC, Peng CT, Tsai CH. Human RhDel is caused by a deletion of 1,013 bp between introns 8 and 9 including exon 9 of RHD gene. *Blood* 92(7):2602-2604, 1998

Wagner FF, Gassner C, Müller TH, Schönitzer D, Schunter F, Flegel WA: Molecular basis of weak D phenotypes. *Blood* 93(1):385-393, 1999

B. Avent ND, Madgett TE, Lee ZE, Head DJ, Maddocks DG, Skinner LH. Molecular biology of Rh proteins and relevance to molecular medicine. *Expert. Rev. Mol. Med.* 8(13):1-20, 2006

Εικόνα 7.

Chang JG, Wang JC, Yang TY, Tsan KW, Shih MC, Peng CT, Tsai CH. Human RhDel is caused by a deletion of 1,013 bp between introns 8 and 9 including exon 9 of RHD gene. *Blood* 92(7):2602-2604, 1998

Εικόνα 8.

Lupo D, Li XD, Durand A, Tomizaki T, Cherif-Zahar B, Matassi G, Merrick M, Winkler FK. The 1.3Å resolution structure of Nitrosomonas europaea Rh50 and mechanistic implications for NH₃ transport by Rhesus family proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104(49):19303-19308, 2007

Εικόνα 9.

Ballas SK, Clark MR, Mohandas N, Colfer HF, Caswell MS, Bergren MO, Perkins HA, Shohet SB. Red cell membrane and cation deficiency in Rh null syndrome. *Blood* 63(5):1046-1055, 1984

Εικόνα 10.

Διαθέσιμο:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/map_search.cgi?taxid=9606&query=

Εικόνα 11.

Liu Z, Chen Y, Mo R, Hui C-C, Cheng J-F, Mohandas N, Huang C-H. Characterization of human RhCG and mouse Rhcg as novel nonerythroid Rh glycoprotein homologues predominantly expressed in kidney and testis. *J. Biol. Chem.* 275:25641-25651, 2000.

Εικόνα 12.

Liu Z, Peng J, Rong Mo R, Hui C-C, Huang C-H. Rh Type B Glycoprotein Is a New Member of the Rh Superfamily and a Putative Ammonia Transporter in Mammals *J. Biol. Chem.* 276(2):1424-1433, 2001

Εικόνα 13.

Liu Z, Chen Y, Mo R, Hui C-C, Cheng J-F, Mohandas N, Huang C-H. Characterization of human RhCG and mouse Rhcg as novel nonerythroid Rh glycoprotein homologues predominantly expressed in kidney and testis. *J. Biol. Chem.* 275:25641-25651, 2000

Εικόνα 14.

Liu Z, Chen Y, Mo R, Hui C-C, Cheng J-F, Mohandas N, Huang C-H. Characterization of human RhCG and mouse Rhcg as novel nonerythroid Rh glycoprotein homologues predominantly expressed in kidney and testis. *J. Biol. Chem.* 275:25641-25651, 2000

Εικόνα 15.

Διαθέσιμο:<http://coursel.winona.edu/sberg/308s01/Lec-note/chap7.htm>

Εικόνα 16.

Miranda CM, Castiglioni TC, Regonesi LC, Aravena AP, Villagra ML, Quiroz MA, Merino GR, Mena GI. McLeod syndrome: Multisystem involvement associated with neuroacanthocytosis linked to X chromosome. Report of two related cases. Rev. Méd. Chil. 134(11):1436-1442, 2006

Εικόνα 17.

A. Wada M, Kimura M, Daimon M, Kurita K, Kato, Johmura Y, Johkura K, Kuroiwa Y, Sobue G. An unusual phenotype of McLeod syndrome with late onset axonal neuropathy. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. 74:1697-1698, 2003

B. Barnett MH, Yang F, Iland H, Pollard JD. Unusual muscle pathology in McLeod syndrome. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. 69:655-657, 2000

Danek A, Rubio JP, Rampoldi L, Ho M, Dobson-Stone C, Tison F, Symmans WA, Oechsner M, Kalckreuth W, Watt JM, Corbett AJ, Hamdalla HH, Marshall AG, Sutton I, Dotti MT, Malandrini A, Walker RH, Daniels G, Monaco AP. McLeod neuroacanthocytosis: genotype and phenotype. Ann. Neurol. 50(6):755-64, 2001

Mohandas N, Narla A. Blood group antigens in health and disease. Curr. Opin. Hematol. 12:135-140, 2005

Hewer E, Danek A, Schoser BFG, Miranda M, Reichard R, Castiglioni C, Oechsner M, Goebel HH, Heppner FL, Jung HH. McLeod myopathy revisited: more neurogenic and less benign. Brain 130(12):3285 -3296, 2007

Εικόνα 18.

Διαθέσιμο:

[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/map_search.cgi?taxid=9606& query=](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/map_search.cgi?taxid=9606&query=)

9.2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1.

Διαθέσιμο: <http://ghr.nlm.nih.gov/handbook/illustrations/autodominant>

Σχήμα 2.

D'Adamo P. The Individualist, 2006

Διαθέσιμο: <http://www.dadamo.com/wiki/wiki.pl/>

Σχήμα 3.

Διαθέσιμο:<http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/gpes-sanguins/01antigenes.htm>

Σχήμα 4.

Διαθέσιμο:

http://en.wikipedia.org/?title=Blood_type#Rhesus_blood_group_system

Σχήμα 5.

Διαθέσιμο:

http://en.wikipedia.org/?title=Blood_type#ABO_blood_group_system

Σχήμα 6.

Διαθέσιμο:<http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/gpes-sanguins/01antigenes.htm>

Σχήμα 7.

Διαθέσιμο: <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Bombay.svg>

Σχήμα 8.

Marquardt T, Lühn K, Srikrishna G, Freeze HH, Harms E, Vestweber D. Correction of leukocyte adhesion deficiency type II with oral fucose. Blood 94(12):3976-3985, 1999

Σχήμα 9.

Mouro I, Colin Y, Chérif-Zahar B, Cartron J-P, Le Van Kim C. Molecular genetic basis of the human Rhesus blood group system. Nature Genet. 5:62-65, 1993

Simsek S, de Jong CA, Cuijpers HT, Bleeker PM, Westers TM, Overbeeke MA, Goldschmeding R, van der Schoot CE, von dem Borne AE. Sequence

analysis of cDNA derived from reticulocyte mRNAs coding for Rh polypeptides and demonstration of of E/e and C/c polymorphisms. Vox Sang. 67:203-209, 1994

Σχήμα 10.

Wagner FF, Flegel WA. Review: the molecular basis of the Rh blood group phenotypes. Immunohematology 20(1):23-36, 2004

Σχήμα 11.

Avent ND, Madgett TE, Lee ZE, Head DJ, Maddocks DG, Skinner LH. Molecular biology of Rh proteins and relevance to molecular medicine. Expert Rev. Mol. Med. 8(13):1-20, 2006

Σχήμα 12.

Wagner FF, Flegel WA. Review: the molecular basis of the Rh blood group phenotypes. Immunohematology 20(1):23-36, 2004

Σχήμα 13.

Wagner FF, Gassner C, Müller TH, Schönitzer D, Schunter F, Flegel WA. Molecular basis of weak D phenotypes. Blood 93(1):385-393, 1999

Σχήμα 14.

Avent ND, Reid ME. The Rh blood group system: a review. Blood 95(2):375-387, 2000

- παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις =
G279E

Huang CH, Liu Z, Cheng GJ, Chen Y. Rh50 glycoprotein gene and Rnull disease: a silent splice donor is trans to a Gly279->Glu missense mutation in the conserved transmembrane segment. Blood 92(5):1776-1784, 1998

Hyland CA, Chérif-Zahar B, Cowley N, Raynal V, Parkes J, Saul A, Cartron JP. A Novel single missense mutation identified along the RH50 gene in a composite heterozygous Rnull blood donor of the regulator type. Blood 91(4):1458-1463, 1998

- G280R, G380V και V270I

Huang CH, Cheng G, Liu Z, Chen Y, Reid ME, Halverson G, Okubo Y. Molecular basis for Rh(null) syndrome: identification of three new missense mutations in the Rh50 glycoprotein gene. Am .J. Hematol. 62(1):25-32, 1999

- περιοχές ματίσματος =
G→A

Huang C-H, Liu Z, Cheng GJ, Chen Y. Rh50 glycoprotein gene and Rnull disease: a silent splice donor is trans to a Gly279->Glu missense mutation in the conserved transmembrane segment. Blood 92(5):1776-1784, 1998

Hyland CA, Chérif-Zahar B, Cowley N, Raynal V, Parkes J, Saul A, Cartron JP. A Novel single missense mutation identified along the RH50 gene in a composite heterozygous Rnull blood donor of the regulator type. Blood 91(4):1458-1463, 1998

- V316

Huang C-H. The human Rh50 glycoprotein gene - structural organization and associated splicing defect resulting in Rnull disease. J. Biol. Chem. 273:2207-2213, 1998

- μετατόπιση πλαισίου ανάγνωσης = P52

Chérif-Zahar B, Matassi G, Raynal V, Gane P, Mempel W, Perez C, Cartron JP. Molecular Defects of the RHCE Gene in Rh-Deficient Individuals of the Amorph Type. Blood 92(2):639-646, 1998α
Y(51)

Chérif-Zahar B, Raynal V, Gane P, Mattei MG, Bailly P, Gibbs B, Colin Y, Cartron JP. Candidate gene acting as a suppressor of the RH locus in most cases of Rh-deficiency. Nat. Genet. 12:168-173, 1996

- διαγραφή ενός νουκλεοτιδίου και μετατόπιση πλαισίου ανάγνωσης = A382

Chérif-Zahar B, Raynal V, Gane P, Mattei MG, Bailly P, Gibbs B, Colin Y, Cartron JP. Candidate gene acting as a suppressor of the RH locus in most cases of Rh-deficiency. Nat. Genet. 12:168-173, 1996

Σχήμα 15.

- Avent ND, Reid ME. The Rh blood group system: a review. *Blood* 95(2):375-387, 2000
- ATG[Met] →ATT[Ile]
- Huang C-H, Cheng CJ, Reid ME, Chen Y. Rhmod syndrome: a family study of the translation-initiator mutation in the Rh50 glycoprotein gene. *Am. J. Human Genet.* 64:108-117, 1999
- S79N
- Chérif-Zahar B, Raynal V, Gane P, Mattei MG, Bailly P, Gibbs B, Colin Y, Cartron JP. Candidate gene acting as a suppressor of the RH locus in most cases of Rh-deficiency. *Nat. Genet.* 12:168-173, 1996
- Hyland CA, Chérif-Zahar B, Cowley N, Raynal V, Parkes J, Saul A, Cartron JP. A Novel single missense mutation identified along the RH50 gene in a composite heterozygous Rhnull blood donor of the regulator type. *Blood* 91(4):1458-1463, 1998
- Σχήμα 16.**
Heitman J, Agre P. A new face of the Rhesus antigen. *Nature Genetics* 26:258-259, 2000
- Σχήμα 17.**
Avent ND. New Insight in the Rh system: Structure and Function. ISBT Madrid 2007
Special Issue: XVIIth Regional Congress of the ISBT, Europe, June 23-27, 2007
ISBT Science Series. 2(1):35-43, 2007
Διαθέσιμο:
<http://www.aventbiomed.co.uk/Avent%20SFTS%20Tours%202007.pdf>
- Σχήμα 18.**
Khademi S, O'Connell J3rd, Remis J, Robles-Colmenares Y, Miercke LJ, Stroud RM. Mechanism of ammonia transport by Amt/MEP/Rh: structure of AmtB at 1.35Å. *Science* 305(5690):1573-1574, 2004
- Σχήμα 19.**
Javelle A, Thomas G, Marini AM, Kramer R, Merrick M. In vivo functional characterization of the Escherichia coli ammonium channel AmtB: evidence for metabolic coupling of AmtB to glutamine synthetase. *Biochem. J.* 390:215-222, 2005
- Σχήμα 20.**
Avent ND, Madgett TE, Lee ZE, Head DJ, Maddocks DG, Skinner LH. Molecular biology of Rh proteins and relevance to molecular medicine. *Expert. Rev. Mol. Med.* 8(13):1-20, 2006
- Σχήμα 21.**
Andrade SL, Dickmanns A, Ficner R, Einsle O. Crystal structure of the archaeal ammonium transporter Amt-1 from *Archaeoglobus fulgidus*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 102:14994-14999, 2005
- Σχήμα 22.**
Σπανός ΘΑ. Αιμοδοσία II, Στοιχεία Αιματολογίας-Αιμοθεραπείας. Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδης, 2001
Μεσσήνης ΙΕ. Επίτομη Μαιευτική & Γυναικολογία. MD communications, 2005
- Σχήμα 23.**
Wagner FF, Flegel WA. RHD gene deletion occurred in the Rhesus box. *Blood* 95(12):3662-3668, 2000
- Σχήμα 24.**
Flegel WA. The Genetics of the Rhesus Blood Group System. *Dtsch Arztebl.* 104(10):A651-657, 2007
- Σχήμα 25.**
Flegel WA. The Genetics of the Rhesus Blood Group System. *Dtsch Arztebl.* 104(10):A651-657, 2007
- Σχήμα 26.**
Avent ND, Liu W, Warner KM, Mawby WJ, Jones JW, Ridgwell K, Tanner KJA. Immunochemical analysis of the human erythrocyte Rh polypeptides. *J. Biol. Chem.* 271:14233-14239, 1996
- Avent ND, Reid ME. The Rh blood group system: a review. *Blood* 95(2):375-387, 2000
- Σχήμα 27.**

Avent ND, Ridgwell K, Tanner MJA, Anstee DJ. cDNA cloning of a 30 kDa erythrocyte membrane protein associated with Rh (Rhesus)-blood-group-antigen expression. *Biochem. J.* 271:821-825, 1990

Eyers SA, Ridgwell K, Mawby WJ, Tanner MJ. Topology and organization of human Rh (rhesus) blood group-related polypeptides. *J. Biol. Chem.* 269:6417-6423, 1994

Avent ND, Liu W, Warner KM, Mawby WJ, Jones JW, Ridgwell K, Tanner KJA. Immunochemical analysis of the human erythrocyte Rh polypeptides. *J. Biol. Chem.* 271:14233-14239, 1996

Avent ND, Reid ME. The Rh blood group system: a review. *Blood* 95(2):375-387, 2000

Σχήμα 28.

Liu Z, Chen Y, Mo R, Hui C-C, Cheng J-F, Mohandas N, Huang C-H. Characterization of human RhCG and mouse Rhcg as novel nonerythroid Rh glycoprotein homologues predominantly expressed in kidney and testis. *J. Biol. Chem.* 275:25641-25651, 2000

Σχήμα 29.

Eyers SA, Ridgwell K, Mawby WJ, Tanner MJ. Topology and organization of human Rh (rhesus) blood group-related polypeptides. *J. Biol. Chem.* 269:6417-6423, 1994

Σχήμα 30.

Avent ND. New Insight in the Rh system: Structure and Function. ISBT Madrid 2007

Special Issue: XVIIth Regional Congress of the ISBT, Europe, June 23-27, 2007

ISBT Science Series. 2(1):35-43, 2007

Διαθέσιμο:

<http://www.aventbiomed.co.uk/Avent%20SFTS%20Tours%202007.pdf>

Σχήμα 31.

Head DJ, Lee ZE, Swallah MM, Avent ND. Ligation of CD47 mediates phosphatidylserine expression on erythrocytes and a concomitant loss of viability in vitro. *Br. J. Haematol.* 130(5):788-790, 2005

Avent ND. Mass-scale blood group genotyping. SFTS. 2007

Διαθέσιμο:

<http://www.aventbiomed.co.uk/Avent%20SFTS%20Tours%202007.pdf>

Σχήμα 32.

Διαθέσιμο: http://science.uwe.ac.uk/StaffPages/NA/duffy_homepage.htm

Collins A, Keats BJ, Dracopoli N, Shields DC, Morton NE. Integration of gene maps: chromosome 1. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 89:4598-4602, 1992

Chaudhuri A, Polyakova J, Zbrzezna V, Williams K, Gulati S, Pogo AO. Cloning of glycoprotein D cDNA, which encodes the major subunit of the Duffy group system and the receptor for the Plasmodium vivax malaria parasite. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 90:10793-10797, 1993

Σχήμα 33.

Avent ND, Madgett TE, Lee ZE, Head DJ, Maddocks DG and Skinner LH. Molecular biology of Rh proteins and relevance to molecular medicine. *Expert. Rev. Mol. Med.* 8(13):1-20, 2006

Σχήμα 34.

Russo D, Redman C, Lee S. Association of XK and Kell blood group proteins. *J. Biol. Chem.* 273(22):13950-13956, 1998

Σχήμα 35.

Yu LC, Twu YC, Chang CY, Lin M. Molecular Basis of the Kell-null Phenotype. A mutation at the splice site of human KEL gene abolishes the expression of Kell blood group antigens. *J. Biol. Chem.* 276(13):10247-10252, 2001

Σχήμα 36.

Lee S, Wu X, Reid M, Zelinski T, Redman C. Molecular basis of the Kell (K1) phenotype. *Blood* 85(4):912-916, 1995

Σχήμα 37.

Lee S, Lin M, Mele A, Cao Y, Farmar J, Russo D, Redman C. Proteolytic processing of big endothelin-3 by the kell blood group protein. *Blood* 94(4):1440-1450, 1999

9.3. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.

Storry JR. Review: the function of blood group-specific RBC membrane components

Immunohematology 20(4):206-216, 2004

Πίνακας 2.

- Your blood - a textbook about blood and blood donation (PDF) 63.

Διαθέσιμο:

http://www.bloddonor.dk/fileadmin/Fil_Arkiv/PDF_filer/Andre/Your_Blood_

- Austrian Red Cross - Blood Donor Information

Διαθέσιμο: http://old.rotekreuz.at/47_body.html#blutgruppen

- Blood Types - What Are They?, Australian Red Cross

Διαθέσιμο: <http://www.giveblood.redcross.org.au/page.aspx?IDDataTreeMenu=42&parent=30>

- Rode Kruis Wielsbeke - Blood Donor information material

Διαθέσιμο: <http://www.rodekruiswielsbeke.be/infobloed.html>

- Types & Rh System, Canadian Blood Services

Διαθέσιμο:

http://www.bloodservices.ca/CentreApps/Internet/UW_V502_MainEngine.nsf/page/Blood%20Types%20and%20Rh%20System?OpenDocument

- Frequency of major blood groups in the Danish population

Διαθέσιμο: <http://www.bloddonor.dk/index.php?id=513>

- Suomalaisten veriryhmäjakama

Διαθέσιμο: <http://www.veripalvelu.fi/asp/system/empty.asp?P=1275&VID=default&SID=871482118115180&S=1&C=25745>

- Les groupes sanguins (système ABO) (French). Centre Hospitalier Princesse GRACE -Monaco. C.H.P.G. MONACO (2005).

Διαθέσιμο: http://www.chpg.mc/go/article.php?id_article=111

- de:Blutgruppe#Häufigkeit der Blutgruppen

Διαθέσιμο: http://de.wikipedia.org/wiki/Blutgruppe#H.C3.A4ufigkeit_der_Blutgruppen

- Blood Donation, Hong Kong Red Cross

Διαθέσιμο: http://www5.ha.org.hk/RCBTS/e_donation.html

- Irish Blood Transfusion Service : Share Life, Donate Blood

Διαθέσιμο: <http://www.ibts.ie/generic.cfm?mID=7&sID=102>

- Statistics on annual blood donations 2002-2007, Gyung Nam Blood Center

Διαθέσιμο: http://www.gnbc.or.kr/sub01_07_03.html

- Blood bank Sanquin - Blood Donor information material

Διαθέσιμο: http://www.sanquin.nl/sanquin-nl/sqn_home_nl.nsf

- Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa we Wrocławiu.

Διαθέσιμο: <http://rckik.wroclaw.pl/?id=5&go=0>

- Frequency of major blood groups in the Swedish population

Διαθέσιμο: <http://www.geblod.nu/general.aspx?PageId=10>

- Frequency of major blood groups in the UK

Διαθέσιμο: http://www.blood.co.uk/pages/all_about.html

- Blood Types in the U.S.

Διαθέσιμο:

http://bloodcenter.stanford.edu/about_blood/blood_types.html

- From Wikipedia, the free encyclopedia

Διαθέσιμο: http://en.wikipedia.org/?title=Blood_type#ABO_blood_group_system

- A Contribution to the Physical Anthropology and Population Genetics. L. Beckman

Διαθέσιμο: <http://www.bloodbook.com/world-abo.html#Danes>

- Μυλωνά-Καραγιάννη Χριστίνα. Ομάδες αίματος των ασιγγανών της Ελλάδος.

Διαθέσιμο:

<http://thesis.ekt.gr/thesisBookReader/id/8125#page/1/mode/lup>

- Constantoulis NC, Padoussis M. The distribution of ABO, MNS and Rh blood groups in Greece. Vow. Sang. 3(3):145-154, 1958

- Beckman L. ABO blood types. Reporter racial & ethnic distribution. Legal & Copyright© 2000-2008

Διαθέσιμο: <http://www.bloodbook.com/world-abo.html>

Πίνακας 3.

The University of Utah, Genetic Science Learning Center, ©2008

Διαθέσιμο:

<http://learn.genetics.utah.edu/content/begin/traits/blood/types.html>

Πίνακας 4.

Wagner FF, Flegel WA. Review: the molecular basis of the Rh blood group phenotypes. *Immunohematology* 20(1):23-36, 2004

Πίνακας 5.

Reid ME, Lomas-Francis C. The Blood Group Antigen Facts Book. New York: Elsevier Academic Press, Second ed. 2004

Dean L. Blood Groups and Red Cell Antigens. National Library of Medicine (US), NCBI, 2005

Διαθέσιμο: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=Books>

Πίνακας 6.

Διαθέσιμο: <http://waynesword.palomar.edu/aniblood.htm>

Πίνακας 7.

Wagner FF, Flegel WA. Review: the molecular basis of the Rh blood group phenotypes. *Immunohematology* 20(1):23-36, 2004

DC^w - (AM)

Huang C-H. Alteration of *RH* gene structure and expression in human dCCee and DC^w- red blood cells: phenotypic homozygosity versus genotypic heterozygosity. *Blood* 88(6):2326-2333, 1996

DC^w - (Glo)

Noizat-Pirenne F, Mouro I, Gane P, Aubin JT, Rouger P, Le Pennec PY, Colin Y, Cartron JP. Molecular analysis of selected Rh variants. *Transfus. Clin. Biol.* 3:517-519, 1996

D- - (LM)

Chérif-Zahar B, Raynal V, Cartron JP. Lack of RHCE-encoded proteins in the D- phenotype may result from homologous recombination between the two *RH* genes. *Blood* 88(4):1518-1520, 1996

D- - (Gou)

Chérif-Zahar B, Raynal V, Cartron JP. Lack of RHCE-encoded proteins in the D- phenotype may result from homologous recombination between the two *RH* genes. *Blood* 88(4):1518-1520, 1996

D- - (SH)

Kemp TJ, Poulter M, Carritt B. A recombination hot spot in the Rh genes revealed by analysis of unrelated donors with the rare D- phenotype. *Am. J. Hum. Genet.* 59:1066-1073, 1996

D- - and Evans+ D•• (JD)

Cheng G-J, Chen Y, Reid ME, Huang C-H. Evans antigen: a new hybrid structure occurring on background of D•• and D- Rh complexes. *Vox Sang.* 78(1):44-51, 2000

Evans+ D•• (AT)

Huang CH, Chen Y, Reid M, Ghosh S. Genetic recombination at the human *RH* locus: a family study of the red cell-Evans phenotype reveals a transfer of exons 2-6 from the *RHD* to the *RHCE* gene. *Am. J. Hum. Genet.* 59:825-833, 1996

Evans+ D•• (Dav)

Chérif-Zahar B, Raynal V, Cartron JP. Lack of RHCE-encoded proteins in the D- phenotype may result from homologous recombination between the two *RH* genes. *Blood* 88(4):1518-1520, 1996

Dc- (Bol)

Chérif-Zahar B, Raynal V, Cartron JP. Lack of RHCE-encoded proteins in the D- phenotype may result from homologous recombination between the two *RH* genes. *Blood* 88(4):1518-1520, 1996

Dc- (LZ)

Huang CH, Liu PZ, Cheng JG. Molecular biology and genetics of the Rh blood group system. *Semin. Hematol.* 37(2):150-65, 2000

Ce

Avent ND, Martin PG, Armstrong-Fisher SS, W Liu W, Finning KM, Maddocks D, Urbaniak SJ. Evidence of genetic diversity underlying Rh D-, weak D (Du), and partial D phenotypes as determined by multiplex polymerase chain reaction analysis of the RHD gene. *Blood* 89(7):2568-2577, 1997

Okuda H, Kawano M, Iwamoto S, Tanaka M, Seno T, Okubo Y, Kajii E. The RHD gene is highly detectable in RhD-negative Japanese donors. *J. Clin. Invest.*100:373-379, 1997

Andrews KT, Wolter LC, Saul A, Hyland CA. The RhD-trait in a white patient with the RhCCee phenotype attributed to a four-nucleotide deletion in the RHD gene. *Blood* 92(5):1839-1840, 1998

r"^G (SF)

Faas BHW, Beckers EAM, Simsek S, Overbeeke MA, Pepper R, van Rhenen DJ, von dem Borne AE, van der Schoot CE. Involvement of Ser103 of the Rh polypeptides in G epitope formation. *Transfusion* 36:506-511, 1996

Maaskant-van Wijk PA, Faas BH, de Ruijter JA, Overbeeke MA, von dem Borne AE, van Rhenen DJ, van der Schoot CE. Genotyping of RHD by multiplex polymerase chain reaction analysis of six RHD-specific exons. *Transfusion* 38:1015-1021, 1998

(Ce)Ce

Huang C-H. Alteration of RH gene structure and expression in human dCCee and DC^w- red blood cells: phenotypic homozygosity versus genotypic heterozygosity. *Blood* 88(6):2326-2333, 1996

(C)ce^s VS+ (Donor 1077) V-r'^s

Blunt T, Daniels G, Carritt B. Serotype switching in a partially deleted RHD gene. *Vox Sang.* 67:397-401, 1994

Faas BHW, Beckers EAM, Wildoer P, Ligthart PC, Overbeeke MA, Zondervan HA, von dem Borne AE, van der Schoot CE. Molecular background of VS and weak C expression in blacks. *Transfusion* 37:38-44, 1997

Daniels GL, Faas BHW, Green CA, Smart E, Maaskant-van Wijk PA, Avent ND, Zondervan HA, von dem Borne AE, van der Schoot CE. The VS and V blood group polymorphisms in Africans: a serological and molecular analysis. *Transfusion* 38:951-958, 1998

Amorph Rh_{null} (BK/DR)

Huang CH, Chen Y, Reid ME, Seidl C. Rh_{null} disease: the amorph type results from a novel double mutation in RhCe gene on D-negative background. *Blood* 92(2):664-671, 1988

Chérif-Zahar B, Matassi G, Raynal V, Gane P, Mempel W, Perez C, Cartron J-P. Molecular defects of the RHCE gene in Rh-deficient individuals of the amorph type. *Blood* 92(2):639-646, 1998

Amorph Rh_{null} (DAA)

Chérif-Zahar B, Matassi G, Raynal V, Gane P, Delaunay J, Arrizabalaga B, Cartron J-P. Rh-deficiency of the regulator type caused by splicing mutations in the human RH50 gene. *Blood* 92(7):2535-2540, 1998

CML

Chérif-Zahar B, Bony V, Steffensen R, Gane P, Raynal V, Goosens D, Laursen JS, Varming K, Jersild C, Cartron JP. Shift from Rh-positive to Rh-negative phenotype caused by a somatic mutation within the RHD gene in a patient with chronic myelocytic leukaemia. *Br. J. Haematol.* 102:1263-1270, 1998

Πίνακας 8.

Singleton BK, Green CA, Avent ND, Martin PG, Smart E, Daka A, Olaga EG, Hawthorne LM, Daniels G. The presence of an RHD pseudogene containing a 37 bp duplication and a nonsense mutation is present in most Africans with the Rh D-negative blood group phenotype. *Blood* 95(1):12-18, 2000

Πίνακας 9.

Wagner FF, Flegel WA. Review: the molecular basis of the Rh blood group phenotypes. *Immunohematology* 20(1):23-36, 2004

Πίνακας 10.

Flegel WA. Weak D types by number. The Rhesus Site. DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg-Hessen. 1998-2009
Διαθέσιμο: <http://www.uni-ulm.de/~fwagner/RH/RB/>

Πίνακας 11.

Wagner FF, Flegel WA. Review: the molecular basis of the Rh blood group phenotypes. *Immunohematology* 20(1):23-36, 2004

Πίνακας 12.

Wagner FF, Ernst M, Sonneborn HH, Flegel WA. A D(V)-like phenotype is obliterated by A226P in the partial D DBS. *Transfusion* 41:1052-1058, 2001

DIVb type II

Rouillac C, Colin Y, Hughes-Jones NC, Beolet M, D'Ambrosio AM, Cartron JP, Le Van Kim C. Transcript analysis of D category phenotypes predicts hybrid Rh D-CE-D proteins associated with alteration of D epitopes. *Blood* 85(10):2937-2944, 1995

DIVb type III

Wagner FF, Gassner C, Müller TH, Schönitzer D, Schunter F, Flegel WA. Molecular basis of weak D phenotypes. *Blood* 93(1):385-393, 1999

DIVb type IV

Wagner FF, Gassner C, Eicher N, Lonicer C, Flegel WA. Characterization of D category IV type IV, DFW, and DNB. *Transfusion* 38:63S, 1998

DVa type I

Rouillac C, Colin Y, Hughes-Jones NC, Beolet M, D'Ambrosio AM, Cartron JP, Le Van Kim C. Transcript analysis of D category phenotypes predicts hybrid Rh D-CE-D proteins associated with alteration of D epitopes. *Blood* 85(10):2937-2944, 1995

DVa type II

Rouillac C, Colin Y, Hughes-Jones NC, Beolet M, D'Ambrosio AM, Cartron JP, Le Van Kim C. Transcript analysis of D category phenotypes predicts hybrid Rh D-CE-D proteins associated with alteration of D epitopes. *Blood* 85(10):2937-2944, 1995

DV type III

Avent ND, Finning KM, Liu W, Scott ML. Molecular biology of partial D phenotypes. *Transfus. Clin. Biol.* 3:511-516, 1996

DVa type IV

Omi T, Takahashi J, Tsudo N, Okuda H, Iwamoto S, Tanaka M, Seno T, Tani Y, Kajii E. The genomic organization of the partial D category DVa: the presence of a new partial D associated with the DVa phenotype. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 254:786-794, 1999

DV type V

Omi T, Takahashi J, Tsudo N, Okuda H, Iwamoto S, Tanaka M, Seno T, Tani Y, Kajii E. The genomic organization of the partial D category DVa: the presence of a new partial D associated with the DVa phenotype. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 254:786-794, 1999

DV type VI

Omi T, Takahashi J, Tsudo N, Okuda H, Iwamoto S, Tanaka M, Seno T, Tani Y, Kajii E. The genomic organization of the partial D category DVa: the presence of a new partial D associated with the DVa phenotype. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 254:786-794, 1999

DVI type I

Avent ND, Liu W, Jones JW, Scott ML, Voak D, Pisacka M, Watt J, Fletcher A. Molecular analysis of Rh transcripts and polypeptides from individuals expressing the D^{VI} variant phenotype: an *RHD* gene deletion event does not generate all D^{VI}ccEe phenotypes. *Blood* 89(5):1779-1786, 1997

Huang C-H. Human DVI category erythrocytes: correlation of the phenotype with a novel hybrid RhD-CE-D gene but not an internally deleted RhD gene. *Blood* 89(5):1834-1835, 1997

DVI type II

Mouro I, Le Van Kim C, Rouillac C, van Rhenen DJ, Le Pennec PY, Bailly P, Cartron JP, Colin Y. Rearrangements of the blood group RhD

gene associated with the DVI category phenotype. Blood 83(4):1129-1135, 1994

DVI type III

Wagner FF, Gassner C, Müller TH, Schönitzer D, Schunther F, Flegel WA. Three molecular structures cause rhesus D category VI phenotypes with distinct immunohematological features. Blood 91(6):2157-2168, 1998

DFR type I

Rouillac C, Colin Y, Hughes-Jones NC, Beolet M, D'Ambrosio AM, Cartron JP, Le Van Kim C. Transcript analysis of D category phenotypes predicts hybrid Rh D-CE-D proteins associated with alteration of D epitopes. Blood 85(5):2937-2944, 1995

DFR type II

Faas BHW, Beckers EAM, Maaskant-van Wijk PA, Overbeeke MAM, Van Rhenen DJ, Von dem Borne AEGK. Molecular characterization of qualitative Rh variants. Biotest Bull. 5:439-449, 1997

DBT type I

Beckers EAM, Faas BHW, Simsek S, Overbeeke MAM, van Rhenen DJ, Wallace M, von dem Borne AEGK, van der Schoot CE. The genetic basis of a new partial D antigen: DDBT. Br. J. Haematol. 93:720-727, 1996

DBT type II

Huang CH, Chen Y, Reid ME, Okubo Y. Evidence for a separate genetic origin of the partial D phenotype DBT in a Japanese family. Transfusion 39(11-12):1259-1265, 1999

Πίνακας 13.

Flegel WA. Weak D types by number. The Rhesus Site. DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg-Hessen. 1998-2009

Διαθέσιμο: <http://www.uni-ulm.de/~fwagner/RH/RB/>

Wagner FF, Flegel WA. Review: the molecular basis of the Rh blood group phenotypes. Immunohematology 20(1):23-36, 2004

DMH

Avent ND, Poole J, Singleton B, Chabert T, Romeiras MC, Rodrigues MJ, Watt J, Bruce H. Molecular basis of two partial Ds: DMH and DOL. Transfus. Med. 9(1):33, 1999

(G negative RhD)

Faas BH, Beckers EA, Simsek S, Overbeeke MA, Pepper R, van Rhenen DJ, von dem Borne AE, van der Schoot CE. Involvement of Ser103 of the Rh polypeptides in G epitope formation. Transfusion 36:506-511, 1996

DVII

Rouillac C, Le Van Kim C, Beolet M, Cartron JP, Colin Y. Leu110Pro substitution in the RhD polypeptide is responsible for the DVII category blood group phenotype. Am. J. Hematol. 49:87-88, 1995

DFW

Wagner FF, Gassner C, Eicher NI, Lonicer C, Flegel WA. Characterization of D category IV type IV, DFW, and DNB. Transfusion 38:63S, 1998

DHR

Jones JW, Finning K, Mattock R, Williams M, Voak D, Scott ML, Avent ND. The serological profile and molecular basis of a new partial D phenotype, DHR. Vox Sang. 73:252-256, 1997

DHK

Kashiwase K, Ishikawa Y, Hyodo H, Watanabe Y, Ogawa A, Tsuneyama H, Toyoda C, Uchikawa M, Akaza T, Omine M, Juji T. E variants found in Japanese and c antigenicity alteration without substitution in the second extracellular loop. Transfusion 41(11):1408-1412, 2001

DYU

GenBank entry AJ557827

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/30268162>

DHO53

Müller TH, Wagner FF, Trockenbacher A, Eicher NI, Flegel WA, Schönitzer D, Schunther F, Gassner C. PCR screening for common weak D types shows different distributions in three Central European populations. Transfusion 41(1):45-52, 2001

DHMi

Liu W, Jones JW, Scott ML, Voak D, Avent ND. Molecular analysis of two D-variants, DHMi and DHMii. *Transfus. Med.* 6(2):21, 1996
"Sample A"

Döscher A, Ladewig B, Gerdes I. Six new RHD alleles with previously unknown polymorphisms. *Transfus. Med. Hemother.* 30(1):3-4, 2003

DIM

Wagner FF, Frohmajer A, Ladewig B, Eicher NI, Lonicer CB, Müller TH, Siegel MH, Flegel WA. Weak D alleles express distinct phenotypes. *Blood* 95(8):2699-2708, 2000

DNU

Avent ND, Jones JW, Liu W, Scott ML, Voak D, Flegel WA, Wagner FF, Green C. Molecular basis of the D variant phenotypes DNU and DII allows localization of critical amino acids required for expression of RhD epitopes epD3, 4 and 9 to the sixth external domain of the RhD protein. *Br. J. Haematol.* 97(2):366-371, 1997

DII

Avent ND, Jones JW, Liu W, Scott ML, Voak D, Flegel WA, Wagner FF, Green C. Molecular basis of the D variant phenotypes DNU and DII allows localization of critical amino acids required for expression of RhD epitopes epD3, 4 and 9 to the sixth external domain of the RhD protein. *Br. J. Haematol.* 97(2):366-371, 1997

DNB

Wagner FF, Eicher NI, Jorgensen JR, Lonicer CB, Flegel WA. DNB: a partial D with anti-D frequent in Central Europe. *Blood* 100(6):2253-2256, 2002

DWI87

Körmöczi GF, Legler TJ, Daniels GL, Green CA, Struckmann R, Jungbauer C, Moser S, Flexer M, Schönitzer D, Panzer S, Gassner C. Molecular and serologic characterization of DWI, a novel "high-grade" partial D. *Transfusion* 44(4):575-580, 2004

Πίνακας 14.

Flegel WA. RHCE-alleles with some RHD-resemblance by mutated position.

The Rhesus Site. DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg-Hessen. 1998-2009

Διαθέσιμο: <http://www.uni-ulm.de/~fwagner/RH/RB/>

Πίνακας 15.

Flegel WA. RHCE-alleles with some RHD-resemblance by mutated position.

The Rhesus Site. DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg-Hessen. 1998-2009

Διαθέσιμο: <http://www.uni-ulm.de/~fwagner/RH/RB/>

Πίνακας 16.

Avent ND, Reid ME. The Rh blood group system: a review. *Blood* 95(2):375-387, 2000

Πίνακας 17.

Avent ND, Reid ME. The Rh blood group system: a review. *Blood* 95(2):375-387, 2000

Πίνακας 18.

Reid ME, Lomas-Francis C. The Blood Group Antigen Facts Book. Second ed. New York: Elsevier Academic Press, 2004

10. ΕΠΕΞΗΓΗΣΕΙΣ ΑΓΓΛΙΚΩΝ ΟΡΩΝ ΚΑΙ ΣΥΝΤΜΗΣΕΩΝ

- Å** = ångström = angstrom = Άνγκστρεμ = 1×10^{-10} μέτρα
- A-like antigen** = Αντιγόνο που μοιάζει με το A
- Aberrant** = Αποκλίνον
- Acanthocytosis** = Ακανθοκυττάρωση
- AChE** = Acetylcholinesterase = Ακετυλοχολινεστεράση
- * Είναι ένζυμο που διασπά (με υδρόλυση) το νευροδιαβιβαστή ακετυλοχολίνη
- Acute or chronic myelogenous leukemia** = Οξεία ή χρόνια μυελογενής λευχαιμία
- Acylated residues** = Ακετυλιωμένα κατάλοιπα
- Agglytinogens** = Συγκολλητινογόνα (αντιγόνα)
- Agglutinins** = Συγκολλητίνες (αντισώματα)
- Ala** ή **A** = Alanine = Αλανίνη
- Allele** = Αλληλίο ή αλληλόμορφο γονίδιο
- * Είναι μία από τις εναλλακτικές μορφές ενός γονιδίου που κατέχει τον ίδιο τόπο στα ομόλογα χρωμοσώματα
- Alloantibodies** = Άλλοαντισώματα
- * Είναι τα αντισώματα που παράγονται μετά από έκθεση με άγνωστο (άλλο) αντιγόνο
- Alpha-2 Gal alpha-3 N-acetyl-D-galactosaminyltransferase** ή **histo-blood group A transferase** = α1N-ακετυλο-D-γαλακτοζαμινομεταφοράση
- Alpha(1,2) fucosyltransferase** = α(1,2) φουκοζυλομεταφοράση
- Aluminium foil** = Φύλλο αλουμινίου
- Ammonia oxidizing bacterium** = Βακτήριο που οξειδώνει την αμμωνία (σε νιτρώδη)
- "Amorph"** = "Άμορφος"
- Amt-1** = Πρωτεΐνη Amt-1 του *Archaeoglobus fulgidus*
- Amts** = Ammonium / methylammonium transporters = Πρωτεΐνες μεταφοράς αμμωνίου / μεθυλαμμωνίου
- Ankyrin** = Άγκυρίνη
- Antibody** = Αντίσωμα ή ανοσοσφαιρίνη
- * Είναι πρωτεΐνη που παράγεται από το ανοσοποιητικό σύστημα σε απάντηση προς ξένα μόρια
- Antigen** = Αντιγόνο
- * Είναι κάθε ουσία η οποία είναι ικανή, εισερχόμενη στον οργανισμό ενός ατόμου, να προκαλέσει την παραγωγή αντισωμάτων και να συνδεθεί ακολούθως με αυτό κατά τρόπο ειδικό
- Antigenity** = Αντιγονικότητα
- * Είναι η ικανότητα μιας ουσίας να συνδέεται ειδικά με τα τελικά προϊόντα της ανοσιακής απάντησης (αντισώματα ή άλλοι μεμβρανικοί υποδοχείς)
- Antiglobulin** = Συγκολλητίνη
- Antithetical** = Αντιθετικά
- * Είναι τα προϊόντα των αλληλόμορφων γονιδίων
- AQP** = Aquaporin = Άκουαπορίνη
- * Η άκουαπορίνη είναι πρωτεΐνη που ενσωματώνεται στη μεμβράνη των κυττάρων και ρυθμίζει τη ροή του ύδατος
- Archaea** = Αρχαία
- Arg** ή **R** = Arginine = Αργινίνη
- ART4** = Ecto-ADP-ribosyltransferase 4 ή CD297 = Εκτο-ADP-ριβοζυλοτρανσφεράση 4
- Asn** ή **N** = Asparagine = Ασπαραγίνη
- Asp** ή **D** = Aspartic acid = Ασπαρτικό οξύ ή ασπαραγινικό οξύ
- Autoantibodies** = Αυτοαντισώματα
- * Είναι τα αντισώματα που παράγονται έναντι των αντιγόνων των ίδιων των ερυθρών αιμοσφαιρίων
- Autosomal dominant medullary cystic kidney disease** = Αυτοχρωμοσωματική επικρατούντα κυστική νόσος του μυελού των νεφρών
- Axonal neuropathy** = Αξονική νευροπάθεια
-
- B-like antigen** = Αντιγόνο που μοιάζει με το B
- Bacteria** = Βακτήρια
- bp** = base pair = Ζευγάρι βάσεων
- * Είναι δύο νουκλεοτίδια (αδενίνη με θυμίνη και κυτοσίνη με γουανίνη) σε αντίθετα συμπληρωματικά DNA ή RNA, που συνδέονται με δεσμούς υδρογόνου
- BAC** = Bacterial Artificial Chromosome = Βακτηριακό τεχνητό χρωμόσωμα
- B-CAM** = Basal cell adhesion molecule = Μόριο προσκόλλησης στην κυτταρική επιφάνεια
- Band 3** ή **AE1** = Anion exchanger member 1 = Ζώνη 3 ή ανταλλάκτης ανιόντων 1
- Basophilic erythroblasts** = Βασεόφιλοι ερυθροβλάστες

BFU = Burst-Forming Unit = Κύτταρα σχηματίζοντα "έκρηξη" (μιτώσεων) της ερυθροκυτταρικής σειράς
Big ET-1 = Big endothelin-1 = Μεγάλη ενδοθηλίνη-1
Binding = Δέσμευση
Bioactive peptides = Βιοενεργά πεπτίδια
Blood disease = Νοσήματα του αίματος
Blood group = Ομάδες αίματος
Bombay phenotype ή h/h ή OH = Βομβάη φαινότυπος
Bromelin = Βρομελίνη
BspHI = Ενδονουκλεάση περιορισμού που απομονώθηκε από τμήματα του *Bacillus*
Buffer = Ρυθμιστικό διάλυμα

CO₂ = Διοξείδιο του άνθρακα
C4 = Complement 4 = Παράγοντας του συμπλήρωματος 4
Carbonic anhydrase ή **carbonate dehydratases** = Ανθρακική ανυδράση ή ανθρακική δεϋδρατάση
* Είναι ένζυμο που καταλύει την ενυδάτωση του CO₂ και την αφυδάτωση του HCO₃⁻
CD = Clusters of Differentiation = Συμπλέγματα διαφοροποίησης
cdNA = Κυκλικό δεοξυροβονουκλεϊκό οξύ
* Είναι το DNA που συντίθεται με μήτρα mRNA, με τη χρήση της αντίστροφης μεταγραφάσης
CFU = Colony-Forming Unit = Κύτταρα σχηματίζοντα αποικίες
Coalescence = Συνένωση
Coding sequence = Αλληλουχία κωδικοποίησης
Codon = Κωδικόνιο
* Είναι τριάδα βάσεων στο μόριο του DNA ή του RNA που κωδικοποιεί ένα αμινοξύ
Collections = Συλλογές
* Μια συλλογή περιέχει αντιγόνα που σχετίζονται γενετικά ή βιοχημικά, αλλά δεν πληρούν τα κριτήρια για να σχηματίσουν μια ομάδα αίματος. Μόλις τα αντιγόνα αποδειχθεί ότι είναι γενετικά διαφορετικά, τους δίνεται η ονομασία της ομάδας αίματος. Μέχρι σήμερα υπάρχουν έξι συλλογές των αντιγόνων (Cost, I, Er, Globoside κ.)
CPK = Creatine Phosphokinase = Φωσφοκινάση της κρεατίνης
Cotransporters = Συμμεταφορέας
CR1 ή **C3b/C4b receptor** = Erythrocyte complement receptor 1 = Ερυθροκυτταρικός υποδοχέας συμπλήρωματος 1 ή υποδοχέας C3b/C4b
C' receptor = Υποδοχέας παραγόντων συμπληρώματος
Cresol = Κρεσόλη
* Είναι μια φαινόλη και χρησιμοποιείται ως διαλύτης χημικών ουσιών ή απολυμαντικό
Crystal structure = Κρυσταλλογραφική δομή
C-terminal domain = Καρβοξυ-τελική περιοχή (άκρο) (COOH)
ctl = Control = Μάρτυρας
Cys ή **C** = Cysteine = Κυστεΐνη
Cytoskeleton = Κυτταροσκελετός

dH₂O = Distilled water = Απεσταγμένο νερό
DAF = Decay-Accelerating Factor = Παράγοντας που επιταχύνει την διάσπαση (του συμπληρώματος)
DARC = Duffy antigen/chemokine receptor ή Fy glycoprotein (FY) ή CD234 = Γλυκοπρωτεΐνη Fy
De novo (Λατ.) = Εκ νέου
Deletion = Διαγραφή, έλλειμμα, απαλοιφή, παράλειψη
Deletion of nucleotides = Διαγραφή νουκλεοτιδίων
dNTPs = Deoxyribonucleotide triphosphate = Τριφωσφορικοί δεοξυριβονουκλεοζίτες
Downstream = Προς τα κάτω

EcAmtB = Πρωτεΐνη AmtB της *E. Coli*
E. Coli = *Escherichia coli*
ECE-1 και **ECE-2** = Endothelin Converting Enzymes 1 και 2 = Ένζυμα που μετατρέπουν την ενδοθηλίνη 1 και 2
Elution = Έκλουση
Epitope ή **antigenic determinant** = Επίτοπος ή αντιγονικός καθοριστής
* Είναι κάθε προέχουσα χημική διαμόρφωση πάνω στην εξωτερική επιφάνεια του αντιγόνου που μπορεί να συνδεθεί στερεοχημικά με το ομόλογό της αντίσωμα
ERMAP = Erythroid membrane-associated protein = Πρωτεΐνη που συνδέεται με την ερυθροκυτταρική μεμβράνη
Erythroblastosis fetalis = Ερυθροβλάστωση του νεογνού

Et-1 = Endothelin-1 = Ενδοθηλίνη-1
Exon = Εξώνιο
 * Είναι μεταγραφόμενη περιοχή ενός γονιδίου που υπάρχει στο ώριμο mRNA και περιέχει κωδικοποιούσα πληροφορία
Extramedullary erythropoiesis = Εξωμυελική ερυθροποίηση

Factor VII ή **FVIII** = Παράγοντας VII
Factor vWF = Παράγοντας Von Willebrand
FISH = Fluorescence in situ hybridization = Φθορίζουσα in situ υβριδοποίηση
Fluorescence-labeled = Φθορίζων σημασμένος
Frameshift = Μετατόπιση πλαισίου ανάγνωσης
 * Είναι μετάλλαξη που προκύπτει από προσθήκη ή έλλειψη μιας βάσεως στην αλληλουχία των νουκλεοτιδίων που δεν είναι πολλαπλάσιο του τρία, με αποτέλεσμα να διαβάζεται διαφορετικά το γενετικό μήνυμα
Fu = Fucose = Φουκόζη
 * Είναι ένας ουδέτερος μονοσακχαρίτης
Fuc alpha1→2 Gal alpha 1→3 galactosyltransferase ή **histo-blood group B transferase** = α1D-γαλακτοζο-μεταφοράση
Fungi = Μύκητες
FUT1 = Γονίδιο που κωδικοποιεί τη φουκοζυλοτρανσφεράση 1 (fucosyltransferase 1)
FUT2 = Γονίδιο που κωδικοποιεί τη φουκοζυλοτρανσφεράση 2 (fucosyltransferase 2)
Fy glycoprotein ή **Duffy, DARC** = Γλυκοπρωτεΐνη Fy

Gal = Galactose = Γαλακτόζη
Gel = Πηκτή
Gene deletion = Διαγραφή γονιδίου
Genotype = Γονότυπος
 * Γονότυπος είναι η γενετική πληροφορία μιας συγκεκριμένης γονιδιακής περιοχής ή η γενετική σύσταση ενός συγκεκριμένου κυττάρου ή οργανισμού
Gln ή **Q** = Glutamine = Γλουταμίνη
Glu ή **E** = Glutamic acid = Γλουταμινικό οξύ
Gly ή **G** = Glycine = Γλυκίνη ή αμινοαιθανικό οξύ
Glycoprotein LW ή **Landsteiner-Wiener blood group glycoprotein** ή **ICAM-4** ή **CD242 antigen** = Γλυκοπρωτεΐνη LW
GPA = Glycophorin A = Γλυκοφορίνη A
GPB = Glycophorin B ή **Ss sialoglycoprotein (SGP)** ή **δ-SGP** ή **PAS-3** = Γλυκοφορίνη B
GPC = Glycophorin C ή **βSGP** = Γλυκοφερίνη C
GPD = Glycophorin D = Γλυκοφερίνη D
GS = Glutamine synthetase = Γλουταμινική συνθετάση
GYP A = Sialoglycoprotein A = Σιαλογλυκοπρωτεΐνη A
GYP B = Sialoglycoprotein B = Σιαλογλυκοπρωτεΐνη B
GYP C = Sialoglycoprotein C = Σιαλογλυκοπρωτεΐνη C
GYP D = Sialoglycoprotein D = Σιαλογλυκοπρωτεΐνη D

HCl = Hydrochloric acid = Υδροχλωρικό οξύ
HCO₃⁻ = Bicarbonate = Διττανθρακικό άλας
Haemoglobin = Αιμοσφαιρίνη
Haplotype = Απλότυπος
 * Είναι σύνολο των γονιδίων ενός συγκεκριμένου συστήματος στο ίδιο χρωμόσωμα
HDN = Hemolytic Disease of the Newborn = Αιμολυτική νόσος του νεογνού
HDFN = Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn = Αιμολυτική νόσος του εμβρύου και του νεογνού
HELLH = Zinc-binding enzymatic active site = Συνδεδεμένη με ψευδάργυρο ενζυμική ενεργό περιοχή
His ή **H** = Histidine = Ιστιδίνη
HTR = Hemolytic Transfusion Reaction = Αιμολυτική αντίδραση μετάγγισης
HUT = Histidine utilization (carrier) = (φορέας) που χρησιμοποιεί ιστιδίνη
Hybrid proteins = Υβριδικές πρωτεΐνες
Hybridization = Υβριδοποίηση
 * Είναι το ζευγάρωμα (συνένωση) με βάση την συμπληρωματικότητα μιας RNA και μιας DNA αλυσίδας ή δύο διαφορετικών DNA αλυσίδων
Hydrops = Ύδρωπας

IAP = Integrin-associated protein ή **CD47, BRIC 125 glycoprotein, AgOAB, 1D8** = Πρωτεΐνη συνδεδεμένη με ιντεγκρίνη
ID-Centrifuge = ID-φυγόκεντρος
ID-Diluent 2 = ID-Διαλύτης 2

Ile ή **I** = Isoleucine = Ισολευκίνη
Immunogenity = Ανοσογονικότητα
 * Είναι η ικανότητα μιας ουσίας να επάγει ανοσιακή απάντηση όταν εισέρχεται στον οργανισμό
Inhibition mechanism = Ανασταλτικός μηχανισμός
Integrin = ιντεγκρίνη ή ενσωματίνη
Integrin LFA-1 ή $\alpha\text{L}\beta\text{2}$, **CD11a/CD18** = Lymphocyte Function-associated Antigen 1 = Ιντεγκρίνη του αντιγόνου 1 συνδεδεμένου με την λειτουργία των λεμφοκυττάρων
Intravascular hemolysis = Ενδοαγγειακή αιμόλυση
ICAM-4 = Intercellular Adhesion Molecule 4 = Μόριο μεσοκυττάριας προσκόλλησης 4
In Situ (Λατ.) = Επί τόπου
In Situ hybridization = in Situ υβριδοποίηση
 * Είναι η μοριακή υβριδοποίηση μιας κλωνοποιημένης αλληλουχίας DNA με μεταφασικά χρωμοσώματα που βρίσκονται απλωμένα πάνω σε μια αντικειμενοφόρο πλάκα, και χρησιμοποιείται για την χαρτογράφηση ενός γονιδίου
Intron = Ιντρόνιο ή εσώνιο
 * Είναι τμήμα ενός γονιδίου, που αρχικά μεταγράφεται σε RNA, αλλά αφαιρείται στη συνέχεια με το μάτισμα από το πρωτογενές μετάγραφο και δεν υπάρχει στο ώριμο mRNA

Kb = Kilobase = Κιλοβάση
 * Είναι ίση με 1.000 bp μιας αλληλουχίας DNA
KDa = Kilodalton = Κιλοντάλτον = 10^3 d
 * Είναι μονάδα ατομικής μάζας (atomic mass unit (u)), κατά προσέγγιση η μάζα ενός υδρογόνου ($1,7 \times 10^{-24}$ g)
K3EDTA = K3 Ethylenediaminetetraacetic acid = K3 Αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ
Kit = Προτυποποιημένη εμπορική δοκιμασία
Kernikterus = Πυρηνικός ίκτερος

LAD II = Leukocyte Adhesion Deficiency type II = Ανεπάρκεια προσκόλλησης λευκοκυττάρων τύπου II
Leu ή **L** = Leucine = Λευκίνη
LFA-1 ή $\alpha\text{L}\beta\text{2}$, **CD11a/CD18** = Lymphocyte function-associated antigen 1 = συνδεδεμένο με την λειτουργία των λεμφοκυττάρων αντιγόνο 1
Library = Βιβλιοθήκη
 * Είναι μια μεγάλη συλλογή ανασυνδυασμένων κλώνων DNA, στην οποία τμήματα γενωμικού ή cDNA έχουν εισαχθεί σε συγκεκριμένο φορέα
Ligand = Συνδέτης
LISS = Low Ionic Strength Solution = Χαμηλής ιοντικής ισχύς διάλυμα
Locus = Γενετικός τόπος ή γονιδιακός τόπος
 * Είναι η θέση ενός γονιδίου πάνω στο χρωμόσωμα
Low-incidence antigen = Αντιγόνο χαμηλής συχνότητας
 * Συνδέονται με ορισμένους φαινοτύπους D, είναι δομές στην επιφάνεια των ερυθρών αιμοσφαιρίων και είναι χρήσιμοι δείκτες για το προσδιορισμό του ατελούς D, και ορισμένα από αυτά συνδέονται με περισσότερα από 1 υποστρώματα, όπως το αντιγόνο FPTT (Rh50) που εκφράζεται στους φαινοτύπους DFR, R_o^{Har} και D^{Iva} (C)
Lys ή **K** = Lysine = Λυσίνη
Lysis solution = Διάλυμα θραύσης

Magnetic particle suspension = Εναιώρημα μαγνητικών μορίων
Malaria parasite = Παράσιτο της ελονοσίας
Merp = Methylammonium / ammonium permeases = Μεθυλαμμώνιου / αμμώνιου περμεάσες
Met ή **M** = Methionine = Μεθειονίνη
Micro tube = Μικροσωληνάριο
Missense mutation = Παρερμηνεύσιμη μετάλλαξη
 * Είναι η αντικατάσταση μιας μόνο βάσης του DNA, που οδηγεί σε κωδικόνιο ειδικό για διαφορετικό αμινοξύ
Monoclonal antibodies = Μονοκλωνικά αντισώματα
 * Είναι αντισώματα που παράγονται σε μεγάλες ποσότητες με σύντηξη ενός Β-λεμφοκυττάρου, προερχόμενο από ένα ζώο στο οποίο είχε ενεθεί το αντιγόνο (A), με ένα κύτταρο ενός νεοπλάσματος των Β-λεμφοκυττάρων. Το υβριδικό κύτταρο που προκύπτει διαιρείται επ' άπειρον και εκκρίνει αντι-A ενός μοναδικού τύπου
Motifs = Μοτίβα
Multiple alleles = Πολλαπλά αλληλόμορφα γονίδια

Mutation = Μετάλλαξη

* Είναι αλλαγή του γενώματος ενός οργανισμού, που έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία νέων χαρακτηριστικών. Διακρίνονται σε: σημειακές (αφαίρεση, προσθήκη, αντικατάσταση μιας νουκλεοτιδικής βάσης), χρωμοσωματικές (έλλειψη, διπλασιασμός, αναστροφή ολόκληρων γονιδιακών περιοχών) και

μεταλλάξεις γενώματος (μονοσωμίες, τρισωμίες, πολυπλοειδίες)

Myelodysplastic syndrome = Μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο

Myeloproliferative disease = Μυελοϋπερπλαστικό νόσημα

Na⁺/K⁺ ATPase = αντλία Na⁺-K⁺

NH₃ = Ammonia = Αμμωνία

NH₄⁺ = Ammonium = Ιόν αμμωνίου

NA = N-acetyloglycosamine = N-ακετυλογλυκοζαμίνη

Natural antibodies = Φυσικά αντισώματα ή φυσιολογικά

* Είναι κυκλοφορούντα αντισώματα, που ανευρίσκονται σε υγιή άτομα και τα οποία έχουν παραχθεί χωρίς να έχει προηγηθεί εμφανής εξωγενής διέγερση

NP014 ή **DJ465N24.2.1** ή **RP3-465N24.4** = **Clorf63** = Chromosome 1 open reading frame 63 = Ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης στο χρωμόσωμα 1

Διαθέσιμο: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/57035>

ACCESSION: AF247168

NEP = Neutral Endopeptidase = Ουδέτερη ενδοπεπτιδάση

Neprilysin ή **NEP** ή **Membrane Metallo-Endopeptidase** / **MME** = Νεπριλυσίνη ή ουδέτερη ενδοπεπτιδάση ή μεμβρανική μεταλλο-ενδοπεπτιδάση

* Είναι ένα ψευδαργύρο-εξαρτώμενο μεταλλοπρωτεάσης ένζυμο (zinc-dependent metalloprotease enzyme)

NeRh50 = Πρωτεΐνη Rh50 του *Nitrosomonas europaea*

NG = N-acetylogalactosamine = N-ακετυλογαλακτοζαμίνη

Nonsense mutations = Μεταλλάξεις χωρίς νόημα ή ανερμηνεύσιμες

* Είναι η αντικατάσταση μιας μόνο βάσης του DNA που οδηγεί σε κωδικόνιο τερματισμού

Normoblasts = Νορμοβλάστες

Northern blot = Αποτύπωση κατά Northern

* Είναι μια τεχνική αποτύπωσης που επιτρέπει τον εντοπισμό τμημάτων RNA μετά από υβριδοποίηση. Το αποτύπωμα αποκαλύπτει το μέγεθος και την ποσότητα του RNA που είναι συμπληρωματικό με τον χρησιμοποιούμενο ανιχνευτή

N-terminal domain = Αμινο-τελική περιοχή (άκρο) (NH₂)

O₂ = Oxygen = Οξυγόνο

OD = Optical density = Οπτική πυκνότητα

Open reading frame = Ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης

* Είναι το πλαίσιο ανάγνωσης που δεν περιέχει κωδικόνια τερματισμού και είναι δυνητικά μεταφράσιμο σε πρωτεΐνη

P29-associated protein = P29-συνδεδεμένη πρωτεΐνη

Palmitic acid = Παλμιτικό οξύ

Palmitoylation ή **S-acylation** = Παλμιτοϋλίωση ή S-ακυλίωση

* Είναι η ομοιοπολική σύνδεση του παλμιτικού οξέος σε κυστεϊνικά κατάλοιπα μεμβρανικών πρωτεϊνών

Para-Bombay phenotype = Φαινότυπος παρα-Bombay

Partial D = Ατελής D

PEX gene = Phosphate regulating gene with homologies to Endopeptidases, on the X chromosome = Φωσφόρο-ρυθμιστικό γονίδιο με ομολογίες με τις ενδοπεπτιδάσες, στο χρωμόσωμα X

PHEX = Phosphate-regulating protein = Ρυθμιζόμενη από φωσφόρο πρωτεΐνη

Phe ή **F** = Phenylalanine = Φαινυλαλανίνη

Phenotype = Φαινότυπος

* Φαινότυπος είναι η παρατηρήσιμη έκφραση του γονοτύπου στην εξωτερική εμφάνιση ενός κυττάρου ή οργανισμού

Plants = Φυτά

Platelets = Αιμοπετάλια ή θρομβοκύτταρα

Point mutation = Σημειακή μετάλλαξη

* Είναι η αντικατάσταση ενός νουκλεοτιδίου από ένα άλλο

Polychromatophilic erythroblasts = Πολυχρωματόφιλοι ερυθροβλάστες

Polytopic = Πολυτοπικά

Permeases = Περμεάσες

* Είναι μεμβρανικές πρωτεΐνες μεταφοράς

Primer = εκκινητής

* Είναι ένα μικρό συνθετικό ολιγονουκλεοτίδιο που χρησιμεύει ως σημείο εκκίνησης για την σύνθεση του DNA

Pro ή **P** = Proline = Προλίνη
Probes = Ανιχνευτές
 * Είναι μια σημασμένη αλληλουχία DNA ή RNA, που χρησιμοποιείται για να ανιχνεύσει την παρουσία μιας συμπληρωματικής της αλληλουχίας με την χρήση της μοριακής υβριδοποίησης
Proerythroblasts = Προερυθροβλάστες
Proteinase K ή **protease K** ή **endopeptidase K** = Πρωτεΐνάση K ή πρωτεάση K ή ενδοπεπτιδάση K
 * Είναι μια σερινοπρωτεάση (πέψη πρωτεϊνών). Το ένζυμο ανακαλύφθηκε σε εκχυλίσματα του μύκητα *Engyodontium album* (*Tritirachium album*)
Pseudoexon = Ψευδοεξώνιο

R = Residues = Κατάλοιπα
RBCs = Red Blood Cells ή erythrocytes = Ερυθρά αιμοσφαίρια ή ερυθροκύτταρα
Reading frame = Πλαίσιο ανάγνωσης
 * Είναι τρόπος για την ανάγνωση μιας νουκλεοτιδικής αλληλουχίας ως σειράς τριπλετών
Rearrangements = Ανακατανομές
Recombination = Επανασυνδυασμός
"Regulator" = "Ρυθμιστής"
Restriction Endonucleases = Ενδονουκλεάσες περιορισμού
RFLP = Restriction Fragment Length Polymorphism = Πολυμορφισμός μεγέθους περιοριστικών τμημάτων
Rh30 ή **Rh30B** ή **Rh30D** ή **D₃₀** ή **Rh30 polypeptide** [30 kd] ή **RhXIII** ή **Rh13** = Πρωτεΐνη RhD
Rh30 ή **Rh30A** ή **Rh30C** [RhCE] ή **Rh30 polypeptide** [32 kd] ή **RhIXb cDNA** [RhCE] ή **Rh21 cDNA** [RhCE] ή **R6A₃₂** ή **Rhce** ή **RhCe** ή **RhcE** ή **RhCE** ή **CcEe** = Πρωτεΐνη RhCcEe
Rh30 polypeptides = Πολυπεπτίδια Rh30
Rh50 ή **Rh glycoprotein Rh50A** ή **D₅₀** ή **MB-2D10 protein** ή **R6A₄₅** ή **GP50** ή **GP50A** = Πρωτεΐνη RhAG
Rh accessory proteins = Βοηθητικές πρωτεΐνες
RhAG = Rh-Associated Glycoprotein = Rh-συνδεδεμένη γλυκοπρωτεΐνη
RhAG-like protein = Πρωτεΐνη που μοιάζει με την RhAG
RhBG ή **Rhbg** = B glycoprotein = B γλυκοπρωτεΐνη
Rh boxes = Κουτιά Rh
RhCG ή **Rhcg** = C glycoprotein = C γλυκοπρωτεΐνη
Rh complex = Σύμπλεγμα Rh
Rh deficiency syndrome = Σύνδρομο ανεπάρκειας Rh
RhD_{e1} = D_{e1} phenotype = Φαινότυπος D_{e1}
Rh_{mod} (from modified) = Τροποποιητής
Rh_{mod} phenotype = Φαινότυπος Rh_{mod}
Rh mosaicism = Μωσαϊκό Rh
 * Είναι η παρουσία κυττάρων, διαφόρων φαινοτύπων, που προέρχονται από ένα ζυγωτό
Rh_{null} phenotype = Φαινότυπος Rh_{null}
Rh-related 5'-fragments = Rh-συνδεδεμένα τμήματα στο 5' άκρο
RT-PCR = reverse - transcriptase - polymerase chain reaction = Αλυσιδωτή αντίδραση αντίστροφης - τρανσκριπτάσης - πολυμεράσης

Salvage pathway = Οδός περισώσεως
SCA = Sick Cell Anemia = Δρεπανοκυτταρική αναιμία
Segmental substitutions = Τμηματικές αντικαταστάσεις
"Secretors" = "Εκκριτικοί"
Selection pressure = Πίεση επιλογής
Sema7A = Semaphorin 7A ή CD108 = Σεμαφορίνη 7A
Ser ή **S** = Serine = Σερίνη
Series = Σειρές
 * Είναι αντιγόνα των ερυθρών αιμοσφαιρίων που δεν ανήκουν σε μια ομάδα αίματος ή μια συλλογή και ταξινομούνται σε δύο σειρές: εάν είναι σπάνια (συχνότητα <1%), τοποθετούνται στη σειρά 700, αν είναι συχνά (συχνότητα >90%), τοποθετούνται στη σειρά 901. Σήμερα, υπάρχουν πάνω από 20 (HJK, HOFM, JFV, REIT κα.) αντιγόνα στη σειρά 700 και 11 (Vel, Lan, Emm, Duclos κα.) αντιγόνα στη σειρά 901
"Silent" = "Σιωπηλός"
Silent allele = Σιωπηλό αλληλόμορφο γονίδιο
 * Είναι μεταλλαγμένο γονίδιο που δεν έχει ανιχνεύσιμο φαινοτυπικό αποτέλεσμα
SMP1 = Small Membrane Protein 1 = Μικρή μεμβρανική πρωτεΐνη 1
SNPs = Single Nucleotide Polymorphisms = Πολυμορφισμοί ενός νουκλεοτιδίου
Southern blot = Αποτύπωση κατά Southern

* Είναι μια τεχνική για την μεταφορά σε φίλτρο νιτροκυτταρίνης τμημάτων DNA, που έχουν διαχωριστεί με ηλεκτροφόρηση σε πηκτική αγαρόζη, και στην συνέχεια τα συγκεκριμένα τμήματα DNA πάνω στο φίλτρο, μπορούν να ανιχνευτούν μετά από υβριδοποίηση τους με ραδιενεργούς ανιχνευτές

Spase-filling model = Χλωροπληρωτικό μοντέλο

Spectrin = Σπεκτρίνη

Splicing = Μάτισμα, συναρμολόγηση

* Είναι η διαδικασία, κατά την μετα-μεταγραφική επεξεργασία του RNA, όπου για να παραχθεί το mRNA τα ιντρόνια πρέπει να εκταμούν και τα εξώνια να συναρμολογηθούν σωστά

Splice site mutation = Μεταλλάξεις στην περιοχή ματίσματος

Splice variants = Παραλλαγές ματίσματος

SphI = Ενδονουκλεάση περιορισμού που απομονώθηκε από τον *Streptomyces phaeochromogenes*

Spherocytosis = Σφαιροκύτταρα

SSP = Sequence-Specific Priming = Εκκινητές ειδικοί για κάθε αλληλουχία

Stomatocytes = Στοματοκύτταρα

Stop codon = Κωδικόνιο τερματισμού

* Είναι κωδικόνια (UAG, UAA ή UGA) που προκαλούν τερματισμό της πρωτεϊνοσύνθεσης

Suspension = Εναιώρημα

Tail-to-tail = Ουρά με ουρά

Thermocycler = Θερμικός κυκλοποιητής

Thrombospondin (TSP) = Θρομβοσποδίνη

* Είναι μια εκκριτική πρωτεΐνη αλληλεπιδρούν με τους παράγοντες πήξης του αίματος και με αντιπηκτικούς παράγοντες, εμπλέκονται στη προσκόλληση των κυττάρων, στη συγκόλληση των αιμοπεταλίων, στο πολλαπλασιασμό των κυττάρων, στην αγγειογένεση, στη μετάσταση, καθώς και στην επιδιόρθωση των ιστών.

Thr ή T = Threonine = Θρεονίνη

Tip = Ακροφύσιο, ρύγχος

Transcripts = Αντίγραφα

Transition = Μετάβαση

* Είναι η υποκατάσταση μια βάσεως πουρίνης (αδενίνη και γουανίνη) με μια άλλη βάση πουρίνης ή μια βάσεως πυριμιδίνης (θυμίνη και ουρακίλη) με μια άλλη βάση πυριμιδίνης

Transferases = Τρανσφεράσες ή μεταφοράσες

* Είναι ένζυμα τα οποία καταλύουν αντιδράσεις στις οποίες μια ομάδα που περιέχει C, N, P ή S μεταφέρεται από ένα υπόστρωμα σε ένα άλλο χωρίς οξειδωση ή αναγωγή

Transfusion reactions = Αντιδράσεις μετάγγισης

Trp ή W = Tryptophan = Τρυπτοφάνη

Tris ή THAM = Hydroxymethyl aminomethan = Υδροξυμεθυλο αμινομεθάνιο

* Είναι οργανική ένωση που χρησιμοποιείται ως ρυθμιστικό διάλυμα

Truncated = Περικομμένο

Trypsin = Θρυψίνη

* Είναι μια σερίνο-πρωτεάση που υδρολύει πρωτεΐνες. Διασπά πεπτιδικές αλυσίδες κυρίως στο καρβοξυλικό άκρο

Tyr ή Y = Tyrosine = Τυροσίνη

Type I tyrosinemia disease = Τυροσιναιμία τύπου I

Upstream = Προς τα επάνω

Unequal crossover = Άνισος διασκελισμός ή επιχιασμός ή χιασματυπία

* Είναι ο επιχιασμός (αμοιβαία θραύση και επανένωση ομόλογων χρωμοσωμάτων) στη μειωτική πρόφαση I, που οδηγεί σε ανταλλαγή χρωμοσωμικών τμημάτων) μεταξύ παρόμοιων αλληλουχιών DNA στα χρωμοσώματα, οι οποίες δεν έχουν στοιχιστεί σωστά, με αποτέλεσμα την δημιουργία μιας έλλειψης ή μιας διπλοποιημένης αλληλουχίας νουκλεοτιδίων

Unicellular green alga = Μονοκυττάριο πράσινο φύκος

Uniporter = Μονομεταφορέας

UV = Ultraviolet = Υπεριώδης ακτινοβολία

Val ή V = Valine = Βαλίνη

Variability = Μεταβλητότητα

Variant = Παραλλαγή

Vestibule = Κυστίδιο

WBCs = White Blood Cells ή leucocytes = Λευκά αιμοσφαίρια ή λευκοκύτταρα

Weak D = Ασθενές D

Zinc endopeptidases = Ενδοπεπτιδάσες ψευδαργύρου