



Zdravotně  
sociální fakulta  
Faculty of Health  
and Social Sciences

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

**Četnost krevních skupin krevně skupinového systému  
AB0 u pacientek s diagnózou gestační diabetes mellitus**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

Studijní program: **SPECIALIZACE VE ZDRAVOTNICTVÍ**

**Autor:** Petra Dočkalová

**Vedoucí práce:** Mgr. Pavla Moudrá

České Budějovice 2022

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem „Četnost krevních skupin krevně skupinového systému AB0 u pacientek s diagnózou gestační diabetes mellitus“ jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby bakalářské práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé bakalářské práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 03.05.2022

.....

*podpis*

### **Poděkování**

Chtěla bych poděkovat vedoucí práce Mgr. Pavle Moudré za odborné vedení, pomoc, cenné rady, ochotu a trpělivost. Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Olze Dvořáčkové za pomoc a rady při statistickém zpracování dat. Paní doktorce MUDr. Veronice Kopuleté děkuji za konzultace a poskytnuté rady. V neposlední řadě děkuji vrchní laborantce Daně Vaškové v Nemocnici Nové Město na Moravě na Oddělení klinických laboratoří a transfúzní služby za pomoc, ochotu a trpělivost.

# **Četnost krevních skupin krevně skupinového systému AB0 u pacientek s diagnózou gestační diabetes mellitus**

## **Abstrakt**

Bakalářská práce na téma „Četnost krevních skupin krevně skupinového systému AB0 u pacientek s diagnózou gestační diabetes mellitus“ se zaměřuje na problematiku krevních skupin krevně skupinového systému AB0 a gestačního diabetu mellitu. V dnešní době stále roste počet těhotných žen, kterým byl diagnostikován gestační diabetes mellitus. Je to způsobeno hlavně rostoucím věkem rodiček, což je současný trend. Dalším rizikovým faktorem je nadváha, kterou díky nezdravému životnímu stylu trpí čím dál více Čechů a hlavně Češek. Souvislost krevní skupiny v krevně skupinovém systému AB0 s diagnózou gestační diabetes mellitus nebyla v podmínkách České republiky dosud dostatečně prozkoumána. Hlavním cílem bakalářské práce bylo zjistit, jestli existuje souvislost mezi krevními skupinami krevně skupinového systému AB0 a mezi diagnózou gestační diabetes mellitus. Cíl byl splněn. Z výsledků výzkumu vyplývá, že neexistuje souvislost mezi krevními skupinami krevně skupinového systému AB0 a mezi diagnózou gestační diabetes mellitus. Ve výzkumné části bakalářské práce byl získán v rámci laboratorních vyšetření soubor těhotných žen, u kterých byla vyšetřena krevní skupina v krevně skupinovém systému AB0 (tedy A, B, AB a 0). Dále byla u těhotných žen zjišťována diagnóza gestační diabetes mellitus – tedy jestli těhotným ženám byla přiřazena diagnóza gestační diabetes mellitus či nikoliv. Četnosti diagnózy gestační diabetes mellitus u jednotlivých krevních skupin krevně skupinového systému AB0 byly statisticky zhodnoceny například pomocí chí kvadrát testu a Fisherova přesného testu. Výsledky výzkumu bakalářské práce mohou sloužit jako informační zdroj a mohou být využity k dalším výzkumným účelům.

## **Klíčová slova**

Diabetes mellitus; Gestační diabetes mellitus; Krevně skupinový systém AB0; Krevní skupina; Těhotenství

# **Frequency of blood groups at the ABO blood group system in patients diagnosed with gestational diabetes mellitus**

## **Abstract**

The bachelor's thesis „Frequency of blood groups at the ABO blood group system in patients diagnosed with gestational diabetes mellitus“ focuses on the issue of blood groups at the ABO blood group system and gestational diabetes mellitus. Today, the number of pregnant women diagnosed with gestational diabetes mellitus is still growing. This is mainly due to the increasing age of pregnant women, which is the current trend. Another risk factor is an overweight, which more and more Czechs and especially Czech women suffer from, as a result of their unhealthy lifestyle. The context between the blood group at the ABO blood group system and the diagnosis of gestational diabetes mellitus has not yet been sufficiently investigated in the conditions of the Czech Republic. The main aim of the study was to determine whether there is a connection between the blood groups at the ABO blood group system and the diagnosis of gestational diabetes mellitus. The aim has been met. The results of the study show that there is no connection between the blood groups at the ABO blood group system and the diagnosis of gestational diabetes mellitus. In the investigative part of the bachelor's thesis, a set of pregnant women's blood samples was examined in laboratory examinations. The blood group from the blood group system ABO (A, B, AB and O) was identified for each woman. Pregnant women were also examined for diagnosis of gestational diabetes mellitus – that is, whether or not pregnant women were assigned a diagnosis of gestational diabetes mellitus. The frequency of diagnosis of gestational diabetes mellitus at particular blood groups of the ABO blood group system was statistically evaluated, for example, using the chi-square test and Fisher's exact test. The investigative results of the bachelor thesis can serve as an information source and can be used for other investigative purposes.

## **Key words**

Diabetes mellitus; Gestational diabetes mellitus; ABO blood group system; Blood group; Pregnancy

## Obsah

1	Úvod.....	8
2	Základy hematologie, imunoematologie a transfúzního lékařství.....	10
2.1	Úvod do hematologie.....	10
2.1.1	Krvetvorba.....	10
2.1.2	Erytrocyty.....	11
2.1.3	Leukocyty.....	12
2.1.4	Trombocyty.....	14
2.2	Úvod do imunoematologie a transfúzní služby.....	15
2.2.1	Imunita.....	15
2.2.2	Protilátky.....	16
2.2.3	Reakce antigenu s protilátkou.....	17
2.2.4	Imunoematologické testy.....	18
2.2.5	Krevně skupinové systémy.....	19
2.2.5.1	Dědičnost krevních skupin.....	20
2.2.5.2	Dědičnost krevně skupinového systému AB0.....	21
2.2.5.3	Krevně skupinový systém AB0.....	22
3	Diabetes mellitus.....	24
3.1	Diabetes mellitus během těhotenství.....	25
3.1.1	Rizika pro matku.....	27
3.1.2	Rizika pro embryo, fetus a novorozence.....	27
3.1.3	Screening GDM podle České diabetologické společnosti.....	29
3.1.3.1	Doporučený postup z roku 2010 dle IADPSG.....	29
3.1.3.2	oGTT při screeningu GDM.....	30
3.1.4	Léčba diabetu v těhotenství.....	30
4	Laboratorní metody – analýza vzorků.....	32
4.1	Centrifugace.....	32
4.2	Elektrochemické metody, senzory a čipové platformy.....	32
4.3	Stanovení krevních skupin krevně skupinového systému AB0.....	33
5	Cíl práce a hypotézy.....	34
5.1	Cíl práce.....	34
5.2	Hypotézy.....	34
6	Metodika.....	35
6.1	Stanovení glykemie a diagnózy GDM.....	35
6.1.1	Průběh měření na analyzátoru Biosen S line Lab+.....	36

6.1.2	Stanovení diagnózy GDM.....	37
6.2	Vyšetření krevních skupin v krevně skupinovém systému AB0 a Rh.....	38
6.2.1	Postup vyšetření krevních skupin – zkumavková metoda.....	39
7	Výsledky.....	42
7.1	Kontingenční tabulky četností .....	42
7.2	Chí kvadrát test a Fisherův přesný test .....	43
7.3	Výskyt diagnózy GDM u jednotlivých KS krevně skupinového systému AB0.....	43
7.4	Porovnání výskytu diagnózy GDM v rámci jedné KS krevně skupinového systému AB0 v procentech .....	44
7.5	Rozdělení těhotných žen podle KS krevně skupinového systému AB0.....	44
7.6	Výsledky souvislosti diagnózy GDM s ostatními faktory .....	45
7.6.1	Kontingenční tabulky a chí kvadrát test pro krevně skupinový systém Rh .....	45
7.6.2	Kontingenční tabulky a chí kvadrát test pro věk.....	46
8	Diskuse .....	48
9	Závěr.....	50
10	Seznam literatury.....	52
11	Seznam příloh a obrázků .....	55
11.1	Seznam obrázků .....	55
11.2	Seznam příloh .....	55
12	Přílohy .....	56
12.1	Příloha č. 1 – Data těhotných žen .....	56
12.2	Příloha č. 2 – Vyšetření krevních skupin krevně skupinového systému AB0.....	63
12.3	Příloha č. 3 – Vyšetření glykemie.....	68
13	Seznam zkratek.....	70

## 1 Úvod

Gestační diabetes mellitus ohrožuje čím dál více žen díky špatnému životnímu stylu, rostoucímu věku rodiček a díky dalším faktorům. Vysoký věk rodiček je v dnešním moderním světě velice častý. Díky špatnému životnímu stylu trpí ženy čím dál častěji nadváhou, dokonce i obezitou. V České republice má zhruba každá desátá žena nadváhu nebo obezitu. Ovlivňovat diagnózu gestační diabetes mellitus může i genetický faktor. Tzn. existují jak neovlivnitelné, tak i ovlivnitelné faktory, které mohou vést k onemocnění gestační diabetes mellitus (GDM). Později může být ženám s GDM stanovena diagnóza diabetu mellitu 2. typu.

Téma „Četnost krevních skupin krevně skupinového systému AB0 u pacientek s diagnózou gestační diabetes mellitus“ bylo zpracováno na základě vlastní žádosti kvůli tomu, aby se poukázalo na rostoucí počty těhotných žen, které mají diagnostikovaný GDM. Dalším účelem práce je seznámení se s riziky, která hrozí těhotným ženám. Také bude poukázáno na zahraniční výzkumy, které vyhledávají různé rizikové faktory jak onemocnění diabetes mellitus 2. typu, tak i onemocnění GDM. Jedním z hledaných faktorů při těchto výzkumech je vliv krevních skupin krevně skupinového systému AB0. V České republice tento výzkum zatím nikdo neprováděl.

Jedná se o aktuální problematiku, které není, vzhledem k rostoucím počtům těhotných žen s diagnózou GDM, věnována patřičná pozornost.

Hlavním cílem bakalářské práce je zjistit, jestli existuje souvislost mezi krevními skupinami krevně skupinového systému AB0 a mezi diagnózou gestační diabetes mellitus.

Druhá kapitola má za cíl seznámení se základy hematologie, imuno hematologie a transfuzního lékařství. Pro výzkum a provedení jednotlivých vyšetření je nutné se v těchto základech orientovat. Následující kapitola má za úkol bližší vysvětlení tématu diabetu mellitu. Důraz bude nejvíce kladen na gestační diabetes mellitus, jeho rizika, diagnostiku a léčbu. Ve čtvrté kapitole budou podrobněji vysvětleny laboratorní metody, které se využívají při analýze vzorků a které se použijí při výzkumné části bakalářské práce. Imuno hematologické laboratorní metody budou více uvedeny v druhé kapitole.



V praktické části je hlavním úkolem získat dostatečně velký soubor těhotných žen (cca 100). U těchto žen v rámci laboratorních vyšetření bude vyšetřena krevní skupina v krevně skupinovém systému AB0 (tj. A, B, AB a 0). Dále bude u těhotných žen zjišťována diagnóza gestační diabetes mellitus (tj. jestli těhotným byla přiřazena diagnóza gestační diabetes mellitus či nikoliv). Četnosti diagnózy GDM u jednotlivých krevních skupin krevně skupinového systému AB0 budou statisticky vyhodnoceny.

## **2 Základy hematologie, imunohematologie a transfúzního lékařství**

### **2.1 Úvod do hematologie**

Hematologie je vědní obor zabývající se krví a krevtovornými orgány. Zabývá se fyziologickými stavy (tzn. normálními stavy, bez přítomnosti patologie) a nefyziologickými stavy (tzn. patologickými stavy, např. za přítomnosti nemoci) krve, krevních buněk a případně i krevtovorných orgánů (Schmaier a Petruzzelli, 2003; Hillard a Alvin, 2019).

Krev je pro lidský život nezbytná. Je to červená neprůhledná tekutina, která nám proudí v těle, a je hustší než voda. Krev je považována za tkáň, i když je tekutá. Tkáň je nazývána proto, že je to soubor stejných specializovaných buněk, které plní konkrétní funkci (Ajmani, 2020).

Krev se skládá z krevních buněk (krevních elementů) a tekutiny, kterou odborně nazýváme plazma (Hillard a Alvin, 2019; Ajmani, 2020).

Plazma obsahuje 90 % vody (Ajmani, 2020). Zbýlých 10 % tvoří proteiny, aminokyseliny, sacharidy, lipidy, makromolekulární látky a nízkomolekulární látky (Hillard a Alvin, 2019).

Plazma je zhruba 55 % celkového krevního objemu. Krevní objem je definován jako celkové množství krve kolující ve všech tepnách, kapilárách, žilách a v srdečních komorách a síních. Průměrný dospělý člověk má cca 5 litrů krve. Tento objem však závisí na věku, váze, pohlaví a dalších faktorech. Ženy mívají o něco méně krve než muži, ale během těhotenství se objem krve u žen zvyšuje zhruba o polovinu. Děti mají více krve v poměru k váze oproti dospělým (Ajmani, 2020).

Mezi krevní elementy řadíme bílé krvinky (leukocyty), červené krvinky (erytrocyty) a krevní destičky (trombocyty). Mezi leukocyty, které běžně nacházíme v periferní krvi, patří lymfocyty, monocyty, eozinofily, bazofily a neutrofilny. Pro hematopoetický (krevtovorný) systém je charakteristické obměňování a doplňování buněk po celý život organismu (Schmaier a Petruzzelli, 2003; Hillard a Alvin, 2019).

#### **2.1.1 Krvetvorba**

Hematopoéza (krvetvorba, též hemopoéza) probíhá během prenatálního vývoje nejprve ve žloutkovém vaku, poté v játrech a slezině, a nakonec v kostní dřeni. Kostní dřeň je hlavní hematopoetický (krevtovorný) orgán (Penka et al., 2011).

Pluripotentní kmenová buňka (HSC) je prekurzorem pro všechny krevní buňky. Může se tedy diferencovat (přeměnit) v jakoukoliv buňku z obou řad – jak lymfoidní, tak myeloidní. Pak buňka proliferuje (dozrává) v konečnou zralou buňku (např. erytrocyt). HSC jsou v těle ve velmi malém množství. Nejaktivnější jsou během embryonálního vývoje, ale cirkulují i v tělech dospělých – ty využíváme při transplantacích hematopoetických buněk (Hillard a Alvin, 2019).

Nezralé i více zralé kmenové buňky podléhají asymetrickému dělení. To znamená, že jedna buňka dceřiná je stejná jako mateřská kmenová buňka a druhá dále vyzrává. Tento proces se nazývá samoobnovování kmenových buněk. Porucha na úrovni kmenových buněk může vést k patologickým jevům (např. ke dřevným útlumům, myelodysplazii atd.). Kmenové buňky jsou citlivé na růstové faktory. Mezi růstové faktory hematopoézy patří například interleukiny (IL), trombopoetin (TPO), erythropoetin (EPO) a řada dalších. Krvetvorba má u zdravého člověka značné rezervy a v případě potřeby může produkci jednotlivých krevních elementů zvýšit až 10x (Penka et al., 2011).

### **2.1.2 Erytrocyty**

Erytrocyty (RBC, z AJ red blood cells) jsou bezjaderné buňky. Mají bikonkávní tvar (uváděno také jako tvar piškotu) (Schmaier a Petruzzelli, 2003; Penka et al., 2011; Haferlach et al., 2014; Hillard a Alvin, 2019; Keohane et al., 2020).

Hillard a Alvin (2019) tvrdí, že velikost erytrocytu je v průměru 8–10  $\mu\text{m}$ , ale podle Penky et al. (2011) je velikost erytrocytu zhruba 7  $\mu\text{m}$ . Keohane et al. (2020) uvádí velikost erytrocytu 7–8  $\mu\text{m}$ . Život erytrocytů je dlouhý cca 120 dní (Schmaier a Petruzzelli, 2003; Hillard a Alvin, 2019; Keohane et al., 2020).

Erytrocyty obsahují hemoglobin, který se dělí na dvě složky – hem a globin (Penka et al., 2011). Hemoglobin umožňuje přenos dýchacích plynů. Z plic donáší kyslík tkáním a od tkání odvádí oxid uhličitý do plic, kde je následně uvolňován. Absence jádra a velmi pružná membrána umožňují erytrocytům snazší průchod kapilárami (Hillard a Alvin, 2019; Keohane et al., 2020).

Vývoj a dozrávání erytrocytů je řízeno hematopoetickým růstovým faktorem EPO, který je produkován v ledvinách (Penka et al., 2011; Hillard a Alvin, 2019; Keohane et al., 2020). Erytropoéza (tvorba červených krvinek) trvá 4 dny (Schmaier a Petruzzelli, 2003; Hillard a Alvin, 2019).

Během erythropoézy vznikne bezjaderná červená krvinka, která ovšem obsahuje v cytoplazmě RNA (tj. ribonukleovou kyselinu). Tato nová červená krvinka se odborně nazývá retikulocyt a je o trochu větší než starší erythrocyty (Penka et al., 2011; Hillard a Alvin, 2019). RNA v červené krvince zůstává po dobu 1 dne. Normální počet retikulocytů v krvi je  $< 2\%$  (Hillard a Alvin, 2019). U dospělých mužů je v krvi za fyziologického stavu 5 miliónů RBC/ $\mu\text{l}$  a u dospělých žen 4,5 miliónu RBC/ $\mu\text{l}$  (Schmaier a Petruzzelli, 2003; Hillard a Alvin, 2019).

Staré erythrocyty jsou ve slezině vychytávány a díky makrofágům jsou likvidovány (Schmaier a Petruzzelli, 2003; Hillard a Alvin, 2019; Keohane et al., 2020). Hemoglobin je ze starých erythrocytů znovu využit, a to k syntéze nových erythrocytů (Schmaier a Petruzzelli, 2003; Hillard a Alvin, 2019).

### **2.1.3 Leukocyty**

Mezi leukocyty neboli bílé krvinky, které běžně nacházíme v periferní krvi, patří lymfocyty, monocyty, eozinofily, bazofily a neutrofilie. Eozinofily, bazofily a neutrofilie patří do skupiny granulocytů, nazývají se tak kvůli přítomnosti granulí v cytoplazmě (Hillard a Alvin, 2019).

Neutrofilie jsou někdy označovány jako segmenty či segmentované neutrofilie. Názvy vycházejí z faktu, že jádro je obvykle členěno do tří až čtyř laloků/segmentů, které po standardním obarvení mají namodralou barvu (Schmaier a Petruzzelli, 2003; Hillard a Alvin, 2019). Neutrofilie jsou důležité k obraně organismu před bakteriální infekcí. Neutrofilie mají schopnost fagocytózy, kterou využívají právě k likvidaci bakteriálních infekcí. Tuto schopnost označujeme jako nespecifickou buněčnou obranu (Haferlach et al., 2014). Zralé neutrofilie přežívají v krvi cca 12 hodin a v tkáních mohou přežít až několik dní. U dospělých neutrofilie představují 50–80 % všech bílých krvinek (WBC, z AJ white blood cells) v periferní krvi, což odpovídá 4000–10000/ $\mu\text{l}$  (Schmaier a Petruzzelli, 2003; Hillard a Alvin, 2019).

Monocyty jsou velké mononukleární (tzn. nemají členěné jádro jako neutrofilny, bazofily a eozinofily) buňky s jádrem ve tvaru ledviny. Zralé monocyty jsou 1–3 dny v kostní dřeni a poté 7–82 hodin v periferní krvi (Schmaier a Petruzzelli, 2003; Hillard a Alvin, 2019). Funkci mají podobnou jako neutrofilny, tedy slouží k obraně organismu díky své schopnosti fagocytózy (Haferlach et al., 2014; Hillard a Alvin, 2019). Když se dostanou do tkání, mění se v makrofágy, které mají větší schopnost k přežití ve tkáních (Penka et al., 2011; Hillard a Alvin, 2019). Zde dokážou přežít až 80 dní (Hillard a Alvin, 2019).

Makrofágy mají také schopnost extravazální (mimocévní) fagocytózy – tzn. umí pohlcovat patogeny a zbytky rozpadlých buněk (Haferlach et al., 2014; Hillard a Alvin, 2019). Destruují i vlastní staré buňky a tím se podílí na protinádorové obraně (Haferlach et al., 2014).

Eozinofily neboli eozinofilní granulocyty jsou charakteristické svými oranžovočervenými (medově hnědými) granuly. Často mívají dvoulaločné jádro připomínající činku. Jestliže je v periférii zvýšený počet eozinofilů, může to být v důsledku reakce na cizí protein – tzn. eozinofily reagují na parazitické infekce. Typické parazitické infekce jsou způsobeny např. helminty a škrkavkami (Schmaier a Petruzzelli, 2003; Hillard a Alvin, 2019). Na parazity působí přímo – cytotoxicky (Haferlach et al., 2014). Eozinofily jsou zvýšené při alergické reakci, rakovině a při požití některých léků. Za normálních stavů eozinofily tvoří 0–2 % z celkového počtu WBC (Schmaier a Petruzzelli, 2003; Hillard a Alvin, 2019).

Bazofily neboli bazofilní granulocyty obsahují velmi tmavá namodralá granula, která často překrývají jádro (Penka et al., 2011; Hillard a Alvin, 2019). Granula obsahují histamin, heparin a hyaluronovou kyselinu. Histamin se z granulí uvolňuje během alergické reakce (bazofilní degranulace). Za normálních stavů bazofily představují 0–1 % celkového počtu WBC (Schmaier a Petruzzelli, 2003; Hillard a Alvin, 2019). V různých tkáních se z bazofilů mohou stát mastocyty neboli žírné buňky, které mají podobnou úlohu jako bazofily v periferní krvi (Hillard a Alvin, 2019). Vyplavením heparinu, serotoninu a histaminu ovlivňují cirkulaci. Díky těmto látkám se zvyšuje cévní permeabilita (tzn. propustnost) a řídí se přívod krve k ostatním buňkám, které se účastní zánětlivé reakce (Haferlach et al., 2014). Mastocyty se také účastní reakcí proti parazitům (Schmaier a Petruzzelli, 2003; Hillard a Alvin, 2019).

Lymfocyty se nejčastěji nachází v lymfatických uzlinách, ale velké množství je i v periferní krvi a částech kostní dřeně (Hillard a Alvin, 2019). Jsou součástí získané imunity. Dělíme je na dvě hlavní skupiny – B lymfocyty a T lymfocyty (Haferlach et al., 2014; Hillard a Alvin, 2019). NK (z AJ natural killer) buňky, též přirození zabíječi, jsou specializovaná populace lymfocytů, kterých je cca 10 % ze všech lymfocytů (Hillard a Alvin, 2019). T lymfocyty tvoří cca 70 % veškerých lymfocytů a B lymfocyty tvoří cca 20 % všech lymfocytů (Haferlach et al., 2014). Všechny buňky vznikají v kostní dřeni. Následné zrání T lymfocytů probíhá v thymu (brzlíku) a B lymfocyty plně dozrávají v lymfatických uzlinách, slezině nebo dalších lymfatických tkáních (Hillard a Alvin, 2019). B lymfocyt se může dále diferencovat v plazmatickou buňku, která má schopnost produkovat protilátky (Schmaier a Petruzzelli, 2003).

#### **2.1.4 Trombocyty**

Trombocyty vznikají z megakaryocytů v kostní dřeni a to tak, že jsou trombocyty odškrcovány z cytoplazmy zralých megakaryocytů, které se dále nedělí, pouze se stanou polyploidní (tzn. dochází ke zmnožení genomu v jádře) (Penka et al., 2011; Haferlach et al., 2014; Hillard a Alvin, 2019).

Růst megakaryocytů a následná segmentace trombocytů je řízena růstovým faktorem TPO. Megakaryocyty v kostní dřeni poznáme díky své velikosti – jak již napovídá název (mega = velký), jsou to největší buňky v této vývojové řadě (Penka et al., 2011; Hillard a Alvin, 2019). Dosahují průměru asi 40–60  $\mu\text{m}$  (Penka et al., 2011).

Dozrávání megakaryocytu trvá cca 5–10 dní. Z jednoho megakaryocytu může být uvolněno 1000–5000 trombocytů. Trombopoetin reguluje také počet trombocytů v periferní krvi. Trombopoetin je shodný ve 20 % svého složení s erythropoetinem a mají společný genetický původ. Další regulační proteiny (např. interleukiny IL-3, IL-6 a IL-11) pouze TPO doplňují, ale nejsou schopny nahradit jeho řídicí funkci (Penka et al., 2011).

Trombocyty jsou bezjaderné buňky, které obsahují mRNA (mediátorová ribonukleová kyselina, z AJ messenger RNA). Jejich životnost je 7–10 dnů, z toho první 1–2 dny stráví ve slezině (Hillard a Alvin, 2019).

Vychytávání starých a poškozených trombocytů nebo trombocytů s navázanými autoprotílátkami má za úkol právě slezina. Likvidaci starých trombocytů mají na starosti také játra a kostní dřeň (Penka et al., 2011).

Trombocyty mají jednu z hlavních rolí při hemostáze (tj. při zástavě krvácení), protože mimo jiné jejich granula obsahují hemostatické kofaktory a inhibitory (Haferlach et al., 2014).

## ***2.2 Úvod do imunohematologie a transfúzní služby***

Na začátku 20. století Karl Landsteiner, rakouský vědec, objevil ve svém pokusu se složkami krve aglutinaci (tzn. sraženinu). Pokus prováděl s erytrocyty od jednoho jedince a se sérem od jiného jedince. Tímto experimentem zjistil, že krev se dá rozdělit do různých skupin podle těchto základů aglutinace. Díky tomuto objevu vznikl první systém třídění krevních skupin (KS) a Karl Landsteiner za jeho objev získal Nobelovu cenu (jednalo se o krevně skupinový systém AB0). Postavil tak základy praktické imunohematologie (Řeháček et al., 2013; Ajmani, 2020).

Imunohematologie se zabývá antigeny krevních skupin a protilátkami. Imunohematologie a imunologie spolu těsně souvisí – imunohematologie zahrnuje například imunitní odpověď na transfuzi (Blaney a Howard, 2013). Souhrnně to znamená, že imunohematologie řeší imunologické vlastnosti krve (Ajmani, 2020).

### ***2.2.1 Imunita***

Imunitní systém (IS) slouží organismu k obraně proti cizorodým molekulám. Základní funkce imunitního systému jsou obranyschopnost, imunitní dohled a autotolerance (Penka et al., 2012). To znamená, že imunitní systém má za úkol rozpoznání nebezpečných podnětů (cizorodých molekul) od neškodných a musí také na ně adekvátně reagovat (Delves et al., 2017; Bartůňková a Šedivá, 2021). Imunitu dělíme na přirozenou a získanou (Penka et al., 2012; Delves et al., 2017; Bartůňková a Šedivá, 2021). Kooperace mechanismů mezi přirozenou a získanou imunitou je důležitá pro správné fungování imunitního systému (Bartůňková a Šedivá, 2021).

Přirozená imunita (též je označována jako nespecifická či vrozená) reaguje na různé antigeny (tzn. substance, na které reaguje imunitní systém) během několika minut až hodin (Penka et al., 2012; Bartůňková a Šedivá, 2021). Při tomto mechanismu nevznikají žádné protilátky (tzn. specifické proteiny, které vznikly jako odpověď imunitního systému na antigen; produkty specifické odpovědi) (Penka et al., 2012).

Získaná (také nazývána jako specifická či adaptivní) imunita je pomalejší než přirozená imunita. Tato část imunity je antigenně specifická a reakce probíhá až v řádu dnů. Pro mechanismus získané imunity je typický vznik protilátek a buňky IS reagují na antigen pouze, když mají určitý receptor charakteristický pro tento antigen (Penka et al., 2012). Získaná imunita má schopnost imunologické paměti (Penka et al., 2012; Delves et al., 2017; Bartůňková a Šedivá, 2021).

### 2.2.2 Protilátky

Protilátky (též imunoglobuliny) jsou obsaženy v plazmě nebo séru (Penka et al., 2012). Vznikají jako reakce na imunogen (tzn. substanci, která vyvolává imunitní odpověď – antigen) (Penka et al., 2012; Blaney a Howard, 2013). Protilátka reaguje jen se specifickým antigenem (Penka et al., 2012; Delves et al., 2017). Antigen a protilátka se k sobě váží na základě pravidla komplementarity (někdy se označuje jako pravidlo „klíče a zámku“) v místech, která se nazývají variabilní domény. Proti určité části antigenu (epitopu) vzniká několik druhů imunoglobulinů, každý druh protilátky kopíruje povrch epitopu jinak (Penka et al., 2012).

Protilátky mohou na sebe vázat komplement (jedná se o důležitou složku imunity, která má více funkcí) (Penka et al., 2012; Delves et al., 2017). Tím mohou způsobit lýzu (tzn. destrukci, rozklad, „prasknutí“) buněk. Protilátky se mohou navázat na jiné buňky, které mají pro určitou protilátku receptor, a tím aktivují jejich činnost (Penka et al., 2012).

Protilátka se skládá ze dvou lehkých a ze dvou těžkých řetězců (Blaney a Howard, 2013; Bartůňková a Šedivá, 2021). Tyto řetězce jsou propojeny disulfidickými vazbami (Blaney a Howard, 2013). Řetězce obsahují části variabilní (*Fab* – antigen vázající fragment, z AJ fragment antigen binding) a konstantní (*Fc* – z AJ fragment crystallizable) (Blaney a Howard, 2013; Delves et al., 2017; Bartůňková a Šedivá, 2021).

V těžkých řetězcích jsou aminokyseliny, podle kterých můžeme protilátky rozdělit do pěti tříd. Do těchto tříd patří izotypy (tzn. skupiny či druhy protilátek) IgG (imunoglobuliny třídy G), IgM (imunoglobuliny třídy M), IgD (imunoglobuliny třídy D), IgE (imunoglobuliny třídy E) a IgA (imunoglobuliny třídy A) (Blaney a Howard, 2013; Delves et al., 2017). V imunohematologii se nejvíce uplatňují protilátky IgM a IgG (Blaney a Howard, 2013).



Protilátky patřící do skupiny IgG se vyskytují jako monomery (tzn. „složené z jedné části“, více monomerů může vytvořit tzv. polymer, jedná se o nízkomolekulární látku) (Penka et al., 2012). Jako jediné umí přejít přes placentu do krevního oběhu plodu (Penka et al., 2012; Blaney a Howard, 2013). IgG protilátky jsou někdy označovány jako inkompletní protilátky, toto označení je běžně používané v praxi, z hlediska imunologie není ale moc přesné. Takové označení vyjadřuje akorát schopnost protilátek aglutinovat erythrocyty – v tomto případě je k aglutinaci a průkazu protilátek potřeba „popíchnutí“ (Penka et al., 2012).

IgM protilátky jsou ve formě polymerů, konkrétně jedna molekula protilátky IgM tvoří pentamer (tzn. je složena z pěti částí). Tyto protilátky mají vysokou lytickou schopnost (Penka et al., 2012; Blaney a Howard, 2013). Příkladem je hemolýza po podání ABO inkompatibilní transfuze. Jedná se o skupinu protilátek, která je často označována jako kompletní protilátky, toto označení běžně používané v praxi není ale úplně přesné (viz výše – inkompletní protilátky). Kompletní protilátky mají schopnost přímé aglutinace (tzn. nepotřebují žádné „popíchnutí“, aby aglutinace probíhala) (Penka et al., 2012).

### **2.2.3 Reakce antigenu s protilátkou**

Antigeny a protilátky se k sobě vážou nekovalentními vazbami (tzn. slabé vazby, fungují jen na krátkou vzdálenost a jsou vratné, patří mezi ně např. vodíkové můstky a van der Waalsovy síly) (Penka et al., 2012).

Důležitá je specifická reakce, což je schopnost protilátky reagovat jen s jedním epitopem (tzn. částí antigenu, na který se váže protilátka) (Blaney a Howard, 2013).

Reakci antigenu s protilátkou ovlivňuje spousta faktorů. Mezi hlavní patří např. teplota (Penka et al., 2012; Ajmani, 2020). Klinicky významné protilátky reagují nejlépe s antigenem většinou při teplotě 37 °C. Výjimku tvoří ABO protilátky, které se při větší teplotě mohou uvolnit z vazby na antigen – toho se využívá při některých diagnostických testech, jako je např. eluční test (Penka et al., 2012).

Dalším ovlivňujícím faktorem je poměr množství antigenu a protilátky, který musí být vyvážený. Tento poměr má vliv na množství vznikajících imunokomplexů (spojení antigenu s protilátkou) (Blaney a Howard, 2013; Ajmani, 2020).

Důležité je i pH prostředí (Ajmani, 2020). Pro různé protilátky je odlišné. Nízké pH způsobuje odloučení protilátky z komplexu s antigenem. U většiny testů se používá prostředí s hodnotou pH okolo 7 – tzn. hodnota okolo fyziologické hodnoty pH organismu (Blaney a Howard, 2013).

#### **2.2.4 Imunohematologické testy**

Imunohematologické testy jsou založeny na principu aglutinace – též aglutinační reakce (Penka et al., 2012). Napřed dochází k propojení erytrocytárního antigenu s protilátkou. Tento stav nazýváme senzibilace erytrocytu (Blaney a Howard, 2013; Ajmani, 2020). Tato fáze aglutinace není pozorovatelná (Blaney a Howard, 2013). Aby došlo k hemaglutinaci (tj. aglutinaci červených krvinek), tak je potřeba, aby se protilátka na senzibilizovaném erytrocytu navázala na další erytrocyt (Penka et al., 2012; Blaney a Howard, 2013).

Díky aglutinaci je možné vyšetřovat antigeny na erytrocytech i protilátky proti erytrocytům v séru či plazmě (Blaney a Howard, 2013). V laboratořích se pro vyšetření erytrocytárních antigenů v krevně skupinovém systému ABO pomocí aglutinace využívají antiséra (anti-A, anti-B, anti-AB) (Moulds et al., 2011).

Protilátky uplatňující se v přímé aglutinaci jsou schopné překlenout vzdálenost mezi erytrocyty a *Fab* fragmenty protilátky, tím se spojí antigeny na sousedních erytrocytech (Penka et al., 2012). Přímá aglutinace je typická pro protilátky třídy IgM, ovšem jsou známy i IgG protilátky, které jsou schopné přímo aglutinovat erytrocyty (Moulds et al., 2011; Blaney a Howard, 2013).

IgG protilátky přímo aglutinují erytrocyty zejména v případě, kdy mají erytrocyty velký počet antigenních míst, která jsou umístěna blízko sebe, a tím se podaří poměrně malé molekule IgG propojit sousedící erytrocyty. Mezi IgG protilátky, které se využívají při přímé aglutinaci, patří například anti-A a anti-B (Penka et al., 2012). Přímé aglutinace se využívá při vyšetření antigenů krevních skupin (Moulds et al., 2011; Blaney a Howard, 2013). Principu aglutinace se hojně využívá například u vyšetřování vzorků pacientů před transfuzemi, u dárců krve atd. (Blaney a Howard, 2013).

Aglutinační testy se provádějí nejčastěji zkumavkovým testem, sklíčkovou metodou, metodou pevné fáze nebo technikou sloupcové aglutinace (Penka et al., 2012; Blaney a Howard, 2013). Při hodnocení zkumavkového testu se nejčastěji používá stupnice 0 až ++++ (slovně hodnotíme pozitivitu na kříže, nikoliv na plus; 0 – bez aglutinace; + – erytrocyty vytvořily malé a střední shluky, pozadí je kalné a plné volných erytrocytů; ++ – hodně středních shluků, pozadí je čiré; +++ – hodně velkých shluků, čiré pozadí; ++++ – erytrocyty vytvořily jeden pevný shluk, pozadí je čiré). (Blaney a Howard, 2013).

Pro stanovení množství protilátky se využívá titrační test, při kterém se sériově ředí vzorek, ve kterém se vyšetřují protilátky (Moulds et al., 2011; Blaney a Howard, 2013). Ke každému ředění séra se přidává vždy stejné množství antigenu. Nejvyšší ředění, při kterém ještě došlo k aglutinaci, označujeme jako titr. (Penka et al., 2012).

Nejdůležitějšími testy v imunohematologii jsou testy antiglobulinové (též AGH testy nebo Coombsovy testy) (Moulds et al., 2011; Blaney a Howard, 2013). Používají se k průkazu protilátek, které nejsou schopné přímo aglutinovat erytrocyty (Penka et al., 2012). Antiglobulinový test může být přímý (PAT) nebo nepřímý (NAT) (Moulds et al., 2011; Blaney a Howard, 2013). Přímý antiglobulinový test se používá k průkazu senzibilizovaných erytrocytů protilátkou v organismu (Moulds et al., 2011; Ajmani, 2020). Nepřímý antiglobulinový test detekuje protilátky proti erytrocytům (Moulds et al., 2011; Penka et al., 2012).

Enzymové testy lze použít k průkazu senzibilizujících protilátek (Blaney a Howard, 2013). V imunohematologii se používá i řada dalších testů, které jsou například založené na metodě průtokové cytometrie. Ovšem s ohledem na jejich složitost provedení a velké finanční náklady se používají jen zřídka. Do imunohematologie začaly pronikat metody molekulárně-genetické, které například usnadňují zjištění rizika hemolytického onemocnění novorozence (Penka et al., 2012).

### **2.2.5 Krevně skupinové systémy**

V současné době se rozlišuje kolem třiceti různých krevně skupinových systémů (Moulds et al., 2011; Řeháček et al., 2013). Dělí se podle toho, zda se na erytrocytu nachází nebo nenachází určitý antigen (antigeny) – tyto antigeny krevně skupinových systémů mohou být zakomponované do membrány erytrocytů, ale mohou se nacházet i na jiných buňkách (Friedman et al., 2016).

Antigeny krevně skupinových systémů mohou zastávat různé funkce (např. strukturální, transportní...) (Penka et al., 2012). Krevní skupina krevně skupinového systému každého jedince je tedy závislá na přítomnosti specifických antigenů (Panczak a Otová, 2013).

Mezi nejdůležitější krevně skupinové systémy patří ABO systém, Rh systém, Kell systém, Duffy systém, Kidd systém, Lewis systém, Lutheran systém, P systém a MNS systém (Řeháček et al., 2013; Friedman et al., 2016). Krevně skupinové systémy můžeme ještě rozdělit do dvou skupin podle toho, zda si tělo vytváří protilátky proti určitým erytrocytárním antigenům ze třídy protilátek IgG nebo IgM. Do IgG skupiny patří například krevně skupinový systém Duffy, Kell, Kidd a Rh. Do skupiny IgM řadíme například krevně skupinový systém Lewis (Friedman et al., 2016). Krevně skupinový systém ABO má nejčastěji protilátky ve třídě IgM, ale i ve třídě IgG, ale mohou se objevovat i ve třídě IgA (Penka et al., 2012).

Prvním nejvýznamnějším krevně skupinovým systémem je ABO systém (viz dále). Druhým nejvýznamnějším krevně skupinovým systémem je Rh systém (Moulds et al., 2011; Panczak a Otová, 2013; Řeháček et al., 2013). K nejznámějším antigenům Rh systému patří antigeny D, C, c, E a e. Ovšem bylo objeveno přes padesát antigenů, které náleží do tohoto systému. Jedinci, u kterých je potvrzen (nalezen) antigen D na erytrocytech, jsou RhD pozitivní. Jedinci, u kterých antigen D chybí, jsou RhD negativní (Moulds et al., 2011; Panczak a Otová, 2013).

#### **2.2.5.1 Dědičnost krevních skupin**

Antigenní charakter erytrocytů se dědí (tzn. přenáší se genetické informace/vlohy/znaky z generace na generaci) (Panczak a Otová, 2013; Meo et al., © 2016; Ajmani, 2020). V DNA (tj. nukleová kyselina – přesněji deoxyribonukleová kyselina, nositelka dědičnosti) každého jedince je zabudovaná informace pro tvorbu antigenů (Panczak a Otová, 2013; Ajmani, 2020).

23 párů chromozomů tvoří genetickou výbavu člověka. Jeden pár chromozomů určuje pohlaví. U žen to je XX a u mužů XY. Dalších 22 párů chromozomů jsou autozomy. Gen je úsek molekuly DNA. Gen je umístěn na specifickém místě v tzv. lokusu (tzn. na přesném jednom místě na určitém chromozomu) (Panczak a Otová, 2013). Přenos alel z generace na generaci je řízen základními Mendelovými pravidly dědičnosti (Penka et al., 2012).

### 2.2.5.2 *Dědičnost krevně skupinového systému AB0*

Antigenní strukturu u všech krevních skupin krevně skupinového systému AB0 (tzn. co je běžně vyšetřováno v imuno hematologických laboratořích) nazýváme fenotyp (tj. soubor pozorovatelných vlastností a znaků, „projev“ genotypu) (Moulds et al., 2011; Ajmani, 2020). Erytrocyt reaguje s odpovídající protilátkou – tzn. že antigeny AA nebo A0 na erythrocytech reagují stejně s anti-A protilátkou. Obě skupiny erythrocytů jsou označovány za skupinu A (Ajmani, 2020). Genotyp (tj. soubor všech genů organismu) je zodpovědný za fenotyp (Moulds et al., 2011; Ajmani, 2020). Genotyp krevních skupin se zjišťuje z rodokmenu – tzn. sledováním krevních skupin v historii rodiny (Ajmani, 2020). Antigeny krevně skupinového systému AB0 nejsou přímým produktem genu (na rozdíl od jiných krevně skupinových systémů) (Moulds et al., 2011).

Antigeny krevně skupinového systému AB0 jsou zakódované v jednom lokusu (tzn. na přesném jednom místě na určitém chromozomu), který se označuje jako AB0 lokus. AB0 lokus má tři formy – A, B a 0 (Panczak a Otová, 2013; Masopust a Písačka, 2016; Ajmani 2020). Potomek zdědí od každého z rodičů jednu alelu (ze tří možných forem). Díky tomu vzniká 6 možných genotypů a 4 možné krevní skupiny (fenotypy). U krevní skupiny 0 je možný pouze jeden genotyp – 00. Krevní skupina A má dva genotypy – AA nebo A0. Krevní skupina B má také dva genotypy – BB nebo B0. Krevní skupina AB má pouze jeden genotyp – AB (Ajmani, 2020). V evropské populaci se vyskytuje krevní skupina A přibližně s četností 0,42 (42 %); B 0,12 (12 %); AB 0,08 (8 %) a skupina 0 s četností 0,38 (38 %) (Panczak a Otová, 2013; Masopust a Písačka, 2016).

AB0 lokus se nachází na 9. chromozomu (Panczak a Otová, 2013; Meo et al., © 2016; Ajmani, 2020). Geny kódující antigeny A a B jsou dominantní (tzn. tyto geny se projeví ve fenotypu, recesivní geny jsou potlačeny) nad 0. Antigeny A a B jsou vůči sobě kodominantní (tzn. tyto geny jsou na stejné úrovni, ve fenotypu se projeví oba geny rovnocenně, navzájem se neovlivňují) – jejich fenotypový projev je tedy krevní skupina AB. Každý jedinec má dvě kopie genu, který kóduje určitou krevní skupinu v krevně skupinovém systému AB0 (jednu maternální – dědí se od matky, a jednu paternální – dědí se od otce) (Penka et al., 2012; Panczak a Otová, 2013; Ajmani, 2020).

Molekuly antigenů A a B jsou skoro stejné – liší se jen v cukerném zbytku na konci řetězce. U antigenu A je posledním připojeným N-acetyl-galaktosamin. U antigenu B je to galaktosa. Připojené cukerné zbytky na konci řetězce tak představují různé epitopy. Jsou také příčinou toho, že jsou obě molekuly rozpoznávány jako různé antigeny. Produktem alely 0 je inaktivní krátký protein, který není schopen přenášet žádný cukerný zbytek (Panczak a Otová, 2013).

### **2.2.5.3 Krevně skupinový systém AB0**

V roce 1901 Karl Landsteiner objevil a rozlišil tři krevní skupiny krevně skupinového systému AB0 (krevní skupiny A, B, C – později změněno na A, B a 0) (Penka et al., 2012; Řeháček et al., 2013; Ajmani, 2020). Za dva roky od objevu tří krevních skupin byla objevena i poslední krevní skupina – a to AB (Penka et al., 2012). Tento objev náleží rakouským vědcům A. van Descatellovi a A. Sturlimu (kolegové K. Landsteiner). Roku 1907 nezávisle na nich popsal český psychiatr Jan Janský 4 krevní skupiny. Jako vedlejší produkt své práce ale odhalil, že populace se dá rozdělit do čtyř skupin na základě aglutinačních vlastností jejich séra. Janský používal označení I, II, III a IV (v pořadí 0, A, B a AB) (Řeháček et al., 2013).

Dále bylo rozpoznáno chemické složení AB0 antigenů, způsob jejich dědičnosti atd. Krevně skupinový systém AB0 se tak stal nejvýznamnějším systémem krevních skupin (Penka et al., 2012). Při určování krevní skupiny v krevně skupinovém systému AB0 s použitím testovacích antisér byla zaznamenána různě silná hemaglutinační reakce (Panczak a Otová, 2013). Skupiny A a B tak byly rozděleny do 11 podskupin. Rozdíly mezi nimi jsou kvantitativní (tzn., že podskupiny se liší množstvím antigenů na povrchu erytrocytu). Nejčastější jsou podskupiny A1 a A2 (zastoupení v České republice: 80 % A1, 20 % A2). Ostatní podskupiny jsou spíše vzácné (Panczak a Otová, 2013; Masopust a Písačka, 2016).

Ve třicátých letech 20. století se sjednotilo označování krevních typů A, B, AB a 0. V některých jazycích, mimo jiné v angličtině, se používá zápis ABO s písmenem O (z němčiny „Ohne A und B“ – česky znamená „bez A a B“), v jiných jazycích (například v češtině) se používá zápis AB0 (Řeháček et al., 2013).

Oproti ostatním systémům je charakterizován jedinečnou vlastností – existencí přirozených protilátek vytvořených po narození na základě imunizačního působení antigenů zevního prostředí proti antigenu, který není na krvinkách dané osoby. Protilátky se vytvářejí v plazmě (Řeháček et al., 2013; Masopust a Písačka, 2016). Protilátky jsou třídy IgM u osob bez imunizace erytrocyty. U osob imunizovaných těhotenstvím nebo „jinoskupinovou“ transfuzí mohou vzniknout protilátky třídy IgG, pak se ale nejedná o protilátky přirozené, ale imunní (Řeháček et al., 2013).

Jednotlivé krevní skupiny AB0 systému jsou tedy charakterizovány přítomností antigenů na erytrocytech a protilátek v séru (Řeháček et al., 2013; Ajmani 2020).

Převod AB0 inkompatibilních (nevhodné pro příjemce) přípravků může mít za následek potenciálně fatální akutní hemolytickou posttransfuzní reakci (může dojít až ke smrti). K této reakci dochází hlavně v situaci „velké AB0 inkompatibility“ – podání erytrocytových koncentrátů s antigeny, proti kterým má příjemce protilátky. U „malé inkompatibility“ (destrukce erytrocytů příjemce protilátkami transfuzního přípravku) jsou závažné případy akutní hemolytické reakce vzácnější (Penka et al., 2012; Řeháček et al., 2013).

V minulosti proběhl výzkum, který zjišťoval, jestli existuje souvislost mezi krevní skupinou krevně skupinového systému AB0, Rh systémem a mezi onemocněním diabetes mellitus 2. typu. Výsledky přinesly poznatek, že lidé s krevní skupinou B jsou vystaveni vysokému riziku, zatímco lidé s krevní skupinou 0 jsou vystaveni nízkému riziku rozvoje diabetu mellitu 2. typu. Lidé s krevní skupinou B by proto měli být pečlivě sledováni. Nebyla zjištěna žádná souvislost s Rh faktorem.

Během dalších výzkumů bylo dokázáno, že krevně skupinový systém AB0 je spojen s některými onemocněními včetně žaludečního a duodenálního (tj. dvanáctníkového) vředu, hepatitidou B, cévních onemocnění, břišních aneurysmat (tj. výdutí, ohraničených rozšíření tepny) aorty a rakoviny (Meo et al., © 2016).

V roce 2015 proběhly dva zahraniční výzkumy, kdy jeden tvrdí, že krevní skupina AB krevně skupinového systému AB0 má zvýšené riziko rozvoje gestačního diabetu mellitu (tento výzkum probíhal v Turecku) (Karagoz et al., 2015; Meo et al., © 2016). Druhý výzkum tvrdí, že krevní skupina AB působí jako ochranný faktor před rozvojem gestačního diabetu mellitu (tento výzkum probíhal v Číně) (Zhang et al., 2015; Meo et al., © 2016).

### 3 Diabetes mellitus

Diabetes mellitus (DM) je onemocnění, které ohrožuje stále více lidí (Štechová et al., 2014; Kudlová, 2015; Binder, 2020). Očekávalo se, že v roce 2022 by měl počet diabetiků v ČR (České republice) překročit 10 % populace (Kudlová, 2015). Počet evidovaných diabetiků stále roste, ale zdá se, že v letech 2016 a 2017 se nárůst velice zpomalil. I přesto hrozí, že v blízké době bude každý desátý občan léčen pro DM (Pelikánová et al., 2018). Lidé jsou ohroženi zejména v rozvinutých zemích. DM je i jednou z nejčastějších těhotenských komplikací (Binder, 2020).

Slovo diabetes pochází z řečtiny a znamená uplynout/odtékat – český výraz pro diabetes je úplavice a vyjadřuje příčinu smrti neléčeného diabetika (těžkou dehydrataci) (Kudlová, 2015). V roce 1674 si anglický lékař Thomas Willis všiml sladké chuti moči u pacientů trpících DM, nařídil proto ochutnávání moči a obohatil termín diabetes o slovo mellitus (z latiny výraz pro med). V roce 1869 Paul Langerhans objevil ostrůvky pankreatu (tzn. slinivky břišní), jejich rozdělení na alfa buňky a beta buňky bylo objeveno až v roce 1907 (Škrha et al., 2009). V roce 1909 bylo zjištěno, že některé z těchto buněk by mohly tvořit hormon, který snižuje glykemii (tzn. koncentraci glukózy v krvi) a byl pojmenován jako inzulin (z latiny „insula“ – ostrov). Později bylo prokázáno, že inzulin produkují betabuňky Langerhansových ostrůvků (Kudlová, 2015; Pelikánová et al., 2018).

DM je syndrom porušené látkové přeměny sacharidů, tuků a bílkovin (Hájek et al., 2014; Kudlová, 2015; Pelikánová et al., 2018). Patofyziologické děje, které k onemocnění vedou, obecně využíváme ke klasifikaci diabetu (Škrha et al., 2009; Binder, 2020). Diabetes mellitus 1. typu je charakterizován absolutním nedostatkem inzulinu (Kudlová, 2015; Pelikánová et al., 2018; Binder, 2020). Naopak pro diabetes 2. typu je typická defektní sekrece inzulinu nebo inzulinová rezistence – je to také typické pro většinu pacientek s gestačním diabetem (viz dále) (Škrha et al., 2009; Hájek et al., 2014; Štechová et al., 2014; Pelikánová et al., 2018). Během těhotenství dochází ke zvýšené produkci reprodukčních hormonů a řada z nich (jako je např. progesteron, kortizol, tumor nekrotizující faktor alfa, lidský placentární laktogen) zvyšuje produkci glukózy nebo může vyvolat inzulinovou rezistenci (Škrha et al., 2009; Kudlová, 2015).



Diagnóza diabetu nemůže být stanovena pouze z klinických příznaků, protože se různě mění a vyvíjí (Kudlová, 2015). Diagnostika je založena na průkazu hyperglykemie (tj. zvýšené koncentrace glukózy v krvi), která je také základním rysem onemocnění DM. Měření glykemie pro diagnostiku DM se provádí z žilní krve – konkrétně z plazmy (tzn. potřebujeme nesrážlivou krev) (Škrha et al., 2009; Haluzík et al., 2013; Pelikánová et al., 2018). Pro diagnostiku se nesmí používat měření pomocí glukometru v kapilární krvi, také nelze použít glykovaný hemoglobin. Při nejednoznačném výsledku (diagnóza není jednoznačně potvrzena nálezem koncentrace glukózy v plazmě nalačno, je opakovaně v rozmezí 5,6–6,9 mmol/l) se provádí orální glukózový toleranční test (oGTT) (Kudlová, 2015; Pelikánová et al., 2018). Normální glykemie nalačno má hodnoty 3,8–5,5 mmol/l. Normální glukózová tolerance (tj. při vyšetření oGTT – ve 120. minutě) je při normální glykemii nalačno < 7,8 mmol/l (Štechová et al., 2014; Kudlová, 2015; Pelikánová et al., 2018).

Komplikace DM jsou různorodé. Akutní komplikací DM (vzniká náhle) je např. hypoglykemické kóma (hypoglykemie – snížená koncentrace glukózy v krvi) (Škrha et al., 2009; Kudlová, 2015). Mezi chronické komplikace DM patří např. retinopatie (tj. onemocnění sítnice, kde dochází k poškození cév, které sítnici vyživují), diabetické onemocnění ledvin, syndrom diabetické nohy (následek poškození nervů – neuropatie, cév – angiopatie, dochází k destrukci hlubokých tkání) (Škrha et al., 2009; Štechová et al., 2014; Mohan a Unnikrishnan, 2016; Pelikánová et al., 2018). Často se u diabetiků vyskytují uroinfekce (tj. infekce močových cest) a i kožní infekce (Kudlová, 2015; Pelikánová et al., 2018).

### **3.1 *Diabetes mellitus během těhotenství***

Klasifikace diabetu během těhotenství vychází z toho, zda byl diabetes znám již před těhotenstvím (pak se diabetes označuje jako preexistující) nebo zda byla diagnóza stanovena až v průběhu těhotenství (gravidity) (pak se diabetes označuje jako gestační) (Haluzík et al., 2013; Hájek et al., 2014; Roztočil et al., 2020). Je také podstatné, jestli je onemocnění komplikováno nějakým orgánovým postižením. Riziko vzniku většiny komplikací je přímo úměrné míře kompenzace diabetu (Binder, 2020).

Klasifikace diabetu v těhotenství podle WHO (Světová zdravotnická organizace – z AJ World Health Organization) z roku 1998 je rozdělena následovně: pregestační („předtěhotenský“, preexistující) diabetes mellitus – sem řadíme DM 1. typu bez komplikací, DM 1. typu s komplikacemi, DM 2. typu bez komplikací, DM 2. typu s komplikacemi. Druhou skupinou je gestační diabetes mellitus (GDM). Třetí skupina zahrnuje sekundární (tj. získaný) diabetes, MODY (MODY – maturity-onset diabetes of the young, česky „diabetes mellitus u mladých lidí s časným začátkem“), pooperační, diabetes při jiné endokrinopatii. Klasifikace obsahuje také skupinu gestační diabetes v předchozích těhotenstvích (Hájek et al., 2004; Pelikánová et al., 2018; Binder, 2020).

Gestační diabetes mellitus je definován jako porucha glukózové tolerance různého stupně, která se objevila nebo byla prvně zjištěna během těhotenství (Kudlová, 2015; Binder, 2020; Ray, 2020; Kerr, 2022). GDM většinou po porodu odeznívá (Haluzík et al., 2013; Hájek et al., 2014; Pelikánová et al., 2018; Ray, 2020). Ovšem je vyšší riziko vzniku DM 2. typu do 10 let (Pelikánová et al., 2018; Kerr, 2022). Příčinou GDM je rostoucí inzulinová rezistence (je sice fyziologická, ale v případě těhotných žen, které ji nedovedou dostatečně kompenzovat, ji diagnostikujeme jako poruchu) (Zwinger et al., 2004; Škrha et al., 2009; Kudlová, 2015). Ženy s GDM představují asi 2–3 % populace. Diabetické těhotenství je rizikové jak pro matku, tak pro plod. Proto vyžaduje specializovanou péči (Štechová et al., 2014; Pelikánová et al., 2018).

GDM je spojen s četnými rizikovými faktory. Patří mezi ně například obezita, věk nad 25 let, rodinná zátěž (genetický faktor – výskyt DM 2. typu a GDM v rodinné anamnéze) (Štechová et al., 2014; Binder, 2020; Ray, 2020). Ale také GDM v předchozím těhotenství, porod makrosomického plodu (novorozenec má abnormálně velké tělo – velká porodní hmotnost novorozence, častý problém u GDM), porod mrtvého plodu z nejasné příčiny nebo glykosurie (tj. přítomnost glukózy v moči) na začátku těhotenství (Škrha et al., 2009; Binder, 2020).

GDM je v naprosté většině případů zcela asymptomatický (těhotné ženy nemají žádné obtíže – nepoznají, že mají GDM), a proto je zapotřebí pacientky aktivně vyhledávat (Binder, 2020; Ray, 2020). Naštěstí ve většině rozvinutých zemí existují screeningové programy (Štechová et al., 2014; Pelikánová et al., 2018; Ray, 2020). U nás platí doporučení všeobecného screeningu, který by měly podstoupit bez výjimky všechny těhotné ženy (Haluzík et al., 2013; Štechová et al., 2014; Pelikánová et al., 2018).

Po ukončení těhotenství se ukáže, zda se porucha metabolismu glukózy vázala na těhotenství nebo zda pokračuje i nadále. Pak je potřeba GDM překlasifikovat na základní typy DM (Škrha et al., 2009; Binder, 2020).

### **3.1.1 Rizika pro matku**

Těhotenství u diabetiček může být ovlivněno mnoha komplikacemi. Jednou z možných komplikací diabetu může být diabetická nefropatie (tj. onemocnění ledvin), v jejíž patogenezi (tzn. rozvoj chorobných změn) hraje hlavní roli hyperglykemie (Štechová et al., 2014; Mohan a Unnikrishnan, 2016; Binder, 2020; Roztočil et al., 2020). Projevuje se trvalou proteinurií (tj. přítomnost bílkovin v moči), hypertenzí (tzn. zvýšeným tlakem), snížením renálních (tj. ledvinových) funkcí a v konečné fázi renálním selháním (Binder, 2020).

Další komplikací chronického diabetu je retinopatie, která je poměrně častá (Hájek et al., 2004; Mohan a Unnikrishnan, 2016; Pelikánová et al., 2018). Postihuje více než 20 % žen v produktivním věku (Mohan a Unnikrishnan, 2016; Binder, 2020). Při vzniku onemocnění hraje hlavní roli opět hyperglykemie. V těhotenství se uplatňují i další faktory (Štechová et al., 2014; Mohan a Unnikrishnan, 2016; Kerr, 2022). Za zhoršení stavu může být zodpovědná i hypertenze a dále akutní zvýšení nitrolebního a nitroočního tlaku ve druhé době porodní (tzn. době vypuzovací) (Binder, 2020). Pelikánová et al. (2018) a Binder (2020) uvádí, že diabetická neuropatie (tj. postižení nervů) se vyskytuje až u 40 % pacientek. Štechová et al. (2014) tvrdí, že diabetická neuropatie komplikuje jen pár těhotenství. Výskyt hypertenze a preeklampsie je u diabetiček častější než u zdravých těhotných (Zwinger et al., 2004; Pelikánová et al., 2018; Kerr, 2022).

### **3.1.2 Rizika pro embryo, fetus a novorozence**

Pro dělení prenatalního (tzn. týkající se doby mezi početím a narozením) vývoje člověka existuje několik systémů. Nejvíce se užívá systém, který jako embryo označuje vyvíjejícího se jedince mezi 3.–10. týdnem těhotenství, po 10. týdnu se jedná o fetus (plod) až do doby porodu (poté již hovoříme o novorozenci) (Roztočil et al., 2020).

V prvním trimestru je těhotenství více ohroženo potraty (tj. časné těhotenské ztráty, nejčastěji v důsledku embryopatie – tzn. poškození ve fázi embryonálního vývoje, kdy se zakládají jednotlivé orgány) (Hájek et al., 2004; Štechová et al., 2014; Roztočil et al., 2020). Kompenzace diabetu v prvním trimestru těhotenství ovlivňuje vznik vrozených vývojových vad (VVV) (Hájek et al., 2014; Kudlová, 2015; Pelikánová et al., 2018; Binder, 2020). Jsou u diabetiček 2–3krát častější než u zdravé (bez onemocnění GDM) populace. Příčinou vzniku VVV může být hlavně hyperglykemie, také zvýšená tvorba ketolátů a volných kyslíkových radikálů (Hájek et al., 2000; Binder, 2020).

Syndrom kaudální regrese (při této VVV dochází k náhlému přerušení páteře a abnormálnímu postavení dolních končetin) je typický pro populaci diabetiček (Hájek et al., 2000; Hájek et al., 2014; Štechová et al., 2014). Syndrom kaudální regrese je u diabetiček 600krát častější než u „nediabetiček“. U dětí diabetických matek se ovšem můžeme setkat s jakýmkoliv typem VVV (Binder, 2020).

Novorozenci bývají na své gestační stáří velcí (tzv. makrosomie). Makrosomie je způsobena díky zvýšené nabídce glukózy a jiných nutričních substrátů a také v souvislosti s působením růstových faktorů (Viana et al., 2014; Pelikánová et al., 2018; Roztočil et al., 2020; Kerr, 2022). Ačkoli je dítě diabetické matky nadměrně velké, chová se jako nezralé. Proto se setkáváme s poruchami dýchání – syndromem dechové tísně (respiratory distress syndrome – RDS) (Hájek et al., 2000; Štechová et al., 2014; Pelikánová et al., 2018; Roztočil et al., 2020). Patogeneticky tu hraje roli inzulin, který blokuje vliv kortizolu na fibroblasty v plicích, které pak nedostatečně syntetizují fosfolipidy, a brání tak tvorbě surfaktantu (Štechová et al., 2014).

Makrosomie souvisí s organomegalií (tj. abnormální zvětšení orgánu/ů). Nejzávažnějším projevem organomegalie je postižení srdce s rizikem vzniku arytmií (poruch srdečního rytmu). Novorozenec může být také v prvních hodinách po porodu ohrožen hypoglykemií, častěji se vyskytuje také hyperbilirubinemie (s horším průběhem novorozenecké žloutenky) (Hájek et al., 2004; Zwinger et al., 2004; Štechová et al., 2014).

Ke konci těhotenství je plod diabetické matky zhruba čtyřikrát častěji ohrožen náhlým intrauterinním (tj. nitroděložním) úmrtím (Haluzík et al., 2013; Binder, 2020). Příčiny nemusí být vždy jasné. Za nejčastější důvod úmrtí je označována např. ketoacidóza (organismus při nedostatku inzulínu začne přeměňovat mastné kyseliny na tzv. ketolátky, z nichž náš organismus umí také čerpat energii, ketolátky mají kyselou povahu a způsobují pokles pH organismu – acidózu, může vést k ohrožení života). Dalším důvodem úmrtí může být hypoxie (tj. nedostatek kyslíku ve tkáních) nebo maligní fetální arytmie (tzn. klinicky závažné arytmie plodu) při organomegalii srdce (myokardu) (Binder, 2020).

### **3.1.3 Screening GDM podle České diabetologické společnosti**

V roce 2010 International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG) na základě výsledků rozsáhlé studie HAPO (Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome) vydala nový doporučený postup pro screening GDM (Štechová et al., 2014; Binder, 2020). V roce 2013 jej doporučila používat Česká diabetologická společnost (ČDS). Česká gynekologická a porodnická společnost (ČGPS) jej definitivně doporučila v roce 2018. Do té doby platilo doporučení WHO z roku 2008 (Binder, 2020).

#### **3.1.3.1 Doporučený postup z roku 2010 dle IADPSG**

Provádí se screening GDM v prvním trimestru, kdy se vyšetřuje glykemie nalačno z žilní krve (z plazmy) u všech těhotných. Opakovaný odběr nelze provést tentýž den (provádí se, když je hodnota glykemie  $> 5,1$  mmol/l). V případě jednoho pozitivního a jednoho negativního nálezu je indikováno provedení tříbodového oGTT již v prvním trimestru (Štechová et al., 2014; Binder, 2020). Hodnocení glykemie nalačno je následující – test je pozitivní, pokud je hodnota glykemie nalačno  $> 5,1$  mmol/l; pokud je hodnota glykemie nalačno opakovaně  $5,1–6,9$  mmol/l, jedná se o GDM; pokud je hodnota glykemie nalačno  $\geq 7,0$  mmol/l (nebo pokud je glykovaný hemoglobin (HbA1c)  $\geq 48$  mmol/l), jedná se o zjevný GDM (Pelikánová et al., 2018; Binder, 2020).

Další screening GDM se provádí mezi 24.–28. gestačním týdnem. U všech žen s negativním screeningem GDM v prvním trimestru se provádí tříbodový oGTT (viz dále) (Haluzík et al., 2013; Štechová et al., 2014; Binder, 2020).

### **3.1.3.2 oGTT při screeningu GDM**

U těhotných žen se oGTT jako součást screeningu provádí ideálně mezi 24.–28. gestačním týdnem. Standardně se provádí tříbodový oGTT (existuje ještě dvoubodový oGTT – viz dále) (Hájek et al., 2004; Zwinger et al., 2004; Binder, 2020). Odběr žilní krve se provádí po minimálně osmihodinovém lačnění, vzorek žilní krve se vyšetřuje v akreditované laboratoři (opět se měření provádí v plazmě) – není možné použít odběr kapilární krve z prstu (Kudlová, 2015; Pelikánová et al., 2018). Pro odběr se používají zkumavky s protisrážlivým prostředkem NaF (tj. fluoridem sodným) + Na<sub>2</sub>EDTA nebo NaF + K<sub>3</sub>EDTA (EDTA je používaná zkratka pro ethylendiamintetraoctovou kyselinu, z AJ ethylenediaminetetraacetic acid) (Kudlová, 2015). Po odběru nalačno se ženě podá 75 g glukózy rozpuštěné ve 250 až 300 ml vody (nebo v hořkém čaji), která by se měla vypít během 5 až 10 minut (Hájek et al., 2014; Pelikánová et al., 2018). Žena po dobu testu dodržuje tělesný klid.

Jednotlivé hodnoty glykemií nesmějí být stanoveny s časovou prodlevou delší než jedna hodina po odběru (Kudlová, 2015; Binder, 2020). Podmínkou provedení testu je glykemie nalačno  $\leq 5,1$  mmol/l, při vyšší hodnotě se test neprovádí. Odběr nalačno je možno opakovat následující den, opakovaná hodnota glykemie  $\geq 5,1$  mmol/l potvrzuje diagnózu GDM, test se dále neprovádí (Binder, 2020).

Hodnocení oGTT – diagnóza GDM je stanovena při zvýšení alespoň jedné hodnoty oGTT. Pozitivní výsledek testu je, když je glykemie nalačno  $\geq 5,1$  mmol/l / po 60 minutách  $\geq 10,0$  mmol/l / po 120 minutách  $\geq 8,5$  mmol/l (Štechová et al., 2014; Pelikánová et al., 2018; Binder, 2020).

Orální glukózový toleranční test se provádí při podezření na DM i mimo těhotenství a u mužů. Vyšetření se provádí zejména, když je glykemie nalačno opakovaně v rozmezí 5,6–6,9 mmol/l (Haluzík et al., 2013; Štechová et al., 2014; Pelikánová et al., 2018). Tento oGTT je standartně dvoubodový – tzn. glykemie se měří nalačno a po 120 minutách. Kritéria pro hodnoty nalačno a po 120 minutách jsou jiné než při screeningu GDM. Test oGTT při screeningu GDM je více přísnější (Haluzík et al., 2013; Kudlová, 2015; Pelikánová et al., 2018).

### **3.1.4 Léčba diabetu v těhotenství**

Prevenčí, diagnostikou a léčbou diabetu se zabývá diabetologie (respektive endokrinologie). Řeší také případné komplikace spojené s diabetem (Kudlová, 2015). Těhotné, kterým byla stanovena diagnóza GDM, jsou posílány do diabetologické ambulance (Haluzík et al., 2013; Hájek et al., 2014; Kudlová, 2015).

I když je nyní péče o těhotné diabetičky na vysoké úrovni, je stále toto těhotenství rizikové (Štechová et al., 2014). Dietní režim u těhotných s pregestačním DM se nijak významně neliší. Fyzická aktivita bývá součástí léčby (pokud není v rozporu s doporučením gynekologa) (Kudlová, 2015; Pelikánová et al., 2018; Binder, 2020). K léčbě diabetu 1. typu se dnes používají výhradně lidské (humánní) inzuliny nebo tzv. inzulinová analoga, jejichž užívání je v těhotenství bezpečné (Škrha et al., 2009; Štechová et al., 2014; Kudlová, 2015). Potřeba inzulinu na začátku těhotenství (cca do 14. týdne) mírně klesá, poté většinou stoupá asi až do 32. týdne. Přibližně dva týdny před termínem porodu potřeba inzulinu znovu klesá. Po porodu se dávky inzulinu většinou snižují asi o jednu třetinu nebo na dávky, které měla žena před těhotenstvím (Haluzík et al., 2013; Binder, 2020). Inzulin se podává subkutánně (tj. podkožně) nejčastěji pomocí inzulinového pera, pumpy nebo tzv. inzuliniky (Kudlová, 2015).

Všechny těhotné jsou vybaveny glukometry. Selfmonitoring (pomocí glukometru) jim umožňuje dávky podle potřeby upravovat. Zpětnou informaci o kompenzaci diabetu získáme vyšetřením glykovaného hemoglobinu (Haluzík et al., 2013; Štechová et al., 2014; Kudlová, 2015; Kerr, 2022). Sledování těhotné s diabetem dále zahrnuje pravidelné provádění glykemických profilů (nejméně jednou týdně), oční vyšetření (jednou za trimestr), bakteriologické vyšetření moči, kontrolu renálních funkcí a mikroalbuminurie, vyšetření štítné žlázy a samozřejmě běžné kontroly hmotnostního přírůstku a krevního tlaku pacientky (Binder, 2020). Důležité ovšem je, aby se ke každé pacientce přistupovalo individuálně (Kudlová, 2015).

Prvním krokem v léčbě gestačního diabetu je též úprava dietního režimu, dalším krokem je zvýšení tělesné zátěže, samozřejmě dle možností daných těhotenstvím (Hájek et al., 2004; Zwinger et al., 2004; Viana et al., 2014; Binder, 2020; Kerr, 2022). Pokud nedojde k normalizaci glykemií těmito dvěma kroky, zahajuje se terapie inzulinem (Hájek et al., 2004; Zwinger et al., 2004; Binder, 2020; Kerr, 2022). K tomu dochází přibližně u 5–30 % těhotných. Hodnoty přípustných glykemií při GDM jsou stejné jako při DM 1. typu. Další indikací k zahájení inzulinové terapie je akcelerace růstu plodu, která se prokáže ultrazvukovým vyšetřením (Binder, 2020).

## **4 Laboratorní metody – analýza vzorků**

Kromě zobrazovacích metod se dnes klinické uvažování opírá z velké části o laboratorní metody. Správná indikace a interpretace laboratorních metod jsou klíčovými požadavky ke stanovení správné diagnózy a sledování léčby (Steffen et al., 2010). Stanovované látky v odebraném vzorku nazýváme analyty. Biologický materiál může být krev, moč, stolice, likvor atd. (Cibiček et al., 2014).

### **4.1 Centrifugace**

Centrifugační techniky jsou řazeny mezi základní analytické separační techniky. V laboratořích slouží k oddělování složek heterogenních (tzn. různorodých) směsí (Graham, 2001; Vaněk a Bezouška, © 2010). Centrifugace je založena na sedimentaci (tj. usazování rozptýlených částic). Sedimentace je proces vyvolaný silovým polem (Steffen et al., 2010; Vaněk a Bezouška, © 2010; Cibiček et al., 2014). Zařízení pro centrifugaci se nazývá centrifuga (odstředivka). V průběhu centrifugace dochází k separaci složek směsi většinou na dvě frakce. Jedna z nich se nachází na dně centrifugační nádoby. Označuje se jako sediment. Frakce nad sedimentem se nazývá supernatant (Cibiček et al., 2014). Existují centrifugy úhlové (otvory pro umístění nádobek jsou pod stálým úhlem), výkyvné (volně upevněné nádoby) atd. Nádoby se vzorky (nebo vyvažovací nádoby) jsou do rotoru vkládány rovněž symetricky (proti sobě) (Cibiček et al., 2014).

### **4.2 Elektrochemické metody, senzory a čipové platformy**

Elektrochemické metody patří mezi detekční metody. Senzory a čipy dnes představují nezastupitelný nástroj v medicíně (Eggins, 2002; Gil a Melo, © 2010). Tato zařízení kladou minimální nároky na obsluhující personál. Pořizovací náklady jsou několikanásobně nižší než v případě klasické laboratorní instrumentace. Tato zařízení jsou využívána při kontinuálním sledování celé řady chemických (např. koncentrace glukózy) či fyzikálních (např. teplota) parametrů (Mascini a Tombelli, 2008; Gil a Melo, © 2010).



Mezi elektrochemické metody se řadí metody založené na elektroodovém ději (sleduje se oxidačně-redukční reakce) (Eggins, 2002; Gil a Melo, © 2010). Do této kategorie spadají metody potenciometrické, voltametrické, amperometrické atd. Elektrochemický analyzátor se nejčastěji skládá z elektroodového systému, zdroje elektrického proudu/napětí, systému vodičů a vyhodnocovacího zařízení (Gil a Melo, © 2010; Cibiček et al., 2014). Elektrody využívané pro elektroanalytické účely se označují jako indikační (měrné/pracovní), které jsou doplněny o referentní (srovnávací) či pomocné (Cibiček et al., 2014). Většinou je elektroodový systém ponořen do analyzovaného vzorku (Gil a Melo, © 2010). Amperometrické metody jsou založeny na měření proudu procházejícího indikační elektrodou (na ni je vložen konstantní potenciál). Velikost proudu v přítomnosti analytu je mírou jeho koncentrace (Cibiček et al., 2014). Amperometrické metody jsou v klinické biochemii využívány k analýze glukózy a dalších látek (Eggins, 2002; Cibiček et al., 2014). Jedná se o metody instrumentálně nenáročné, jsou tedy společně s optickými metodami využívány v podobě senzorů, biosenzorů a mikroanalyzátorů. Senzor je zařízení schopné měřit žádanou veličinu, kterou převádí na výstupní veličinu (většinou elektrický proud, lze ji vyjádřit číselně) (Eggins, 2002; Mascini a Tombelli, 2008).

V roce 1962 L. C. Clark publikoval první práci o elektrochemických biosenzorech. Podařilo se mu mobilizovat enzym glukózooxidázu na kyslíkovou elektrodu pomocí dialyzační membrány. Enzym má schopnost katalyzovat oxidaci glukózy (což je spojeno s úbytkem kyslíku). Úbytek kyslíku byl měřen pomocí kyslíkové elektrody. Koncentrace kyslíku odpovídala koncentraci glukózy ve vzorku. Tento vynález se dodnes používá v různých modifikacích pro stanovení koncentrace glukózy v krvi (Cibiček et al., 2014).

#### **4.3 Stanovení krevních skupin krevně skupinového systému AB0**

V laboratořích vyšetřujeme krevně skupinový systém AB0 pomocí metody aglutinace (viz výše kapitola 2.2.4) (Moulds et al., 2011). Díky aglutinaci je možné vyšetřovat antigeny na erythrocytech i protilátky proti erythrocytům v séru či plazmě (Blaney a Howard, 2013). Antigeny krevně skupinového systému AB0 se stanovují na povrchu erythrocytů a jsou určovány reakcí erythrocytů s testovacími antiséry – anti-A, anti-B a anti-AB (namísto antisér se dnes spíše používají reagentie s monoklonálními protilátkami) (Panczak a Otová, 2013). Krevně skupinový systém AB0 se stanovuje nejčastěji zkušavkovým testem, sklíčkovou metodou, metodou pevné fáze nebo technikou sloupcové aglutinace (Penka et al., 2012; Blaney a Howard, 2013).

## **5 Cíl práce a hypotézy**

### **5.1 Cíl práce**

Cíl č. 1: Zjistit, jestli existuje souvislost mezi krevními skupinami krevně skupinového systému AB0 a mezi diagnózou gestační diabetes mellitus.

Cíl č. 2: Zjistit, jaká krevní skupina se nejčastěji vyskytuje u žen, kterým je diagnostikován gestační diabetes mellitus.

Cíl č. 3: Zhodnotit výskyt diagnózy gestační diabetes mellitus v rámci jednotlivých krevních skupin krevně skupinového systému AB0.

### **5.2 Hypotézy**

Hypotéza č. 1: Existuje souvislost mezi krevními skupinami krevně skupinového systému AB0 a diagnózou gestační diabetes mellitus?

Hypotéza č. 2: Jakou krevní skupinu mají nejčastěji ženy, jimž je diagnostikován gestační diabetes mellitus?

## 6 Metodika

Hlavním úkolem bude získat v rámci laboratorních vyšetření dostatečně velký soubor těhotných žen (cca 100). U těchto žen bude vyšetřena krevní skupina v krevně skupinovém systému AB0 (tedy A, B, AB a 0) a Rh systém (tedy RhD pozitivní/RhD negativní). Dále bude u těhotných zjišťována diagnóza gestační diabetes mellitus (GDM) – tedy jestli těhotným byla přiřazena diagnóza GDM či nikoliv. Četnosti diagnózy GDM u jednotlivých krevních skupin krevně skupinového systému AB0 budou statisticky zhodnoceny pomocí kontingenčních tabulek, chí kvadrát testu, Fisherova přesného testu atp. Metoda výzkumu je kvantitativní. Také budou statisticky zhodnoceny i ostatní faktory, které byly u těhotných žen vyšetřovány (tzn. Rh systém) a získávány (tzn. věk) a jejich souvislost s diagnózou GDM.

Data budou sbírána v Nemocnici Nové Město na Moravě na Oddělení klinických laboratoří a transfúzní služby v období říjen 2021 – březen 2022.

### 6.1 Stanovení glykemie a diagnózy GDM

Těhotným ženám se standardně odebírá venózní (tzn. žilní) nesrážlivá krev po 8hodinovém lačnění (těhotná žena smí pít pouze vodu před odběrem). Krev by měla být odebrána do zkumavky s NaF (fluoridem sodným), citrátem a EDTA (v případě zkumavek FC Mix se jedná o zkumavku se šedou zátkou s bílým středem). Citrát snižuje pH krve a zastavuje glykolýzu, vzorek je pak stabilní až 24 hodin. Tři dny před testem je nutné dodržovat běžné stravovací návyky (nesnižovat množství sacharidů ve stravě). Den před testem by se měla vyloučit zvýšená fyzická aktivita. Rovněž pro test oGTT (viz kapitola 3.1.3.2) musí být všechny odběry nesrážlivé krve venózní, do zkumavky s NaF, citrátem a EDTA, po celou dobu testu zůstává těhotná žena ve fyzickém klidu, před testem a během testu nesmí kouřit, jíst a pít slazené nápoje.

Pro měření glykemie je zapotřebí získat z nesrážlivé krve plazmu pomocí centrifugace. Vzorky budou centrifugovány v centrifuze Rotanta 460 od firmy Hettich Zentrifugen po dobu 10 minut při 3000 otáčkách/min.

Koncentrace glukózy bude měřena na analyzátoru Biosen S line Lab+ od výrobce EKF Diagnostic. Vpředu je kruhový otočný nosič vzorků se 63 pozicemi, do kterého se vkládají připravené vzorky před vlastním měřením. Analyzátor má pozici pro statimové vyšetření, je tedy možné dávat vzorky mimo kruhový nosič. Mimo kruhový nosič se také nachází 2 pozice pro standardy a 2 pozice pro kontroly. Vlevo od kruhového nosiče je umístěna měřicí komůrka s nasávací jehlou. Nahoře pod odklopným víkem je prostor pro láhev se systémovým roztokem a dále odpadní láhev.

Analyzátor stanovuje glukózu pomocí čipové technologie na základě amperometrického principu (viz kapitola 4.2). Stanovení glukózy na analyzátoru Biosen S line Lab+ probíhá pomocí enzymu glukózaoxidáza imobilizovaného na čipu (životnost jednoho čipu je 50 dnů). Analyzátor má tedy enzymovou elektrodu.

Na čipech probíhá glukózaoxidázová reakce. Enzym glukózaoxidáza katalyzuje oxidaci glukózy kyslíkem za vzniku kyseliny glukonové, která přechází v glukonolakton. Při této reakci vzniká také peroxid vodíku, který je následně oxidován na měřicích elektrodách za vzniku kyslíku. Díky této reakci vzniká proud. Změna protékajícího proudu je úměrná koncentraci glukózy. Vnitřní měřicí elektrody jsou platinové. Analyzátor stanovuje látkovou koncentraci v mmol/l.

#### **6.1.1 Průběh měření na analyzátoru Biosen S line Lab+**

Nejprve se musí nechat vytemperovat standarda pro jednobodovou kalibraci (k přímému použití připravena ve zkumavce Eppendorf, roztok glukózy 12 mmol/l, od výrobce EKF Diagnostic). Při každém měření se připravují kontroly (pozitivní a negativní) do zkumavek Eppendorf. Ředí se stejně jako vzorky – tzn. 20 µl kontroly + 1000 µl systémového roztoku pro analyzátor glukózy (tj. fosfátový pufr o pH 7,2 a další komponenty, roztok je dodáván k přímému použití od výrobce Skalab). Kontroly je potřeba důkladně pomíchat. Standarda i kontroly se umisťují mimo vzorkový kruh do pozic Std1/Std2 (místo pro standardu), C1 (místo pro negativní kontrolu) a C2 (místo pro pozitivní kontrolu).

Ze vzorků po centrifugaci odebereme 20 µl plazmy do zkumavky Eppendorf a přidáme 1000 µl systémového roztoku pro analyzátor glukózy. Promíchá se jedenkrát obrácením nahoru–dolů a zkumavky Eppendorf vložíme do vzorkového kruhu (pozice 1–63). Všechny zkumavky Eppendorf musí být řádně popsány. Nesmí se popisovat na víčku, jelikož by došlo k rozpuštění popisovače a mohlo by být ovlivněno měření.

Analyzátor po zmáčknutí tlačítka pro start si nejprve změří standardu a kontroly, poté pokračuje na vzorky (do zkumavky Eppendorf zasune vždy jehlu skrze víčko a nasaje si vzorek). Po skončení měření přejde analyzátor do módu „Připraven s kalibrací“.

Po změření série vzorků se provede porovnání výsledků kontrolních materiálů s deklarovanými hodnotami (výsledky musí vyhovovat kritériím, aby měřená série byla platná a výsledky vzorků mohly být vydány). Jestliže výsledky měřených kontrolních materiálů neodpovídají deklarovaným hodnotám, musí se analyzovaná série opakovat (celý proces se musí zopakovat).

Dále jsou kontrolovány výsledky analýz. Pokud se nachází v rozmezí 3,00 – 20,00 mmol/l, lze je vydat. Je-li hodnota glukózy mimo interval 3,00 – 20 mmol/l, musí se provést opakovaná analýza vzorků. Měřené hodnoty všech vzorků jsou zobrazeny na displeji. Výsledky analýz jsou vytištěny externí tiskárnou (LX – 300, od firmy Epson), které jsou zároveň přenášeny z přístroje do laboratorního informačního systému.

### **6.1.2 Stanovení diagnózy GDM**

Diagnózu GDM se může přiřadit těhotné ženě více způsoby. Diagnóza GDM je těhotné stanovena, pokud již nějaký typ diabetu má (např. DM 1. typu). Další možností je, že těhotná žena má alespoň dvakrát za sebou zvýšenou koncentraci glukózy nalačno (tj. > 5,1 mmol/l). V těchto případech nejsou těhotné ženy na samotný oGTT ani posílány. Proto je potřeba nahlédnutí do dokumentace dané těhotné, nebo konzultace s daným indikujícím lékařem.

V České republice se provádí screening GDM v prvním trimestru, kdy se vyšetřuje glykemie nalačno z žilní krve (z plazmy, viz výše) u všech těhotných. Opakovaný odběr se neprovádí tentýž den (provádí se, když je hodnota glykemie > 5,1 mmol/l), ale např. den následující. V případě jednoho pozitivního a jednoho negativního výsledku je indikováno provedení tříbodového oGTT již v prvním trimestru.

Glykemie nalačno se hodnotí následovně – test je pozitivní, pokud je hodnota glykemie nalačno > 5,1 mmol/l; pokud je hodnota glykemie nalačno opakovaně 5,1–6,9 mmol/l, jedná se také o GDM; pokud je hodnota glykemie nalačno  $\geq 7,0$  mmol/l, jedná se o zjevný GDM.

Další screening GDM se provádí mezi 24.–28. gestačním týdnem. U všech těhotných žen s negativním screeninem GDM v prvním trimestru se provádí tříbodový oGTT. Po odběru nalačno se těhotné ženě podá 75 g glukózy rozpuštěné ve 250 až 300 ml vody, kterou by měla vypít během 5 až 10 minut. Podmínkou provedení testu je glykemie nalačno  $\leq 5,6$  mmol/l, při vyšší hodnotě se test neprovádí. Odběr nalačno je možno opakovat následující den, opakovaná hodnota glykemie  $\geq 5,1$  mmol/l potvrzuje diagnózu GDM a test se dále neprovádí.

Hodnocení oGTT – diagnóza GDM je stanovena při zvýšení alespoň jedné hodnoty. Pozitivní výsledek testu je, když je glykemie nalačno  $\geq 5,1$  mmol/l / po 60 minutách  $\geq 10,0$  mmol/l / po 120 minutách  $\geq 8,5$  mmol/l. V laboratořích v Nemocnici Nové Město na Moravě na Oddělení klinických laboratoří a transfúzní služby se vypracovává graf s hodnotami oGTT, který je následně s výsledky zasílán indikujícím lékařům.

## **6.2 Vyšetření krevních skupin v krevně skupinovém systému AB0 a Rh**

Krevní skupiny budou vyšetřovány zkumavkovou metodou, jejímž principem je přímá aglutinace (viz výše kapitola 2.2.4). Napřed dochází k propojení erytrocytárního antigenu s protilátkou (tzv. senzibilace erytrocytu). Tato fáze není pozorovatelná. Aby došlo k aglutinaci erytrocytů, je potřeba, aby se protilátka na senzibilizovaném erytrocytu navázala na další erytrocyt.

Díky aglutinaci je možné vyšetřovat antigeny na erytrocytech i protilátky proti erytrocytům v séru či plazmě. Na erytrocytech se vyšetřují antigeny (A a B) pomocí diagnostických antisér. V plazmě/séru se vyšetřují protilátky (anti-A, anti-B, anti-AB) pomocí diagnostických erytrocytů. V laboratořích se pro vyšetření erytrocytárních antigenů v krevně skupinovém systému AB0 pomocí aglutinace využívají diagnostická antiséra (anti-A, anti-B, anti-AB). Namísto antisér se dnes spíše používají reagentie s monoklonálními protilátkami. Protilátky uplatňující se v přímé aglutinaci jsou schopné překlenout vzdálenost mezi erytrocyty a *Fab* fragmenty protilátky, a tím dochází k propojení antigenů na sousedních erytrocytech. Aglutinační testy se provádějí nejčastěji zkumavkovým testem (viz dále), sklíčkovou metodou, metodou sloupcové aglutinace atd.

### **6.2.1 Postup vyšetření krevních skupin – zkumavková metoda**

Odběr je prováděn za standardních podmínek do předem označené zkumavky s minimálním zatažením paže. Musí se na žádanku uvést čas odběru. Krevní skupiny se mohou vyšetřovat jak z nesrážlivé, tak i srážlivé krve. Do těchto laboratoří se nejčastěji posílají zkumavky BD Vacutainer. Pro nesrážlivou krev je zkumavka označena fialovou zátkou (s K<sub>2</sub>EDTA). Pro srážlivou krev je zkumavka BD Vacutainer s červenou zátkou a DispoLab s bílou zátkou. Není vhodné používat pro vyšetření krevních skupin zkumavku s gelem. Příprava těhotných žen před odběrem není nutná. Vzorek by se měl do laboratoře dostat co nejrychleji po odběru. Transport vzorku by neměl přesáhnout dvě hodiny. Vzorek krve lze zpracovat do 7 dnů po odběru, pokud je skladován při teplotě 2–8 °C. Pro vyšetření krevních skupin potřebujeme náplav erytrocytů a sérum či plazmu.

Před vlastním testováním se erytrocyty propírají ve fyziologickém roztoku a zhotovuje se 3–4% náplav v diluentu (pufrovaném fyziologickém roztoku). Díky centrifugaci je náplav erytrocytů zbaven plazmy/séra – tzn. získají se čisté erytrocyty, u kterých se vyšetřují erytrocytární antigeny. Díky centrifugaci plné krve (srážlivé/nesrážlivé), se získává plazma/sérum, kde se vyšetřují protilátky.

Náplav erytrocytů se zhotovuje z odebrané promíchané krve, které odebereme takové množství, aby se následovně vytvořil 3–4% náplav erytrocytů. Tzn. například se napipetuje do 5 ml zkumavky 100 µl krve a 2,4 ml pufrovaného fyziologického roztoku. Lze použít i krev po centrifugaci, kdy do vedlejší zkumavky odpipetujeme plazmu/sérum a do 5 ml zkumavky se napipetuje určené množství ze dna zkumavky. Po promíchání se dá náplav centrifugovat na 2 minuty při 3000 otáčkách/min. Centrifugace byla prováděna v centrifuze Jouan B4i. Po centrifugaci se slije supernatant, znovu se přidá 2,4 ml pufrovaného fyziologického roztoku, promíchá se náplav a dá se opět centrifugovat na 2 minuty při 3000 otáčkách/min. Supernatant se opět slije a přidá se 2,4 ml pufrovaného fyziologického roztoku. Náplav erytrocytů se promíchá a je připraven k samotnému testování.

Zbytek odebrané krve se dá centrifugovat, aby se získala plazma/sérum. Centrifuguje se 5 minut při 3700 otáčkách/min. Popíše se 6 zkumavek na antiséra (anti-A, anti-B, anti-AB, RhD1, RhD2 a kontrola na RhD) a 4 zkumavky na diagnostické erytrocyty (A1, A2, B, 0). Zkumavka 0 je negativní kontrola, když vyjde pozitivní, je vzneseno podezření na chladové protilátky.

Antiséra a diagnostické erythrocyty důkladně promícháme. Pomocí Pasteurovy pipety se nakape 1 kapka antiséra/diagnostických erythrocytů do příslušných zkumavek. Promíchá se pomocí Pasteurovy pipety náplav erythrocytů a přidá se 1 kapka k příslušným antisérům. Nechá se 10 minut inkubovat (RhD1 a RhD2 potřebuje více času než ostatní diagnostická monoklonální séra, proto se čeká 10 minut, aby proběhly všechny reakce). K diagnostickým erythrocytům se přidávají 2 kapky plazmy/séra (diagnostické erythrocyty jsou hodně koncentrované, proto se přidávají 2 kapky plazmy/séra), nechá se také inkubovat 10 minut.

Všechny zkumavky se centrifugují po dobu 30 sekund při 3000 otáčkách/min. Poté se odečítají výsledky jemným poklepem na zkumavky. Pokud je na dně zkumavky aglutinát, je daný test ve zkumavce pozitivní (+). Pokud k žádné aglutinaci ve zkumavce nedojde, je test v dané zkumavce negativní (-). Výsledky se zapíší do tabulky a tím se odečte příslušná krevní skupina v krevně skupinovém systému AB0 včetně Rh podle následujícího schématu (tab. 1 a 2).

Tabulka č. 1 – Schéma pro odečet výsledku vyšetření krevní skupiny v krevně skupinovém systému AB0

Krevní skupina	ANTIGENY			PROTILÁTKY			
	anti-A	anti-B	anti-AB	A1	A2	B	0
<b>A</b>	+	-	+	-	-	+	-
<b>B</b>	-	+	+	+	+	-	-
<b>AB</b>	+	+	+	-	-	-	-
<b>0</b>	-	-	-	+	+	+	-

Zdroj: vlastní výzkum

Jednotlivé řádky jsou specifické pro určitou krevní skupinu – tzn. první řádek je specifický pro krevní skupinu A, druhý pro skupinu B atd.

U vyšetřovaných antigenů jsou diagnostická monoklonální séra namířena přímo proti určitému antigenu – tzn. když dojde k aglutinaci např. ve zkumavce anti-A, prokáže se tím přítomnost antigenu A. U protilátek přítomných v plazmě/séru se testuje, proti kterým erythrocytům jsou protilátky namířeny – tzn. když dojde k aglutinaci ve zkumavce B, prokáže se tím protilátka anti-B (namířena proti B erythrocytům).



Tabulka č. 2 – Schéma pro odečet výsledku vyšetření RhD v krevně skupinovém systému Rh

	RhD1	RhD2
pozitivní	+	+
negativní	-	-

Zdroj: vlastní výzkum

Pokud dojde k aglutinaci ve zkumavkách určených pro vyšetření RhD v krevně skupinovém systému Rh (tab. 2), prokazuje se přítomnost antigenu D. Může také dojít k aglutinaci pouze v jedné zkumavce, to by znamenalo, že by se mohla u těhotné ženy vyskytovat variantní forma antigenu D. Stanovení antigenu D je totiž komplikováno existencí kvalitativně odlišných forem antigenu D (tzn. variantních D antigenů) a kvantitativně odlišných forem antigenu D (tzn. slabých D antigenů).

U neznámých pacientů se před zkumavkovou metodou dělá ještě sklíčková metoda, kde se používají diagnostická monoklonální séra anti-A, anti-B a anti-D (respektive RhD1). RhD2 se touto metodou nevyšetřuje. Lahvičky s antiséry se řádně promíchají. Na sklíčko se kápne od každého antiséra jedna kapka a smíchá se s kapkou plné krve. Krouživým pohybem se pohybuje s kapkami, ale tak, aby se neslily dohromady. Po chvíli se odečítá výsledek opět podle tabulky č. 1 a 2.

## 7 Výsledky

Soubor pro výzkum obsahuje 283 těhotných žen (tab. 11, příloha č. 1). U všech těhotných žen byly vyšetřeny krevní skupiny v krevně skupinovém systému AB0 (tzn. A, B, 0 a AB) a systému Rh (RhD pozitivní/ RhD negativní) a glykemie (příloha č. 2 a 3). Dále byly získány údaje o diagnóze GDM a věku.

### 7.1 Kontingenční tabulky četností

Ze získaných dat byla vypracována v programu Excel kontingenční tabulka (tab. 3), která popisuje reálné četnosti výskytu onemocnění GDM (zdravé x nemocné) v každé krevní skupině krevně skupinového systému AB0 (tj. A, B, 0 a AB).

Tabulka č. 3 – Reálné četnosti výskytu onemocnění GDM u jednotlivých krevních skupin

GDM	krevní skupina				celkem	celkem (%)
	A	B	0	AB		
Ano	8	5	5	2	20	7,1
Ne	100	42	95	26	263	92,9
<b>celkem</b>	108	47	100	28	283	100

Zdroj: vlastní výzkum

Z celkového počtu byla vypočtena procenta těhotných žen s diagnózou GDM a těhotných žen bez diagnózy GDM. (tab. 3). Celkem bylo nasbíráno 20 těhotných žen s diagnózou GDM – tj. 7,1 % z celkového počtu těhotných žen. Těhotných žen bez diagnózy GDM bylo nasbíráno 263 – tj. 92,9 %.

Poté se podle první tabulky vypracovala kontingenční tabulka očekávaných četností (tab. 4), aby bylo možné provést chí kvadrát test. Pro zjištění očekávaných četností se provedla v programu Excel matice, ve které se násobí celkové součty řádků a celkové součty sloupců a dělí se celkovým počtem těhotných žen (283).

Tabulka č. 4 – Očekávané četnosti výskytu onemocnění GDM u jednotlivých krevních skupin

GDM	krevní skupina				celkem
	A	B	0	AB	
Ano	8	3	7	2	20
Ne	100	44	93	26	263
<b>celkem</b>	108	47	100	28	283

Zdroj: vlastní výzkum

## 7.2 *Chí kvadrát test a Fisherův přesný test*

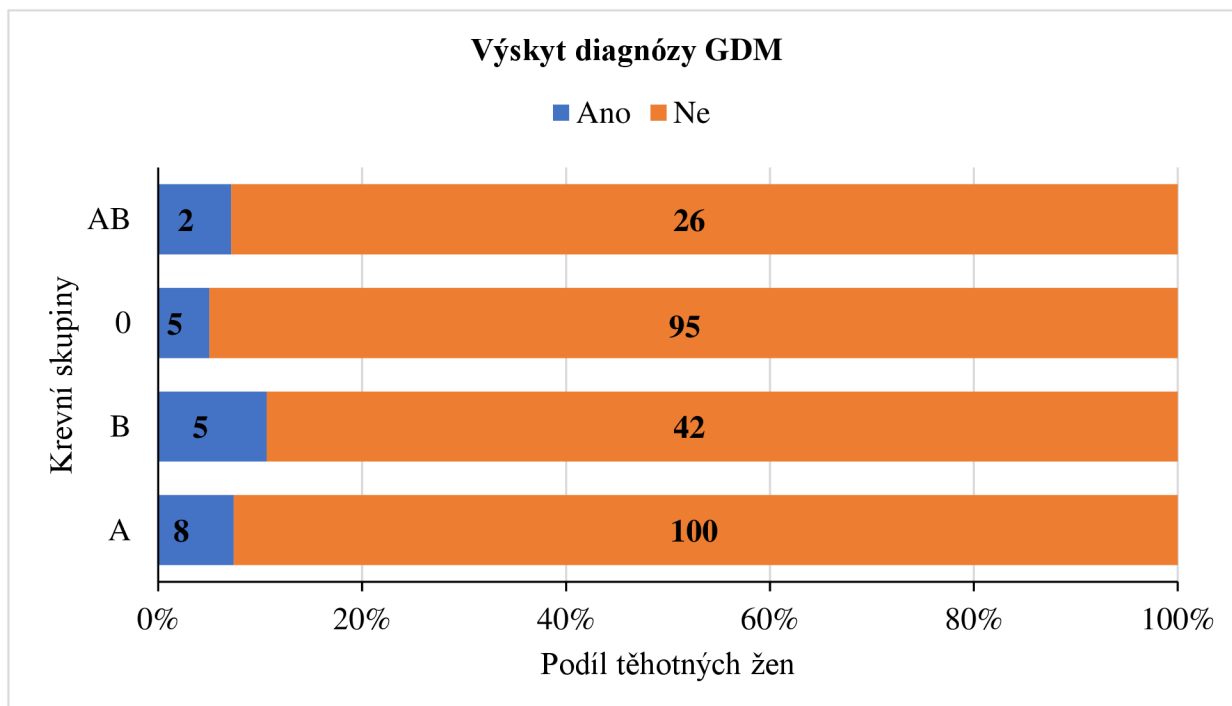
Dále byl proveden chí kvadrát test pomocí vzorce CHITEST v programu Excel, který testuje podobnost reálných a očekávaných četností. Po převedení výsledku na procenta bylo dosaženo hladiny významnosti  $p = 66,3\%$ .

Dále byl proveden Fisherův přesný (exaktní) test kvůli malému zastoupení v jednotlivých kategoriích. Byla dosažena hladina významnosti ( $p$ )  $62,0\%$ . Tzn. výsledky Fisherova přesného testu a chí kvadrát testu se od sebe liší o  $4,3\%$ . Fisherův přesný test se hlavně provádí u dat, kde je alespoň jedna hodnota v tabulce  $< 5$ .

Výsledek testu tedy je, že se přijímá nulová hypotéza: „Neexistuje souvislost mezi krevními skupinami krevně skupinového systému AB0 a diagnózou gestační diabetes mellitus“. Hladina významnosti ( $p$ ) není  $< 5\%$ , proto se nepřijímá alternativní hypotéza: „Existuje souvislost mezi krevními skupinami krevně skupinového systému AB0 a diagnózou gestační diabetes mellitus“.

## 7.3 *Výskyt diagnózy GDM u jednotlivých KS krevně skupinového systému AB0*

Následující graf (obr. 1) zobrazuje reálné četnosti těhotných žen s diagnózou GDM (tj. Ano) i bez diagnózy GDM (tj. Ne) u jednotlivých krevních skupin (tj. A, B, 0 a AB). Největší podíl těhotných žen s diagnózou GDM je u krevní skupiny B, kde má 5 těhotných žen diagnózu GDM a 42 těhotných žen je bez diagnózy GDM.



Obrázek č. 1 – Graf výskytu GDM u jednotlivých krevních skupin; zdroj: vlastní výzkum

#### 7.4 Porovnání výskytu diagnózy GDM v rámci jedné KS krevně skupinového systému AB0 v procentech

Dále byla zhotovena tabulka (tab. 5), která porovnává procentuální rozdělení četností diagnózy GDM v rámci jednotlivých krevních skupin (sloupcová procenta) – tzn. všechny těhotné ženy jedné krevní skupiny tvoří 100 %.

Tabulka č. 5 – Procentuální četnosti výskytu GDM v rámci krevních skupin krevně skupinového systému AB0

GDM	krevní skupina			
	A (%)	B (%)	0 (%)	AB (%)
Ano (%)	7,4	10,6	5,0	7,1
Ne (%)	92,6	89,4	95,0	92,9
celkem (%)	100	100	100	100

Zdroj: vlastní výzkum

Největší procentuální podíl těhotných žen s diagnózou GDM je u krevní skupiny B, kde 10,6 % těhotných žen má stanovenou diagnózu GDM. Druhý největší procentuální podíl těhotných žen s diagnózou GDM je u krevní skupiny A a AB, kde bylo 7,4 % a 7,1 % těhotných žen stanovena diagnóza GDM. Nejmenší procentuální podíl těhotných žen s diagnózou GDM má krevní skupina 0, kde 5,0 % těhotných žen má stanovenou diagnózu GDM – tzn. krevní skupina 0 má také největší podíl těhotných žen bez diagnózy GDM (95 %).

#### 7.5 Rozdělení těhotných žen podle KS krevně skupinového systému AB0

Další tabulka (tab. 6) popisuje rozložení krevních skupin krevně skupinového systému AB0 u těhotných žen bez ohledu na diagnózu GDM. Tabulka obsahuje také počty těhotných žen v procentech.

Tabulka č. 6 – Rozložení krevních skupin krevně skupinového systému AB0 u těhotných žen

Krevní skupina	počet těhot. žen	počet těhot. žen (%)
A	108	38,2
B	47	16,6
AB	28	9,9
0	100	35,3
celkem	283	100

Zdroj: vlastní výzkum

V nasbíraných datech je nejvíce zastoupena krevní skupina A, která zahrnuje 108 těhotných žen – tj. 38,2 %. Druhou nejvíce zastoupenou krevní skupinou krevně skupinového systému AB0 je krevní skupina 0, která zahrnuje 100 těhotných žen – tj. 35,3 %. Třetí krevní skupinou krevně skupinového systému AB0 je krevní skupina B, kterou má 47 těhotných žen – tj. 16,6 %. Nejméně zastoupenou krevní skupinou krevně skupinového systému AB0 je krevní skupina AB, která zahrnuje 28 těhotných žen – tj. 9,9 %.

## 7.6 Výsledky souvislosti diagnózy GDM s ostatními faktory

V následující části jsou statisticky zhodnoceny ostatní faktory, které by mohly mít souvislost s diagnózou GDM. Při výzkumu byl vyšetřován i krevně skupinový systém Rh. Dále byl zjišťován věk těhotných žen.

### 7.6.1 Kontingenční tabulky a chí kvadrát test pro krevně skupinový systém Rh

Nejprve byly z dat vypracovány kontingenční tabulky (tab. 7 a tab. 8) v programu Excel. První tabulka (tab. 7) popisuje reálné četnosti výskytu diagnózy GDM u těhotných žen v souvislosti s krevně skupinovým systémem Rh.

Tabulka č. 7 – Reálné četnosti výskytu diagnózy GDM v souvislosti s krevně skupinovým systémem Rh

GDM	RhD		celkem
	+	-	
Ano	18	2	20
Ne	221	42	263
celkem	239	44	283

Zdroj: vlastní výzkum

Druhá tabulka (tab. 8) popisuje očekávané četnosti, které byly vypočítány maticí – kde se násobí celkové součty řádků a celkové součty sloupců a dělí se celkovým počtem těhotných žen (283). Tabulka obsahuje očekávané četnosti výskytu diagnózy GDM u těhotných žen v souvislosti s krevně skupinovým systémem Rh.

Tabulka č. 8 – Očekávané četnosti výskytu diagnózy GDM v souvislosti s krevně skupinovým systémem Rh

GDM	RhD		celkem
	+	-	
Ano	17	3	20
Ne	222	41	263
celkem	239	44	283

Zdroj: vlastní výzkum

Obě tabulky byly porovnány pomocí chí kvadrát testu v programu Excel pomocí vzorce CHITEST. Kvůli malému zastoupení v jednotlivých skupinách byl proveden Fisherův přesný test. Hladina významnosti (p) u chí kvadrát testu byla vypočítána na 47,8 %. To znamená, že neexistuje žádná souvislost mezi diagnózou GDM a mezi krevně skupinovým systémem Rh. Hladina významnosti (p) u Fisherova přesného testu je 74,9 %. Rozdíl v hladinách významnosti p u obou testů je 27,1 %. I přes tento rozdíl je u obou testů stejný výsledek (přijímá se nulová hypotéza) – „Neexistuje žádná souvislost mezi diagnózou GDM a mezi krevně skupinovým systémem Rh“.

### 7.6.2 Kontingenční tabulky a chí kvadrát test pro věk

Věk těhotných žen byl rozdělen do dvou kategorií (17–25 a 26–46), poté byla vypracována kontingenční tabulka (tab. 9) reálných četností, která popisuje četnosti výskytu diagnózy GDM u těhotných žen v jednotlivých věkových kategoriích. Věkové kategorie byly takto zvoleny kvůli tomu, že věk nad 25 let je brán jako rizikový faktor.

Tabulka č. 9 – Reálné četnosti výskytu diagnózy GDM v jednotlivých věkových kategoriích

GDM	věk		celkem
	17–25	26–46	
Ano	2	18	20
Ne	86	177	263
celkem	88	195	283

Zdroj: vlastní výzkum

Nejvíce těhotných žen je ve věkové skupině 26–46 let (177 těhotných žen bez diagnózy GDM a 18 s diagnózou GDM). Pouze 2 těhotné ženy z věkové kategorie 17–25 let mají stanovenou diagnózu GDM.

Další kontingenční tabulka (tab. 10) popisuje očekávané četnosti výskytu diagnózy GDM u těhotných žen v jednotlivých věkových kategoriích. Byla vypočítána pomocí matice, ve které se násobí celkové součty řádků a celkové součty sloupců a dělí se celkovým počtem těhotných žen (283).

Tabulka č. 10 – Očekávané četnosti výskytu diagnózy GDM v jednotlivých věkových kategoriích

GDM	věk		celkem
	17–25	26–46	
Ano	6	14	20
Ne	82	181	263
celkem	88	195	283

Zdroj: vlastní výzkum

Tabulky (tab. 9 a 10) byly srovnány pomocí chí kvadrát testu v programu Excel pomocí vzorce CHITEST. Hladina významnosti (p) pro chí kvadrát test je 3,4 %. Dále byl proveden Fisherův přesný test, protože jednotlivé kategorie mají malé zastoupení. Hladina významnosti (p) u Fisherova přesného testu je 4,3 %. Rozdíl mezi hladinami významnosti (p) u obou testů je 0,9 %. Výsledkem těchto dvou testů je, že se zamítá nulová hypotéza a přijímá se alternativní hypotéza: „Existuje souvislost mezi diagnózou GDM a věkem těhotných žen“. Hladina významnosti (p) je totiž < 5 %.

## 8 Diskuse

V bakalářské práci na téma „Četnost krevních skupin krevně skupinového systému AB0 u pacientek s diagnózou gestační diabetes mellitus“ bylo hlavním cílem zjistit, jestli existuje souvislost mezi krevními skupinami krevně skupinového systému AB0 a mezi diagnózou gestační diabetes mellitus. Metoda sběru dat byla kvantitativní. Po statistickém zhodnocení získaných dat bylo zjištěno, že neexistuje souvislost mezi krevními skupinami krevně skupinového systému AB0 a mezi diagnózou gestační diabetes mellitus. Hladina významnosti ( $p$ ) je 66,3 %. Kdyby byla hladina významnosti ( $p$ )  $< 5 \%$ , přijala by se alternativní hypotéza: „Existuje souvislost mezi krevními skupinami krevně skupinového systému AB0 a diagnózou gestační diabetes mellitus“. Poté by bylo možné hledat, ve které konkrétní krevní skupině existuje souvislost mezi krevní skupinou krevně skupinového systému AB0 a diagnózou gestační diabetes mellitus.

V České republice zatím nebyla provedena žádná podobná studie. V zahraničí proběhly dvě studie (v roce 2015), které se zabývají tímto tématem. Obě došly k výsledku, že existuje souvislost mezi krevními skupinami krevně skupinového systému AB0 a mezi diagnózou gestační diabetes mellitus (Karagoz et al., 2015; Zhang et al., 2015; Meo et al., © 2016).

Výsledky těchto dvou studií jsou protichůdné. Karagoz et al. (2015) tvrdí, že krevní skupina AB krevně skupinového systému AB0 má zvýšené riziko rozvoje gestačního diabetu mellitu. Výzkum probíhal v Turecku. Jedná se o retrospektivní studii. Zhang et al. (2015) tvrdí, že krevní skupina AB působí jako ochranný faktor před rozvojem gestačního diabetu mellitu. Výzkum probíhal v Číně a jedná se o prospektivní studii. Obě studie se liší v metodice (konkrétněji ve sběru dat). Výzkum této bakalářské práce je prospektivní – tzn. stejný jako zvolil Zhang et al. (2015). Výsledky studií jsou možná různé kvůli rase, kvůli jinému populačnímu rozložení krevních skupin krevně skupinového systému AB0, kvůli rozdílné metodice atp.

V minulosti také proběhla studie, která měla za cíl zjistit, jestli existuje souvislost mezi krevní skupinou krevně skupinového systému AB0, Rh systémem a mezi onemocněním DM 2. typu. Studie dospěla k závěru, že lidé s krevní skupinou B jsou vystaveni vysokému riziku, zatímco lidé s krevní skupinou 0 jsou vystaveni nízkému riziku rozvoje DM 2. typu. Lidé s krevní skupinou B by proto měli být pečlivě sledováni. Nebyla zjištěna žádná souvislost s Rh faktorem (Meo et al., © 2016).



V rámci této bakalářské práce bylo zjištěno, že diagnózu GDM má 20 těhotných žen z celého vyšetřovaného souboru (tj. 283 těhotných žen). Tzn., že 7,1 % těhotných žen z celého vyšetřovaného souboru má stanovenou diagnózu GDM. Podle Štechové et al. (2014) a Pelikánové et al. (2018) je populační výskyt onemocnění GDM 2–3 %. Pelikánová et al. (2018) ovšem dodává, že v některých zemích je výskyt v populaci 6 % a více. Pro přesnější výpočty populačního výskytu onemocnění GDM by bylo potřeba v této bakalářské práci většího souboru dat. Je také možné, že v současné době se opět populační výskyt onemocnění GDM zvýšil.

Podle Panczaka a Otové (2013) a Masopusta a Písačky (2016) se v evropské populaci vyskytuje krevní skupina A přibližně s četností 42 %, skupina 0 s četností 38 %, skupina B s četností 12 % a skupina AB s četností 8 %. V bakalářské práci je výskyt krevních skupin krevně skupinového systému AB0 následující. Nejvíce je zastoupena krevní skupina A (108 těhotných žen) – tj. 38,2 %. Druhou nejvíce zastoupenou krevní skupinou krevně skupinového systému AB0 je krevní skupina 0 (100 těhotných žen) – tj. 35,3 %. Třetí krevní skupinou krevně skupinového systému AB0 je krevní skupina B (47 těhotných žen) – tj. 16,6 %. Nejméně zastoupenou krevní skupinou krevně skupinového systému AB0 je krevní skupina AB (28 těhotných žen) – tj. 9,9 %. Rozdíly mezi nasbíranými daty a populačním rozložením krevních skupin krevně skupinového systému AB0 v Evropě je u krevní skupiny A 3,8 %, krevní skupiny B 4,6 %, krevní skupiny AB 1,9 % a u krevní skupiny 0 2,7 %.

Při hodnocení ostatních faktorů, které by mohly mít souvislost s diagnózou gestační diabetes mellitus bylo zjištěno, že Rh systém nemá souvislost s diagnózou gestační diabetes mellitus. K tomuto závěru dospěla i Huidobro et al. (2017) s výzkumem, který probíhal v Chile. Ke stejnému došel i Meo et al. (© 2016) ve svém výzkumu.

Dalším hodnoceným faktorem byl věk, který má podle Štechové et al. (2014), Bindera (2020) a Ray (2020) souvislost s diagnózou gestační diabetes mellitus. Hodně rizikový je věk nad 25 let. Ve výzkumné části bakalářské práce bylo zjištěno totéž – tzn. existuje souvislost mezi diagnózou gestační diabetes mellitus a mezi věkem těhotných žen.

## 9 Závěr

V bakalářské práci na téma „Četnost krevních skupin krevně skupinového systému AB0 u pacientek s diagnózou gestační diabetes mellitus“ byly stanoveny 3 cíle a 2 hypotézy, které navazují na cíle. Jednalo se o kvantitativní výzkum.

Prvním cílem bylo zjistit, jestli existuje souvislost mezi krevními skupinami krevně skupinového systému AB0 a mezi diagnózou gestační diabetes mellitus. Pomocí kontingenčních tabulek, chí kvadrát testu a Fisherova přesného testu bylo zjištěno, že neexistuje souvislost mezi krevními skupinami krevně skupinového systému AB0 a mezi diagnózou gestační diabetes mellitus. Hladina významnosti ( $p$ ) u chí kvadrát testu vyšla 66,3 %. Pro přesnější statistické zhodnocení by bylo potřeba většího souboru dat, jelikož populační výskyt onemocnění GDM je jen 2–3 % a výskyt určitých krevních skupin krevně skupinového systému AB0 v populaci (hl. krevních skupin AB a B) není příliš velký. U krevní skupiny AB krevně skupinového systému AB0 je populační výskyt jen 8 %. U krevní skupiny B je populační výskyt 12 %. Proto po zhotovení kontingenční tabulky reálných četností nebylo dosaženo dostatečného zastoupení u některých krevních skupin krevně skupinového systému AB0 – hlavně u těhotných žen s diagnózou GDM. Následně musel být vypracován i Fisherův přesný test, který se od chí kvadrát testu lišil o 4,3 % ( $p = 62$  %). Dá se tedy říct, že výsledky chí kvadrát testu a Fisherova přesného testu jsou téměř totožné.

Druhým cílem bylo zjistit, jaká krevní skupina se nejčastěji vyskytuje u žen, kterým je diagnostikován gestační diabetes mellitus. Pro statistické zhodnocení byl vypracován graf (obr. 1) a tabulka (tab. 5). Bylo zjištěno, že největší podíl těhotných žen s diagnózou GDM je u krevní skupiny B, kde má 5 těhotných žen diagnózu GDM (tj. 10,6 % z celkového počtu těhotných žen s krevní skupinou B) a 42 těhotných žen je bez diagnózy GDM (tj. 89,4 % z celkového počtu těhotných žen s krevní skupinou B).

Třetím cílem bylo zhodnotit výskyt diagnózy gestační diabetes mellitus v rámci jednotlivých krevních skupin krevně skupinového systému AB0. Soubor těhotných žen obsahuje 20 těhotných žen s diagnózou GDM. Celkový soubor dat je složen z 283 těhotných žen. To znamená, že 7,1 % těhotných žen má stanovenou diagnózu GDM.

Nejvíce těhotných žen s diagnózou GDM je v krevní skupině B – tj. 5 těhotných žen, 10,6 % z celkového počtu těhotných žen s krevní skupinou B. Druhý největší podíl těhotných žen s diagnózou GDM je u krevní skupiny A a AB, kde bylo 7,4 % a 7,1 % těhotných žen stanovena diagnóza GDM. Nejmenší podíl těhotných žen s diagnózou GDM má krevní skupina 0, kde 5,0 % těhotných žen má stanovenou diagnózu GDM – tzn. krevní skupina 0 má také největší podíl těhotných žen bez diagnózy GDM (tj. 95 %). Krevní skupina B má tedy dvakrát vyšší výskyt diagnózy GDM než krevní skupina 0.

Všechny cíle bakalářské práce byly splněny a ukázaly, že v České republice nedominuje žádná krevní skupina krevně skupinového systému AB0 ve výskytu diagnózy GDM u těhotných žen. Práce by měla poukázat na vážnost onemocnění diabetes mellitus a především na závažnost onemocnění gestační diabetes mellitus. Rozhodně by se tato onemocnění neměla podceňovat. Spousty těhotných žen s diagnózou GDM není řádně informováno o závažnosti onemocnění gestační diabetes mellitus. Přínosem práce proto mělo být odhalení dalšího rizikového faktoru k tomuto onemocnění. Několik zahraničních studií totiž prokázalo souvislost mezi krevní skupinou krevně skupinového systému AB0 a diagnózou gestační diabetes mellitus.

Pro další výzkum je vhodné zajistit více dat, aby výsledky byly přesnější a získání výsledku jednodušší. Dále se může během výzkumu o těhotných ženách získávat více informací, které by se následně mohly statisticky zhodnotit.

Výsledky této práce mohou také sloužit k zamyšlení, zda je současný populační výskyt onemocnění gestační diabetes mellitus v pořádku a jestli není možné více tomuto onemocnění předcházet – např. na základě větší informovanosti o možných důsledcích onemocnění, o možnosti prevence (zlepšení životního stylu jako je zdravé stravování, dostatek pohybu atp.).

## 10 Seznam literatury

1. AJMANI, P. S., 2020. *Immunohematology and Blood Banking: Principles and Practice*. Springer Nature Singapore. 208 p. ISBN 978-981-15-8434-3.
2. BARTUŇKOVÁ, J., ŠEDIVÁ, A., 2021. *Imunodeficiency. 3., přepracované a doplněné vydání*. Praha: Grada Publishing. 243 s. ISBN 978-80-271-1273-9.
3. BINDER, T., 2020. *Nemoci v těhotenství: a řešení vybraných závažných peripartálních stavů*. Praha: Grada Publishing. 368 s. ISBN 978-80-271-2009-3.
4. BLANEY, K. D., HOWARD, P. R., 2013. *Basic & Applied Concepts of Blood Banking and Transfusion Practices*. 3. issue. United States: Elsevier. 408 p. ISBN 978-0-323-08663-9.
5. CIBIČEK, N. et al., 2014. *Principy a využití vybraných analytických metod v laboratorní medicíně*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci. 159 s. ISBN 978-80-244-3951-8.
6. DELVES, P. J., MARTIN, S. J., BURTON, D. R., ROITT, I. M., 2017. *Roitt's Essential Immunology*. 13. issue. West Sussex: John Wiley & Sons. 556 p. ISBN 978-1-118-41577-1.
7. EGGINS, B. R., 2002. *Chemical Sensors and Biosensors*. West Sussex: John Wiley & Sons. 300 p. ISBN 978-0-471-89914-3.
8. FRIEDMAN, M. T., WEST, K., BIZARGITY, P., 2016. *Immunohematology and Transfusion Medicine: A Case Study Approach*. Springer International Publishing Switzerland. 180 p. ISBN 978-3-319-22341-4.
9. GIL, E. D. S., MELO, G. R. D., 2010. *Electrochemical Biosensors in Pharmaceutical Analysis* [online]. Brazil J. Pharmacol Sci [cit. 2021-10-24]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1590/S1984-82502010000300002>.
10. GRAHAM, J., 2001. *Biological Centrifugation*. London: Garland Science. 224 p. ISBN 978-10-030-7679-7.
11. HAFERLACH, T., BACHER, U., THEML, H., DIEM, H., 2014. *Kapesní atlas hematologie: překlad, 6. přepracovaného vydání*. Praha: Grada Publishing. ISBN 978-80-247-4787-3.
12. HÁJEK, Z. et al., 2004. *Rizikové a patologické těhotenství*. Praha: Grada Publishing. 444 s. ISBN 80-247-0418-8.
13. HÁJEK, Z. et al., 2014. *Porodnictví, 3., zcela přepracované a doplněné vydání*. Praha: Grada Publishing. 579 s. ISBN 978-80-247-4529-9.
14. HÁJEK, Z., KULOVANÝ, E., MACEK, M., 2000. *Základy prenatální diagnostiky*. Praha: Grada Publishing. 423 s. ISBN 80-7169-391-X.
15. HALUZÍK, M. et al., 2013. *Praktická léčba diabetu*. 2. vydání. Praha: Mladá fronta. 365 s. ISBN 978-80-204-2880-6.
16. HILLARD, M. L., ALVIN, H. S., 2019. *Concise Guide to Hematology*. 2.issue. Springer Nature Switzerland AG. 558 p. ISBN 978-3-319-97872-7.
17. HUIDOBRO, M. A., TORRES, C. D., PAREDES, F., 2017. Association of ABO Blood Groups with Gestational Diabetes Mellitus. *Rev. Méd. Chile*. 145(4), 431–5 p. ISSN 0034-9887.
18. KARAGOZ, H. et al., 2015. The Role of Blood Groups in the Development of Diabetes Mellitus after Gestational Diabetes Mellitus. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 11, 1613–7. doi: 10.2147/TCRM.S92294.
19. KEOHANE, E. M., OTTO, C. N., WALENGA, J. M., 2020. *Rodak's Hematology – Clinical Principles and Applications*. 6. issue. Canada: Elsevier. 904 p. ISBN 978-0-323-53045-3.
20. KERR, E., 2022. *Gestational Diabetes: Causes, Diagnosis and Treatment*. United States: American Medical Publishers. 231 p. ISBN 978-1-63927-117-7.

21. KUDLOVÁ, P., 2015. *Ošetrovatelská péče v diabetologii*. Praha: Grada Publishing. 208 s. ISBN 978-80-247-5367-6.
22. MASCINI, M., TOMBELLI, S., 2008. Biosensors for Biomarkers in Medical Diagnostics. *Biomarkers*. 13(7), 637–57. doi: 10.1080/13547500802645905.
23. MASOPUST, J., PÍSAČKA, M., 2016. *Praktická imunohematologie: Erytrocyty*. Praha: Mladá fronta. ISBN 978-80-204-3740-2.
24. MEO, S. A., ROUQ, F. A., SURAYA, F., ZAIDI, S.Z., 2016. *Association of ABO and Rh Blood Groups with Type 2 Diabetes Mellitus* [online]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* [cit. 2021-04-23]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/311802732\\_Association\\_of\\_ABO\\_and\\_Rh\\_blood\\_groups\\_with\\_type\\_2\\_diabetes\\_mellitus](https://www.researchgate.net/publication/311802732_Association_of_ABO_and_Rh_blood_groups_with_type_2_diabetes_mellitus)
25. MOHAN, V., UNNIKRISHNAN, R., 2016. *World Clinics Diabetology: Complications of Diabetes*. India: Jaypee Brothers Medical Publishers. 218 p. ISBN 978-93-5250-164-9.
26. MOULDS, J. M., NESS, P. M., SLOAN, S. R., 2011. *BeadChip Molecular Immunohematology: Toward Routine Donor and Patient Antigen Profiling by DNA Analysis*. London: Springer Science + Business Media. 176 p. ISBN 978-1-4419-7511-9.
27. PANCZAK, A., OTOVÁ, B., 2013. *Lékařská biologie a genetika (III. díl)*. Praha: Nakladatelství Karolinum. 146 s. ISBN 978-80-246-2415-0.
28. PELIKÁNOVÁ, T. et al., 2018. *Praktická diabetologie, 6. aktualizované a doplněné vydání*. Praha: Maxdorf. 814 s. ISBN 978-80-7345-559-0.
29. PENKA, M. et al., 2011. *Hematologie a transfuzní lékařství I*. Praha: Grada Publishing. 488 s. ISBN 978-80-247-3459-0.
30. PENKA, M. et al., 2012. *Hematologie a transfuzní lékařství II*. Praha: Grada Publishing. 208 s. ISBN 978-80-247-3460-6.
31. RAY, A., 2020. *Gestational Diabetes Mellitus: An Overview with Some Recent Advances*. London: IntechOpen. 116 p. ISBN 978-1-78984-733-8.
32. ROZTOČIL, A. et al., 2020. *Porodnictví v kostce*. Praha: Grada Publishing. 592 s. ISBN 978-80-271-2098-7.
33. ŘEHÁČEK, V., MASOPUST, J. a kol., 2013. *Transfuzní lékařství*. Praha: Grada Publishing. 237 s. ISBN 978-80-247-4534-3.
34. SCHMAIER, A. H., PETRUZZELLI, L. M., 2003. *Hematology for the Medicinal Student*. Lippincott: Williams & Wilkins. 282 p. ISBN 0-7817-3120-8.
35. STEFFEN, H.-M., GRIEBENOW, R., MEUTHEN, I., SCHRAPPE, M., ZIEGENHAGEN, D. J., 2010. *Diferenciální diagnostika ve vnitřním lékařství, překlad 5. vydání*. Praha: Grada Publishing. 416 s. ISBN 978-80-247-2780-6.
36. ŠKRHA, J. et al., 2009. *Diabetologie*. Praha: Galén. 417 s. ISBN 978-80-7262-607-6.
37. ŠTECHOVÁ, K. et al., 2014. *Dítě diabetické matky: komplexní pohled na diabetes a těhotenství*. Semily: Geum. 228 s. ISBN 978-80-87969-06-9.
38. VANĚK, O., BEZOUŠKA, K., 2010. *Analytická ultracentrifuga a její využití v biochemické laboratoři* [online]. Praha: Chemické Listy [cit. 2021-10-24]. Dostupné z: <https://www.natur.cuni.cz/chemie/biochem/vanek3/ke-stazeni/clanek-vanek-chemlisty-2010>
39. VIANA, L. V., GROSS, J. L., AZEVEDO, M. J., 2014. Dietary Intervention in Patients with Gestational Diabetes Mellitus: a Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Clinical Trials on Maternal and Newborn Outcomes. *Diabetes Care*. 37(12), 3345–55. doi: 10.2337/dc14-1530.

40. ZHANG, C. et al., 2015. Blood Group AB Is Protective Factor for Gestational Diabetes Mellitus: a Prospective Population-based Study in Tianjin, China. *Diabetes Metab Res Rev.* 31(6), 627–37. doi: 10.1002/dmrr.2650.
41. ZWINGER, A. et al., 2004. *Porodnictví*. Praha: Galén. 532 s. ISBN 80-7262-257-9.

## **11 Seznam příloh a obrázků**

### ***11.1 Seznam obrázků***

Obrázek č. 1 – Graf výskytu GDM u jednotlivých krevních skupin; zdroj: vlastní výzkum

Obrázek č. 2 – Sklíčková metoda – diagnostická monoklonální séra a podložní sklíčko s kapkami krve; zdroj: vlastní

Obrázek č. 3 – Sklíčková metoda – reakce diagnostických monoklonálních sér s kapkami krve (pozitivita v prostřední kapce); zdroj: vlastní

Obrázek č. 4 – Zkumavková metoda – diagnostická monoklonální séra; zdroj: vlastní

Obrázek č. 5 – Zkumavková metoda – diagnostické erytrocyty; zdroj: vlastní

Obrázek č. 6 – Zkumavková metoda – náplav erytrocytů; zdroj: vlastní

Obrázek č. 7 – Zkumavková metoda – používaná centrifuga Jouan B4i; zdroj: vlastní

Obrázek č. 8 – Zkumavková metoda – výsledky vyšetření antigenů (A, B a AB) a RhD1 a RhD2; zdroj: vlastní

Obrázek č. 9 – Zkumavková metoda – výsledky vyšetření protilátek v séru; zdroj: vlastní

Obrázek č. 10 – Metoda sloupcové aglutinace – gelová karta; zdroj: vlastní

Obrázek č. 11 – Analyzátor Biosen S line Lab+ od výrobce EKF Diagnostic; zdroj: vlastní

Obrázek č. 12 – Používaná centrifuga Rotanta 460 od výrobce Hettich Zentrifugen; zdroj: vlastní

Obrázek č. 13 – Zkumavky Eppendorf s napipetovanou plazmou; zdroj: vlastní

Obrázek č. 14 – Zkumavky Eppendorf s napipetovanou plazmou a systémovým roztokem pro analyzátor glukózy; zdroj: vlastní

### ***11.2 Seznam příloh***

Příloha č. 1 – Data těhotných žen

Příloha č. 2 – Vyšetření krevních skupin krevně skupinového systému AB0

Příloha č. 3 – Vyšetření glykemie

## 12 Přílohy

### 12.1 Příloha č. 1 – Data těhotných žen

Tabulka č. 11 – Vyšetřovaná a získaná data těhotných žen pro výzkum

číslo těhotné ženy	krevní skupina	RhD	diagnóza GDM (+-)	věk
1	A	+	+	46
2	A	+	+	45
3	A	+	+	43
4	A	+	-	42
5	A	+	+	42
6	A	+	-	40
7	A	+	+	40
8	A	+	-	39
9	A	+	-	38
10	A	+	-	37
11	A	+	-	37
12	A	+	-	36
13	A	+	+	36
14	A	+	+	36
15	A	+	-	35
16	A	+	-	35
17	A	+	-	35
18	A	+	-	34
19	A	+	-	34
20	A	+	-	33
21	A	+	-	33
22	A	+	-	33
23	A	+	-	33
24	A	+	-	33
25	A	+	-	33
26	A	+	-	32
27	A	+	-	32
28	A	+	-	32
29	A	+	-	32
30	A	+	-	31
31	A	+	-	31
32	A	+	-	30
33	A	+	-	30
34	A	+	-	30
35	A	+	-	30
36	A	+	-	30



číslo těhotné ženy	krevní skupina	RhD	diagnóza GDM (+-)	věk
37	A	+	-	30
38	A	+	-	30
39	A	+	-	30
40	A	+	-	30
41	A	+	-	30
42	A	+	-	29
43	A	+	-	29
44	A	+	-	29
45	A	+	-	29
46	A	+	-	29
47	A	+	-	29
48	A	+	-	29
49	A	+	-	29
50	A	+	-	29
51	A	+	-	29
52	A	+	-	29
53	A	+	-	29
54	A	+	-	29
55	A	+	-	29
56	A	+	-	28
57	A	+	-	28
58	A	+	-	28
59	A	+	-	28
60	A	+	-	28
61	A	+	-	28
62	A	+	-	28
63	A	+	-	28
64	A	+	-	27
65	A	+	-	27
66	A	+	-	27
67	A	+	-	27
68	A	+	-	27
69	A	+	-	26
70	A	+	-	26
71	A	+	-	26
72	A	+	-	25
73	A	+	-	25
74	A	+	-	25
75	A	+	-	25
76	A	+	-	25
77	A	+	-	24
78	A	+	-	24

<b>číslo těhotné ženy</b>	<b>krevní skupina</b>	<b>RhD</b>	<b>diagnóza GDM (+-)</b>	<b>věk</b>
79	A	+	-	23
80	A	+	-	23
81	A	+	-	23
82	A	+	-	23
83	A	+	-	22
84	A	+	-	22
85	A	+	-	21
86	A	+	-	21
87	A	+	-	20
88	A	+	-	20
89	A	+	-	20
90	A	+	-	20
91	A	+	-	19
92	A	+	-	19
93	A	+	-	19
94	A	+	-	19
95	A	+	-	19
96	A	+	-	18
97	A	+	-	18
98	A	-	-	37
99	A	-	-	34
100	A	-	-	34
101	A	-	-	33
102	A	-	+	33
103	A	-	-	31
104	A	-	-	31
105	A	-	-	30
106	A	-	-	25
107	A	-	-	20
108	A	-	-	18
109	B	+	-	40
110	B	+	-	38
111	B	+	-	37
112	B	+	-	37
113	B	+	-	37
114	B	+	-	37
115	B	+	-	37
116	B	+	+	34
117	B	+	+	34
118	B	+	-	32
119	B	+	+	32
120	B	+	-	32

číslo těhotné ženy	krevní skupina	RhD	diagnóza GDM (+-)	věk
121	B	+	+	32
122	B	+	-	32
123	B	+	+	32
124	B	+	-	31
125	B	+	-	31
126	B	+	-	31
127	B	+	-	30
128	B	+	-	30
129	B	+	-	30
130	B	+	-	29
131	B	+	-	28
132	B	+	-	28
133	B	+	-	28
134	B	+	-	24
135	B	+	-	24
136	B	+	-	24
137	B	+	-	23
138	B	+	-	20
139	B	+	-	20
140	B	+	-	19
141	B	+	-	19
142	B	+	-	19
143	B	-	-	35
144	B	-	-	34
145	B	-	-	32
146	B	-	-	32
147	B	-	-	28
148	B	-	-	28
149	B	-	-	27
150	B	-	-	27
151	B	-	-	27
152	B	-	-	27
153	B	-	-	24
154	B	-	-	24
155	B	-	-	20
156	0	+	-	46
157	0	+	-	42
158	0	+	+	42
159	0	+	-	40
160	0	+	-	39
161	0	+	-	39
162	0	+	+	39

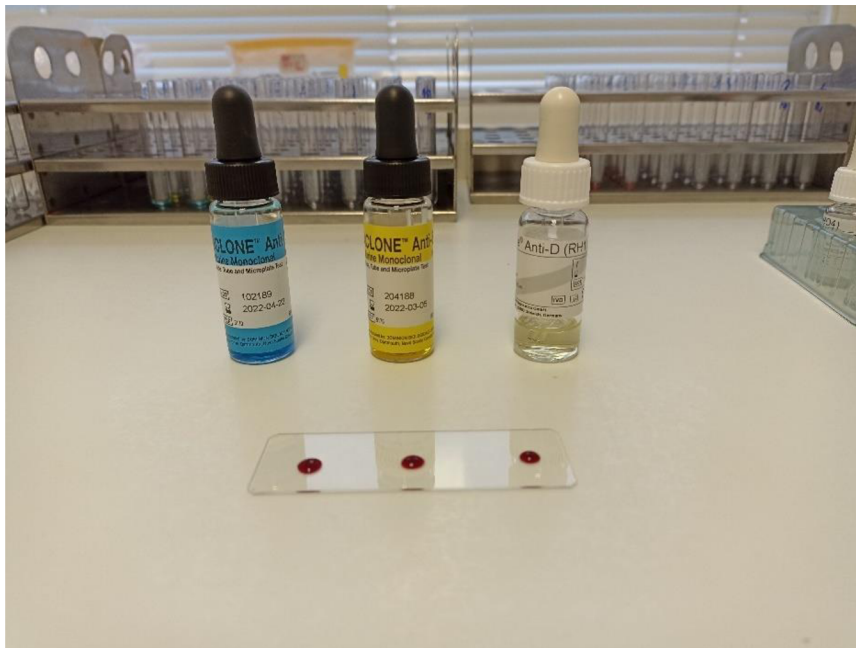
číslo těhotné ženy	krevní skupina	RhD	diagnóza GDM (+-)	věk
163	0	+	+	39
164	0	+	+	39
165	0	+	-	38
166	0	+	-	38
167	0	+	-	37
168	0	+	-	36
169	0	+	-	35
170	0	+	-	34
171	0	+	-	34
172	0	+	-	33
173	0	+	-	33
174	0	+	-	32
175	0	+	-	32
176	0	+	-	32
177	0	+	-	32
178	0	+	-	31
179	0	+	-	31
180	0	+	-	31
181	0	+	-	31
182	0	+	-	31
183	0	+	-	31
184	0	+	-	30
185	0	+	-	30
186	0	+	-	30
187	0	+	-	30
188	0	+	-	30
189	0	+	-	30
190	0	+	-	30
191	0	+	-	30
192	0	+	-	29
193	0	+	-	29
194	0	+	-	29
195	0	+	-	29
196	0	+	-	29
197	0	+	-	29
198	0	+	-	28
199	0	+	-	28
200	0	+	-	28
201	0	+	-	27
202	0	+	-	27
203	0	+	-	26
204	0	+	-	26

číslo těhotné ženy	krevní skupina	RhD	diagnóza GDM (+-)	věk
205	0	+	-	26
206	0	+	-	25
207	0	+	-	25
208	0	+	-	25
209	0	+	-	24
210	0	+	-	24
211	0	+	-	24
212	0	+	-	24
213	0	+	-	23
214	0	+	-	23
215	0	+	-	23
216	0	+	-	23
217	0	+	-	23
218	0	+	-	23
219	0	+	-	23
220	0	+	-	22
221	0	+	-	22
222	0	+	-	22
223	0	+	-	21
224	0	+	-	20
225	0	+	-	20
226	0	+	-	20
227	0	+	-	20
228	0	+	-	20
229	0	+	-	19
230	0	+	-	19
231	0	+	-	19
232	0	+	-	19
233	0	+	-	19
234	0	+	-	19
235	0	+	-	18
236	0	+	-	17
237	0	-	-	40
238	0	-	-	39
239	0	-	+	39
240	0	-	-	36
241	0	-	-	35
242	0	-	-	35
243	0	-	-	34
244	0	-	-	31
245	0	-	-	29
246	0	-	-	28

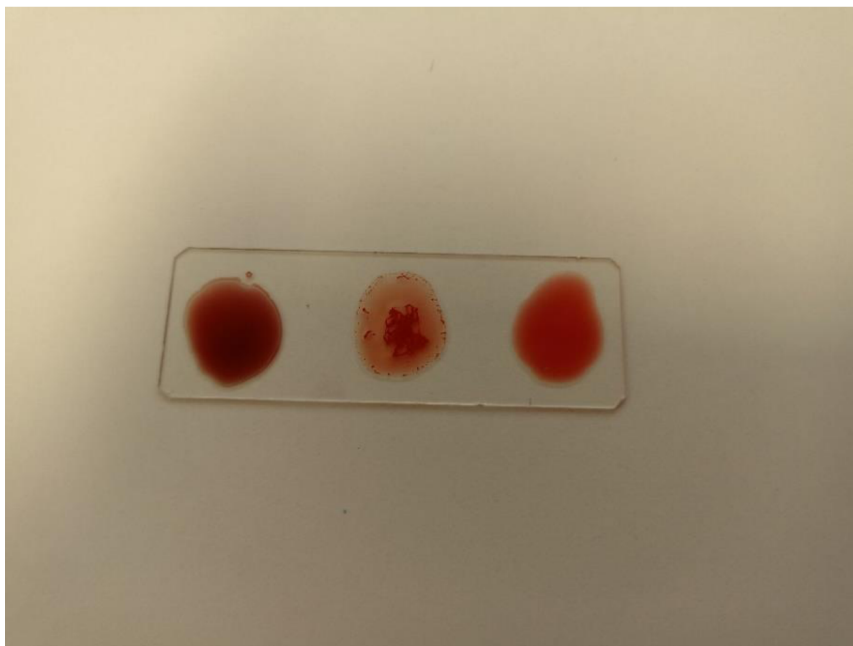
číslo těhotné ženy	krevní skupina	RhD	diagnóza GDM (+-)	věk
247	0	-	-	28
248	0	-	-	27
249	0	-	-	27
250	0	-	-	25
251	0	-	-	25
252	0	-	-	23
253	0	-	-	23
254	0	-	-	18
255	0	-	-	18
256	AB	+	-	36
257	AB	+	-	33
258	AB	+	-	33
259	AB	+	-	33
260	AB	+	-	33
261	AB	+	-	31
262	AB	+	-	31
263	AB	+	-	31
264	AB	+	-	30
265	AB	+	-	30
266	AB	+	-	30
267	AB	+	-	28
268	AB	+	-	28
269	AB	+	-	28
270	AB	+	-	27
271	AB	+	-	27
272	AB	+	-	27
273	AB	+	-	27
274	AB	+	-	24
275	AB	+	-	24
276	AB	+	-	22
277	AB	+	+	22
278	AB	+	-	22
279	AB	+	+	22
280	AB	+	-	21
281	AB	+	-	21
282	AB	+	-	20
283	AB	-	-	19

Zdroj: vlastní výzkum

## 12.2 Příloha č. 2 – Vyšetření krevních skupin krevně skupinového systému AB0



Obrázek č. 2 – Sklíčková metoda – diagnostická monoklonální séra a podložní sklíčko s kapkami krve; zdroj: vlastní



Obrázek č. 3 – Sklíčková metoda – reakce diagnostických monoklonálních sér s kapkami krve (pozitivita v prostřední kapce); zdroj: vlastní



Obrázek č. 4 – Zkumavková metoda – diagnostická monoklonální séra; zdroj: vlastní



Obrázek č. 5 – Zkumavková metoda – diagnostické erythrocyty; zdroj: vlastní

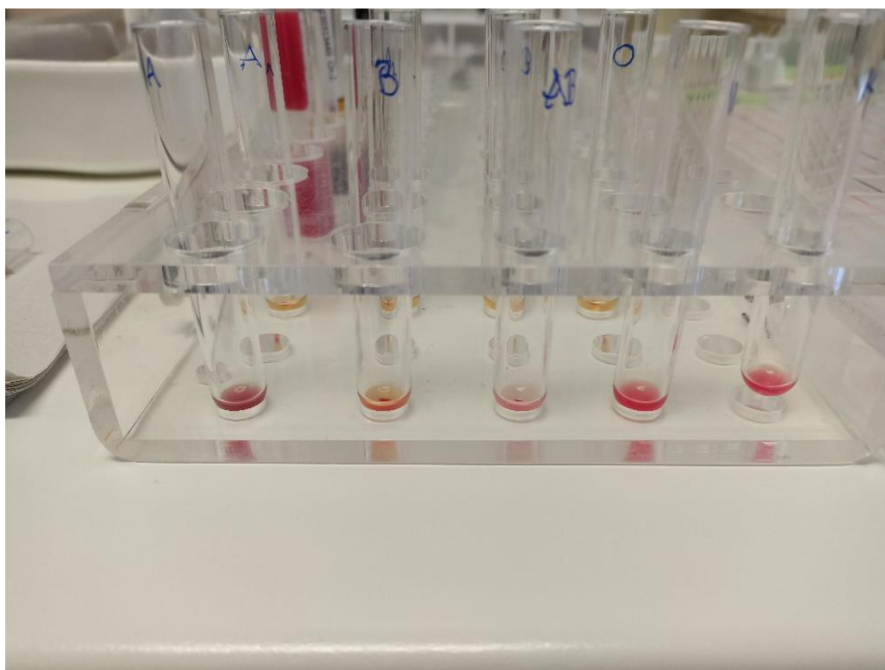




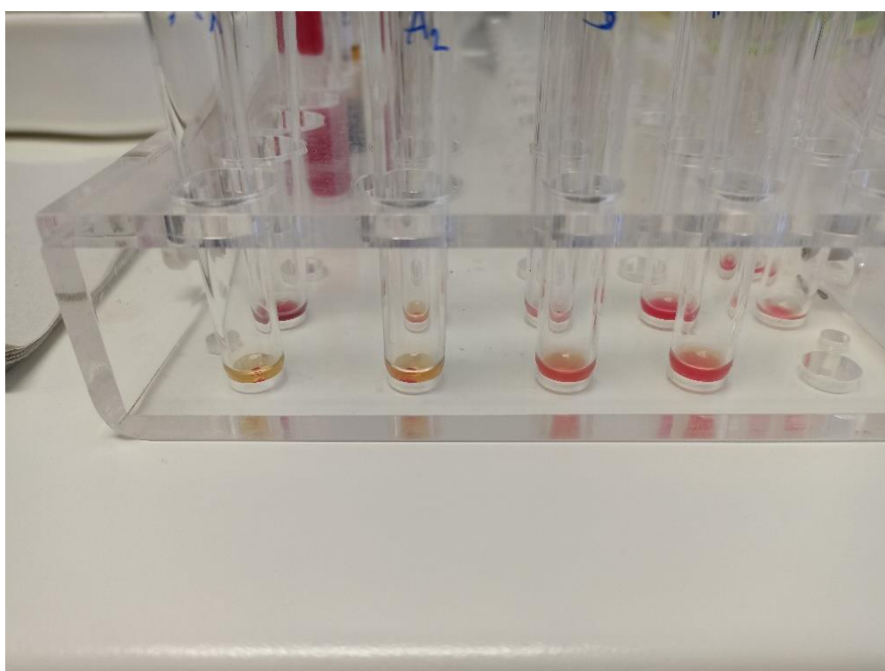
Obrázek č. 6 – Zkumavková metoda – náplav erytrocytů; zdroj: vlastní



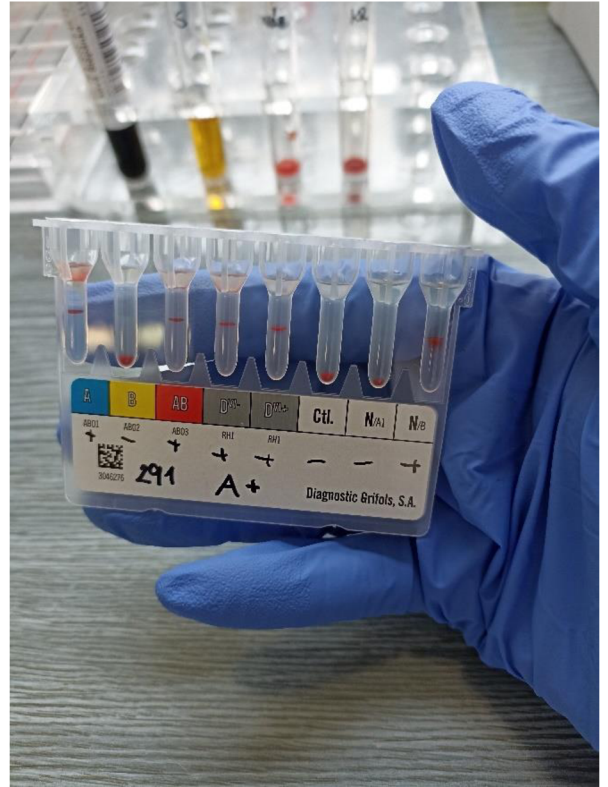
Obrázek č. 7 – Zkumavková metoda – používaná centrifuga Jouan B4i; zdroj: vlastní



Obrázek č. 8 – Zkumavková metoda – výsledky vyšetření antigenů (A, B a AB) a RhD1 a RhD2; zdroj: vlastní



Obrázek č. 9 – Zkumavková metoda – výsledky vyšetření protilátek v séru; zdroj: vlastní



Obrázek č. 10 –Metoda sloupcové aglutinace – gelová karta; zdroj: vlastní

### 12.3 Příloha č. 3 – Vyšetření glykemie



Obrázek č. 11 – Analyzátor Biosen S line Lab+ od výrobce EKF Diagnostic;  
zdroj: vlastní



Obrázek č. 12 – Používaná centrifuga Rotanta 460 od výrobce Hettich Zentrifugen;  
zdroj: vlastní



Obrázek č. 13 – Zkumavky Eppendorf s napipetovanou plazmou; zdroj: vlastní



Obrázek č. 14 – Zkumavky Eppendorf s napipetovanou plazmou a systémovým roztokem pro analyzátor glukózy; zdroj: vlastní

### **13 Seznam zkratek**

AGH – antiglobulin/antiglobulinový (z AJ antihuman globulin)

ČDS – Česká diabetologická společnost

ČGPS – Česká gynekologická a porodnická společnost

ČR – Česká republika

DM – diabetes mellitus

DNA – deoxyribonukleová kyselina

EDTA – ethylendiamintetraoctová kyselina, z AJ ethylenediaminetetraacetic acid

EPO – erytropoetin

Fab – antigen vázající fragment (z AJ fragment antigen binding)

Fc – konstantní fragment (z AJ fragment crystallizable)

GDM – gestační diabetes mellitus

HAPO – Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (tj. studie zabývající se hyperglykemií a nepříznivým vlivem na těhotenství)

HSC – pluripotentní krvetvorná kmenová buňka (z AJ hematopoietic stem cell)

IADPSG – International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (tj. Mezinárodní asociace pro studium diabetu v těhotenství)

IgA – imunoglobulin třídy A

IgD – imunoglobulin třídy D

IgE – imunoglobulin třídy E

IgG – imunoglobulin třídy G

IgM – imunoglobulin třídy M

IL – interleukiny

IS – imunitní systém

KS – krevní skupina

MODY – z AJ maturity-onset diabetes of the young, česky „diabetes mellitus u mladých lidí s časným začátkem“

mRNA – mediátorová (z AJ messenger) ribonukleová kyselina

NAT – nepřímý antiglobulinový test

NK buňky – přirození zabijáci (z AJ natural killer)

oGTT – orální glukózový toleranční test

PAT – přímý antiglobulinový test

RBC – erytrocyty (z AJ red blood cells)

RDS – syndrom dechové tísně (z AJ respiratory distress syndrome)

RNA – ribonukleová kyselina

TPO – trombopoetin

VVV – vrozené vývojové vady

WBC – bílé krvinky (z AJ white blood cells)

WHO – Světová zdravotnická organizace (z AJ World Health Organization)