

Obniżenie ekspresji antygeny A z układu ABO w przebiegu ostrej białaczki szpikowej – opis przypadku

Article history:
Received: 15.08.2018
Accepted: 25.10.2019

Decrease in the expression of antigen A from the ABO system in acute myeloid leukaemia – a case report

Wojciech Dąbrowa*,
Aleksandra Janusz

Regionalne Centrum Krwiodawstwa
i Krwiolecznictwa w Katowicach, Polska

Streszczenie

Antygeny układu ABO znajdują się na erytrocytach, płytkach krwi, w większości tkanek oraz w płynach ustrojowych (z wyjątkiem hepatocytów, tkanki nerwowej oraz płynu mózgowo-rdzeniowego). Ich ekspresja jest z reguły niezmienna przez całe życie, natomiast jej zmniejszenie można zaobserwować m.in. w białaczkach szpikowych. W wielu przypadkach obniżenie ekspresji antygenów czerwonych z układu ABO pojawia się przed rozpoznaniem białaczki. Materiał do badań stanowiła próbka krwi pacjenta z rozpoznaną ostrą białaczką szpikową, u którego w rutynowym badaniu serologicznym wystąpiły problemy z jednoznacznym określeniem grupy krwi z układu ABO. Do określenia grupy krwi zastosowano metodę zwaną ciepłą elucją Landsteinerera. Specjalistyczne badanie immunohematologiczne wykonane metodą ciepłej elucji Landsteinerera potwierdziło obecność na krwinkach czerwonych pacjenta antygeny A z układu ABO o obniżonej ekspresji. Wykonane badanie umożliwiło wydanie wyniku grupy krwi wraz z zaleceniami dotyczącymi przetaczania składników krwi.

Abstract

ABO system antigens are found on erythrocytes, platelets, almost all tissues and in body fluids, with the exception of hepatocytes, nervous tissue and cerebrospinal fluid. Their expression is usually constant and unchanging throughout their lives, but sometimes it weakens on red blood cells. Such changes are often observed in leukaemias, usually in the form of acute and chronic myeloid type. In many cases, the depression of red cell antigens from the ABO system occurs before the diagnosis of the disease. The test material was a blood sample of a patient with acute myeloid leukaemia in whom problems were encountered in routine serological examination with clear determination of the blood type from the ABO system. A method called the Landsteiner heat elution was used to determine the blood type. Specialized immunohematological examination performed with Landsteiner's heat elution method confirmed the depression of antigen A from the ABO system on the red blood cells of the patient. The obtained result made it possible to issue appropriate transfusion recommendations regarding transfusion of blood components.

© 2019 Polish Society of Hematology and Transfusion Medicine, Institute of Hematology and Transfusion Medicine. Published by Sciendo. All rights reserved.

Słowa kluczowe:

obniżenie ekspresji antygeny, ostra białaczka szpikowa, ciepła elucja Landsteinerera, układ ABO

Keywords:

decrease in antigen expression, acute myeloid leukemia, Landsteiner's heat elution, ABO system

Wstęp

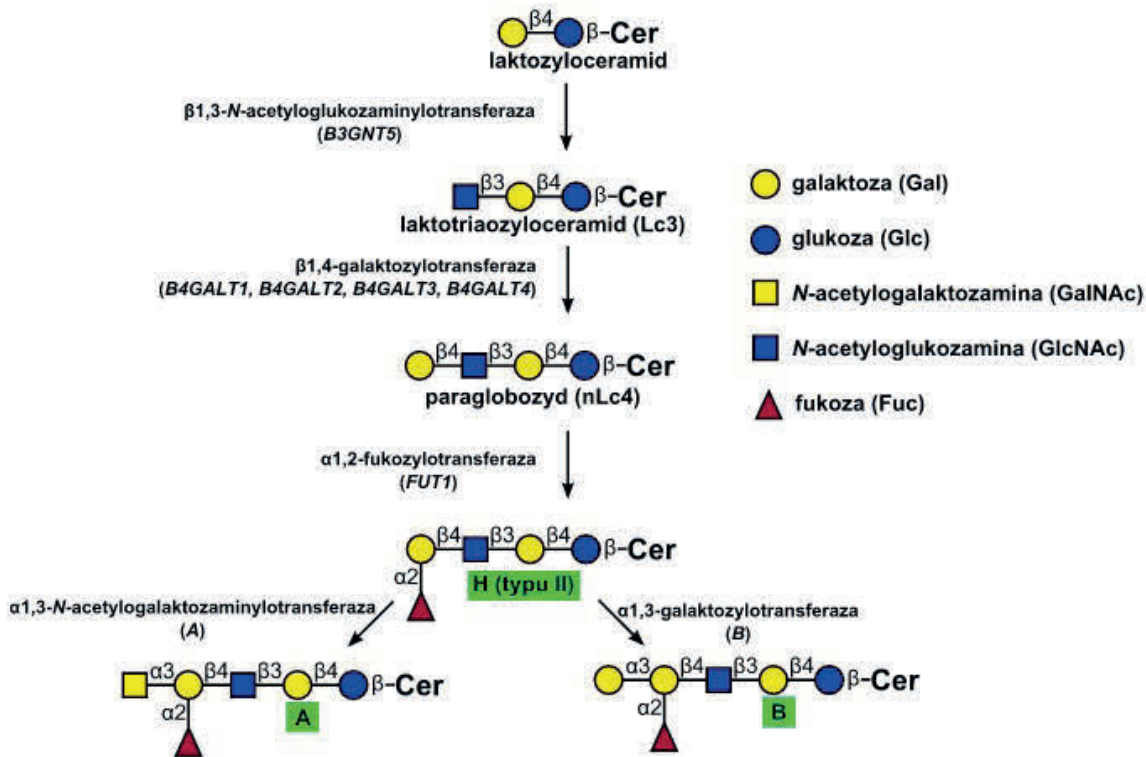
Podział krwi na grupy jest metodą klasyfikacji na podstawie obecności lub nieobecności dziedzicznych erytrocytarnych antygenów, które mogą wywołać odpowiedź układu odpornościowego. Grupy krwi A, B i O zostały odkryte przez Karola Landsteinerera w 1900 roku, a grupa AB dwa lata później przez von Castello i Adriano Sturly. Z kolei Emil von Dungern i Ludwik Hirszfild wykazali, że grupy krwi są dziedziczne [1-4].

Antygeny układu grupowego ABO są oligosacharydami występującymi na glikoproteinach i glikosfingolipidach. Antygeny A i B z układu ABO różnią się terminalnym cukrem. W przypadku antygeny A jest to N-acetylogalaktozamina, a dla antygeny B charakterystycznym

cukrem jest galaktoza. Powstają one w wyniku działania swoistych glikozylotransferaz A i B, które przenoszą odpowiednie cukry z ich nukleotydotowych pochodnych na akceptor oligosacharydowy, nazywany antygenem H. Natomiast grupa AB charakteryzuje się obecnością obu tych antygenów na krwince (Ryc. 1) [5, 6, 7]. Układ ABO wyróżnia się ze wszystkich układów grupowych obecnością w osoczu naturalnych alloprzeciwciał rozpoznających antygeny krwinek czerwonych inne niż na krwinkach autologicznych [8].

Antygeny układu ABO znajdują się nie tylko na erytrocytach, ale także na płytkach krwi, prawie wszystkich tkankach oraz w płynach ustrojowych. Wyjątek stanowią hepatocyty, tkanka nerwowa oraz płyn mózgowo-rdzeniowy. Geny kodujące glikozylotransferazy odpowiedzialne za grupę krwi znajdują się w chromosomach 9

* Corresponding author: Wojciech Dąbrowa, Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Katowicach, ul. Raciborska 15, 40-074 Katowice, Polska; tel. 506306318; email: wojciech.dabrowa@wp.pl



Ryc. 1. Schemat biosyntezy antygenów grupowych z układu A, B, H według Varki [9], zmodyfikowane. Antygeny A, B, H oznaczono kolorem zielonym. Cer – ceramid
Fig. 1. Scheme of biosynthesis of group antigens from the A, B, H system according to Varki [9], modified. A, B, H antigens are marked in green. Cer – ceramide

(α 1,3-N-acetylgalaktosaminotransferaza/ α 1,3-galaktosylotransferaza) oraz 19 (α 1,2-fukozylotransferaza). Cechy kodowane przez te geny dziedziczą się zgodnie z prawami Mendla. Antygeny układu ABO osiągają pełną dojrzałość około 2. roku życia i ich ekspresja jest z reguły niezmienna przez całe życie, ale czasem dochodzi do jej obniżenia na krwinkach czerwonych [7]. W piśmiennictwie przypadki te określane są jako: „obniżona ekspresja antygeny”, „supresja antygenów”, „osłabiona antygenowość” lub po prostu „utrata antygeny” [10].

Zauważono, że obniżona ekspresja antygeny może mieć miejsce zarówno w warunkach fizjologicznych, takich jak ciąża czy podeszły wiek, jak i w patologicznych. Takie zmiany ekspresji antygenów układu ABO na błonie komórkowej erycyty można stwierdzić m.in. w białaczkach szpikowych, zarówno w postaci ostrej i przewlekłej, ale także w innych chorobach układu krwiotwórczego przebiegających z zaburzeniem hematopoezy. Istnieją 3 mechanizmy prowadzące do supresji antygeny. Pierwszy z nich to mutacje genów kodujących glikozylotransferazy w komórce macierzystej szpiku kostnego, które mogą mieć podłoże nowotworowe. U 95% chorych na przewlekłą białaczkę szpikową (*chronic myeloid leukemia* – CML) dochodzi do translokacji w genomie, polegającej na przeniesieniu fragmentu chromosomu 9 na 22 i powstaniu chromosomu Philadelphia. Skutkiem tego może być brak ekspresji glikozylotransferaz, a w rezultacie brak antygenów grupowych układu ABO na krwinkach czerwonych [7, 11, 12]. Częściej obserwuje się obniżoną

ekspresję antygenów w ostrych białaczkach szpikowych (*acute myeloid leukemia* – AML), pomimo że translokacja występuje tylko u 1% chorych [11]. Może to mieć związek z drugim mechanizmem, w którym dochodzi do metylacji sekwencji promotorowej genu ABO w komórkach nowotworowych. Trzecim możliwym mechanizmem powodującym zmniejszoną ekspresję antygenów układu ABO na krwinkach czerwonych jest utrata heterozygotyczności genu ABO (*loss of heterozygosity* – LOH) w komórkach nowotworowych [12]. Udowodniono, że komórki macierzyste z nieprawidłowym genem kodującym glikozylotransferazy są odpowiedzialne za powstanie krwinek czerwonych o zmienionej ekspresji antygenów układu ABO, natomiast z prawidłowych komórek macierzystych wywodzą się krwinki czerwone o prawidłowej ekspresji tych antygenów [7].

O obniżonej ekspresji antygenów mogą świadczyć wyniki uzyskane podczas rutynowych badań grupy krwi, które odbiegają od prawidłowego schematu oznaczeń antygenów i przeciwciał z układu ABO, dlatego specjalistyczną diagnostykę przeprowadza się w Centrach Krwiodawstwa i Krwiolecnicstwa (CKiK). Określenie grupy krwi pacjenta jest istotne w przypadku konieczności leczenia składnikami krwi.

Celem niniejszej pracy było opisanie badań mających na celu oznaczenie antygeny A z układu ABO pacjenta, u którego w rutynowych badaniach serologicznych uzyskano reakcje wskazujące na możliwość wystąpienia na jego krwinkach czerwonych supresji antygeny.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiła próbka krwi pacjenta, u którego w rutynowym badaniu wykonanym w szpitalnej pracowni immunologii transfuzjologicznej wystąpiły problemy z jednoznacznym oznaczeniem grupy krwi w układzie ABO. Do określenia grupy krwi w Pracowni Konsultacyjnej RCKiK w Katowicach zastosowano metodę zwaną ciepłą elucją Landsteinerja. Metoda ta po raz pierwszy została zastosowana przez Dodda i wsp. [13] w 1982 r. w celu oznaczenia odmiany antygeny A z układu ABO. Do tej pory, w dostępnym piśmiennictwie brak jest prac opisujących wykorzystanie ciepłej elucji Landsteinerja do oznaczenia antygeny A z układu ABO o obniżonej ekspresji u pacjentów z chorobami układu krwiotwórczego. Opisano jedynie kliniczne zastosowanie tej metody w celu oznaczenia odmiany antygeny A z układu ABO, a także w badaniach choroby hemolitycznej noworodków, opóźnionej reakcji po przetoczeniu składników krwi i niedokrwiłości autoimmunohematologicznej, ale nie u pacjentów z białaczką [14].

W metodzie Landsteinerja została wykorzystana zdolność przeciwciał anti-A lub/i anti-B z układu ABO do reagowania w temperaturze od +4°C do +6°C. W przypadku wykrywania antygeny A z układu ABO badanie polega na inkubacji badanych krwinek czerwonych oraz krwinek wzorcowych grupy krwi: O, A₁ i A₂ z surowicą/odczynnikiem anti-A w temperaturze +4°C. Jeśli na badanych krwinkach jest obecny antygen A, to przeciwciała anti-A wiążą się z nim, a także z antygenem A obecnym na krwinkach wzorcowych A₁ i A₂ (kontrola dodatnia). Nie wiążą się natomiast z krwinkami grupy O (kontrola ujemna). Kolejny etap badania przeprowadza się w łaźni wodnej w temperaturze +56°C i polega on na oderwaniu opłaszczonych przeciwciał anti-A z krwinek badanych i wzorcowych. Przeciwciała anti-A zostają uwolnione do nadsącza (eluatu wykonanego z krwinek), którego swoistość i aktywność ocenia się na podstawie reakcji aglutynacji lub jej braku z krwinkami wzorcowymi: A₁, A₂ i O. O obecności antygeny A na

krwinkach badanych świadczy reaktywność eluatu z erytrocytów badanych z krwinkami wzorcowymi grupy A i brak aglutynacji z krwinkami grupy O, przy prawidłowych kontrolach: dodatniej i ujemnej oraz kontroli surowicy anti-A po adsorpcji.

Wyniki

Pacjent SB, mężczyzna, lat 91, z rozpoznaniem ostrej białaczki szpikowej. W badaniach serologicznych sprzed 2 lat u pacjenta została oznaczona grupa A RhD+ (dodatni). W aktualnym badaniu weryfikującym grupę krwi wykonywanym podczas dobierania Koncentratu Krwinek Czerwonych (KKCz), stwierdzono słabe reakcje z odczynnikami monoklonalnym anti-A. Pacjentowi w okresie 2 lat nie przetaczano żadnych składników krwi. Z tego powodu wykonano pełne oznaczenie grupy krwi w układzie ABO, w którym także otrzymano słabą aglutynację krwinek badanych z odczynnikami monoklonalnymi anti-A, przy jednoczesnej obecności alloprzeciwciał anti-B z układu ABO. Wyniki uzyskane w rutynowym badaniu grupy krwi pacjenta w szpitalnej pracowni immunologii transfuzjologicznej przedstawiono w tabeli I.

Uzyskane wyniki wskazywały na obniżenie ekspresji antygeny A z układu ABO na krwinkach czerwonych pacjenta. W celu jednoznacznego określenia grupy krwi, próbki krwi pacjenta przesłano do Pracowni Konsultacyjnej RCKiK w Katowicach. Badania wykonane w Pracowni Konsultacyjnej z zastosowaniem techniki próbówkowej oraz mikrometody kolumnowej, potwierdziły wyniki uzyskane w szpitalnej pracowni immunologii transfuzjologicznej, co ilustruje rycina 2. Dla porównania, prawidłowe reakcje serologiczne dla grupy krwi A ilustruje rycina 3.

Reakcje serologiczne uzyskane w szpitalnej pracowni immunologii transfuzjologicznej oraz w Pracowni Konsultacyjnej RCKiK w Katowicach podczas badania grupy krwi układu ABO pacjenta, wskazały na celowość wykonania ciepłej elucji Landsteinerja. Wyniki otrzymane po wykonaniu elucji przedstawia tabela II.

Tabela I. Wyniki uzyskane w rutynowym badaniu grupy krwi pacjenta
Table I. Results obtained in routine testing of the patient's blood group

Odczynniki monoklonalne				Krwinki wzorcowe			
Anti-A		Anti-B		Anti-DVI+ (IgM+IgG)	Anti-DVI-(IgM)	A ₁	B
Klon I	Klon II	Klon I	Klon II				
+/-	+/-	-	-	+++	+++	-	++

Tabela II. Wyniki uzyskane po wykonaniu ciepłej elucji Landsteinerja w próbce badanej
Table II. Results obtained after Landsteiner's warm elution in the test sample

	Reakcje z krwinkami wzorcowymi		
	grupy O	grupy A ₁	grupy A ₂
Eluat z krwinek badanych	0	2+	1+
Kontrola przemycia krwinek badanych	0	0	0
Eluat kontroli dodatniej (krwinki A ₂)	0	3+	1+
Nadsącz kontroli dodatniej	0	0	0
Eluat kontroli ujemnej (krwinki grupy O)	0	0	0
Nadsącz kontroli ujemnej	0	0	0
Surowica anti-A przed adsorpcją	0	4+	4+
Surowica anti-A po adsorpcji	0	0	0



Ryc. 2. Czerwoną strzałką wskazano obniżenie ekspresji antygenu A na krwinkach czerwonych pacjenta
Fig. 2. A red arrow indicates a decrease in the expression of antigen A on the patient's red blood cells



Ryc. 3. Prawidłowe reakcje serologiczne uzyskane w przypadku grupy krwi A RhD+ (dodatni)
Fig. 3. Normal serological reactions obtained with blood group A RhD+ (positive)

Omówienie

Zazwyczaj ekspresja antygenów grupowych układu ABO jest stała na powierzchni krwinek czerwonych przez całe życie. Czasami jednak ich ekspresja pod wpływem różnych czynników może ulegać obniżeniu, którego podstaw można doszukiwać się na poziomie genetycznym i pozagenowym [10]. Zazwyczaj po ustąpieniu czynnika powodującego zmniejszenie ekspresji następuje reekspresja prawidłowych antygenów [5]. Zważywszy na to, iż supresję antygenów A i/lub B z układu ABO można zaobserwować na długo przed rozpoznaniem ostrej białaczki szpikowej, uzyskanie nieprawidłowych reakcji serologicznych podczas oznaczania grupy

krwi pacjenta powinno skłonić diagnostów laboratoryjnych oraz lekarzy do ustalenia przyczyn uzyskania takich wyników w przebiegu chorób nowotworowych układu krwiotwórczego.

Na obniżenie ekspresji antygenów z układu ABO może wskazywać uzyskanie w rutynowym badaniu grupy krwi słabej aglutynacji krwinek czerwonych pacjenta z odczynnikami monoklonalnymi: anti-A lub/i anti-B, przy jednoczesnej obecności w surowicy badanej alloprzeciwciał anti-A lub/i anti-B z układu ABO. Stwierdzenie słabej aglutynacji krwinek badanych z odczynnikiem monoklonalnym anti-A świadczy o zmniejszonej ekspresji antygenu A na krwinkach czerwonych. Słaba aglutynacja krwinek badanych z odczynnikiem monoklonalnym anti-A może być związana z występowaniem odmiany, np. A_m , A_3 , A_{int} , A_x lub z supresją antygenu A [1]. Obecność

określonej odmiany antygeny A jest uwarunkowana genetycznie i niezmienna przez całe życie. Natomiast obniżenie ekspresji antygeny A może być wynikiem toczącego się procesu chorobowego i zmienia się w zależności od jego stadium. Zatem, aby wydać wynik grupy krwi konieczne jest określenie, czy u pacjenta występuje odmiana antygeny A, czy też obniżenie jego ekspresji. Istotny jest tutaj wywiad z pacjentem oraz współpraca pomiędzy diagnostą laboratoryjnym a lekarzem.

W opisanym przypadku grupa krwi pacjenta we wcześniejszych badaniach serologicznych została określona jako A RhD+ (dodatni). Dodatkowo eluat wykonany z krwinek badanych i z kontroli dodatniej wykazywał z krwinkami A₂ podobną reaktywność i nasilenie aglutynacji. Z doświadczeń własnych wynika, że w przypadku odmiany A reakcje te są bardziej zróżnicowane. Uzyskuje się wówczas zdecydowanie słabszą aglutynację krwinek wzorcowych A₁ lub/i A₂ z eluatem wykonanym z krwinek badanych, w porównaniu z kontrolą dodatnią. Wynik uzyskany po wykonaniu eluatu Landsteiner'a potwierdził obniżenie ekspresji antygeny A u pacjenta. Pacjentowi wydano wynik grupy krwi A RhD+ (dodatni) z adnotacją, że antygen A z układu ABO na krwinkach czerwonych wykazuje aktualnie obniżenie ekspresji.

Kolejną sprawą dotyczącą różnicy pomiędzy odmianą a obniżeniem ekspresji antygeny są zalecenia transfuzjologiczne. U pacjentów z odmianą antygeny A w surowicy mogą występować alloprzeciwciała o swoistości anti-A₁ z układu ABO klasy IgM o poszerzonej amplitudzie cieplnej lub klasy IgG. W przypadku transfuzji KKCz grupy A₁ u takich pacjentów może dochodzić do hemolizy przetoczonych krwinek czerwonych. Z tego powodu ważne jest przetaczanie pacjentom z odmianą antygeny A oraz z obecnymi alloprzeciwciałami anti-A₁ z układu ABO KKCz bez antygeny A₁ [1]. Natomiast w przypadku zmniejszonej ekspresji antygeny A z układu ABO dopuszcza się przetaczanie składników krwi identycznych w układzie ABO z biorcą, czyli grupy A. Często jednak podczas obniżenia ekspresji antygeny A z układu ABO zaleca się przetaczanie KKCz bez antygeny A, najczęściej KKCz grupy O.

Piśmiennictwo

References

- [1] Czerwiński M, Kaczmarek R. Genetyczne podstawy syntezy cukrowych antygenów grupowych krwi. *Acta Haematol Pol* 2013; 44:251–9.
- [2] Landsteiner K. Zur Kenntnis der anti-fermentativen lytischen und agglutinierenden Wirkungen des Bluteerums und der Lymphe. *Zentralbl Bakteriologie* 1900;27:357–66.
- [3] Landsteiner K. Ueber Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes. *Wien Klin Wochenschr* 1901;14:1132–4.
- [4] Mohr J. A Study of Linkage in Man. Copenhagen: Munksgaard, 1954.
- [5] von Dungern E, Hirschfeld L. Ueber Vererbung gruppenspezifischer Strukturen des Blutes. *Z Immunforsch* 1910;6:284–92.
- [6] Smolarek D, Krop-Wątołek A, Waśniowska K, Czerwiński M. Molekularne podstawy układu grupowego ABO. *Postępy Hig Med Dośw* 2008;62:4–17.
- [7] Nambiar R, Narayanan G, Prakash NP, Vijayalakshmi K. Blood group change in acute myeloid leukemia. *Proc (Bayl Univ Med Cent)* 2017;30(1):74–5.
- [8] Cooling L. Blood groups in infection and host susceptibility. *Clin Microbiol Rev* 2015;28(3):801–70.
- [9] Varki A, Sharon N. Historical background and overview. In: Varki A, Cummings RD, Esko JD, et al., editors. *Essentials of glycobiology*. 2nd edition, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2009.
- [10] Zimring JC, Cadwell CM, Spitalnik SL. Antigen loss from antibody-coated red blood cells. *Transfus Med Rev* 2009;23(3):189–204.
- [11] Bain B. *Leukaemia diagnosis*. Oxford: Blackwell Science, 1999:83.
- [12] Bianco-Miotto T, Hussey DJ, Day TK, O'Keefe DS, Dobrovic A. DNA methylation of the ABO promoter underlies loss of ABO allelic expression in a significant proportion of leukemic patients. *PLoS One* 2009;4(3):e4788.
- [13] Dodd BE, Wood NJ. Elution of group-specific substance A from RBC of various subgroups of A and its effect on the agglutination of AX RBC. *Vox Sang* 1982;43:248–325.
- [14] Roberts GH. Elution Techniques in Blood Bank. *Continuing Education Topics & Issues* 2006;301:28–30.

Wnioski

Na podstawie analizy wcześniejszego wyniku grupy krwi pacjenta i badań uzyskanych w Pracowni Konsultacyjnej w RCKiK w Katowicach na badanych krwinkach czerwonych stwierdzono obecność antygeny A z układu ABO o obniżonej ekspresji.

Wykonane badanie umożliwiło wydanie przez Pracownię Konsultacyjną RCKiK w Katowicach wytycznych dotyczących przetaczania pacjentowi składników krwi. W razie konieczności transfuzji zalecono przetaczanie KKCz grupy O, osocza (*fresh frozen plasma* – FFP) i Koncentratu Krwinek Płytkowych (KKP) grupy A lub AB.

Wkład autorów / Authors' contributions

WD – koncepcja i projekt, zebranie danych, analiza i interpretacja wyników, napisanie pracy

AJ – analiza i interpretacja wyników, zrecenzowanie pod kątem istotnej zawartości intelektualnej

Konflikt interesu / Conflict of interest

Oświadczamy, że konflikt interesów nie istnieje.

Finansowanie / Financial support

Praca nie była finansowana z żadnych środków.

Etyka/Ethics

Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami UE oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.