

RASPODJELA GLAVNIH ALELA SUSTAVA ABO KRVNIH GRUPA U HRVATSKOJ POPULACIJI

IRENA JUKIĆ¹, JASNA BINGULAC-POPOVIĆ, MARINA SAMARDŽIJA¹, MARINA LAMPALO², ANA HEČIMOVIĆ, VESNA ĐOGIĆ i MAJA STRAUSS PATKO

Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Zagreb,

¹Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet, Osijek i

²Klinički bolnički centar Zagreb, Klinika za plućne bolesti Jordanovac, Zagreb, Hrvatska

Raspodjela krvnih grupa ABO varira diljem svijeta u različitim populacijama, ali i unutar subpopulacija. *Cilj* rada je prikazati razdiobu 5 glavnih alela ABO sustava (O1, O2, A1, A2 i B) u hrvatskoj populaciji, te ih usporediti s drugim nacijama. Istraživanje je provedeno na 303 uzorka krvi, zdravih, nesrodnih dobrovoljnih davatelja krvi (123 žena, 180 muškaraca) u dobi od 18 do 65 godina. *Metode:* Nakon izolacije genomske DNA pomoću komercijalnih kolona (QIAamp DNA Blood Mini kit, Qiagen, Njemačka) ili na uređaju MagNA Pure Compact (Roche Diagnostics Corporation, SAD), određeni su genotipovi ABO pomoću metode PCR-SSP. *Rezultati:* Genotipizacijom je utvrđeno 12 genotipova. Najzastupljeniji genotip je O1O1 (37,2 %), pa slijede O1A1 (27,1 %), O1B (15,8 %), A1B (4,3 %), A1A1 (4,0 %), O1A2 (3,6 %), O1O2 (2,6 %), A1A2 (1,7 %), O2A1 (1,7 %), A2B (1,0 %), BB (0,7 %), O2O2 (0,3 %). Među ispitanicima nisu nađena tri rijetka ABO genotipa: A2A2, O2A2, O2B. Alelne frekvencije iznose: O1 – 0,62; O2 – 0,025; A1 – 0,21; A2 – 0,035 i B – 0,11. Razdioba alela ABO u Hrvatskoj je usporediva s drugim europskim narodima. *Zaključak:* Rezultati genotipizacije ABO krvne grupe kod dobrovoljnih davatelja krvi, koji su reprezentativan uzorak hrvatske populacije, od temeljnog su značenja za istraživanja ABO sustava krvnih grupa kao genetičkog čimbenika rizika za neke bolesti, kao i za antropološka ispitivanja.

Ključne riječi: glavni ABO aleli, ABO krvna grupa, dobrovoljni davatelji krvi

Adresa za dopisivanje: Doc. dr. sc. Irena Jukić, dr. med.
Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu
10 000 Zagreb, Hrvatska
Petrova 3
E-pošta: irena.jukic@hztm.hr

UVOD

Otkrićem ABO sustava krvnih grupa 1900. godine austrijski liječnik Karl Landsteiner utemeljio je transfuzijsko liječenje. Radom Yamamota 1990. klonirani su ABO geni, što je omogućilo naprednije strukturne i funkcionalne analize ABO sustava (1). Humani ABO gen smješten je na kromosomu 9 (9q34.1-q34.2). Sadrži 7 eksona i 6 introna koji obuhvaćaju 18 kb genomske DNA. Svaki tip krvne grupe sustava ABO je pod nadzorom jednog gena s tri alela: i, IA i IB. Serološkim metodama moguće je odrediti šest fenotipova: A, B, A2, A2B, AB i O, pomoću anti-A i anti-B anti-seruma. Metodama molekularne biologije omogućena je ABO genotipizacija. Metodom PCR-SSP moguće je razlikovati glavne alele O1, O2, A1, A2 i B, tj. 15 različitih ABO genotipova (2). Uz osnovne alele, subtipizacijom je definirano puno alela s rijetkom pojavnošću

(381 ABO alela, prema podacima preuzetim iz *Blood group antigen mutation database* (3,4) čiji polimorfizmi su nastali kao posljedica SNP-ova (*single nucleotide polymorphism*) ili intragenjskim rekombinacijama zbog konverzije gena (*crossing over*).

Raspodjela krvnih grupa A, B, O i AB varira diljem svijeta po populacijama, a mogu se pratiti i varijacije unutar subpopulacija (5,6). Primjerice, u Velikoj Britaniji, distribucija krvnih grupa stanovništva pokazuje neke korelacije s invazijama i migracijama stanovništva, uključujući Vikinge, Dance, Sase, Kelte i Normane (7). Neki evolucijski biolozi tvrde da se najranije razvio alel IA, a zatim O (delecijom jednog nukleotida), te posljednji IB. To je u skladu s prihvaćenim obrascima kretanja stanovništva u prošlosti, a rezultat toga je prevladavanje nekih krvnih grupa u pojedinim zemljopisnim područjima. Tako je B krvna grupa više

zastupljena među stanovništvom azijskog kontinenta, dok je u zapadnoeuropskim zemljama relativno rijetka. Druge teorije tvrde da postoje četiri glavne linije nasljeđivanja ABO gena i da su se mutacije koje su stvorile O krvnu grupu dogodile najmanje tri puta u ljudskoj evoluciji. Oprečna ovima je ranija teorija prema kojoj je O krvna grupa najstarija (8).

U svijetu je najviše nositelja O krvne grupe, ukupno preko 50 %. Najviše stanovnika koji nemaju A i B alele potječe iz Srednje i Južne Amerike, slijede stanovnici Sjeverne Amerike i afričkog kontinenta, te dio stanovništva u Zapadnoj Europi (9). Krvna grupa O je najmanje zastupljena u istočnoj Europi. Uspoređujući A i B alele u svijetu, vidljiva je puno veća zastupljenost A alela. U svijetu je oko 21 % nositelja A alela, najviše među sjevernoameričkim Indijancima, australskim Aboridžinima, te stanovnicima skandinavskih zemalja. Zastupljenost B alela u svijetu je puno manja, samo oko 16 %. Na američkim kontinentima i Australiji je izrazito mali udio nositelja B alela, dok nositelji B alela na azijskom kontinentu čine skoro četvrtinu stanovništva. Pretpostavka je da je evolucijski najmlađa AB krvna grupa, što potvrđuju i podaci o njenoj rasprostranjenosti i učestalosti. AB krvna grupa najviše je zastupljena kod Azijata: Japanaca, Kineza, Korejaca, Hindusa u Indiji i Tatara (10-18 %), dok se u drugim populacijama pojavljuje rijetko ($\leq 5\%$). Neki narodi uopće nemaju AB krvnu grupu: Aboridžini, Maori, Malezijci, Navaho Indijanci, Indijanci iz Perua, Nikobari i Sudanci (9).

Nedvojbena je povezanost nastanka protutijela na ABO krvne grupe s pojedinim bolestima, kao što su hemolitičke transfuzijske reakcije, hemolitička bolest novorođenčeta, autoimune hemolitičke anemije, odbacivanje presatka. Mnogi znanstvenici ispituju povezanost ABO sustava krvnih grupa kao genetičkog čimbenika, s različitim bolestima, a potvrđena je povezanost kod kardiovaskularnih, gastroduodenalnih, tumorskih bolesti i infekcija (10-13).

Povezanost između ABO krvnih grupa i bolesti koje rezultiraju pomakom koagulacijske ravnoteže stvaranju tromba dokazana je u mnogim ispitivanjima (14-16). To je potvrđeno brojnim studijama venskih tromboza kod nositelja ne-O krvnih grupa koji imaju veću razinu von Willebrand čimbenika koji posreduje pojačanu adheziju i agregaciju trombocita (17). Veliki broj ispitivanja usmjeren je na ispitivanje povezanosti ABO sustava krvnih grupa i pojavnosti malignih bolesti. Tako je utvrđena češća pojava karcinoma kod osoba krvnih grupa A ili AB uz obrazloženje da tumorski biljezi imaju značajke nalik na antigen A, pa ih teško otkrivaju imuni sustavi krvnih grupa A i AB (18-20). Postoje dokazi o sklonosti pojedinih bakterija, virusa i parazita za vezanje na eritrocite s određenim anti-

genima ABO krvnih grupa, koji djeluju kao receptori. Primjer za to je da su nositelji O krvne grupe relativno rezistentni na teški oblik malarije (21). Pretpostavlja se da su glavne razlike u građi ABO sustava krvnih grupa, s obzirom na oligosaharidne komponente, u različitim dijelovima svijeta bile povezane s epidemijama infektivnih bolesti u prošlosti (22).

CILJ RADA

S obzirom da nema sustavnih podataka o razdiobi glavnih alela ABO sustava krvnih grupa u Republici Hrvatskoj, cilj ovog rada je prikazati učestalost 5 glavnih alela ABO KG sustava i ABO genotipova u hrvatskoj populaciji, te načiniti usporedbu razdiobe ABO genotipova s drugim nacijama.

ISPITANICI I METODE RADA

Nakon odobrenja Etičkog povjerenstva istraživanje je provedeno na 303 uzorka krvi, zdravih, nesrodnih dobrovoljnih davatelja krvi (DDK), građana Republike Hrvatske. DDK koji dolaze u Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu nastanjuju Zagreb i širu zagrebačku regiju te su reprezentativan uzorak pučanstva zemljopisnog podrijetla iz cijele Hrvatske. Skupinu je sačinjavalo 123 žene i 180 muškarca, u dobi od 18 do 65 godina. Svim ispitanicima uzet je uzorak u epruvetu s EDTA od 8,5 mL periferne krvi. Uzorci su centrifugirani tijekom 10 minuta na 2500 okretaja/min. Nakon toga su zamrznuti na temperaturi od -80°C do postupka izolacije genomske DNA. Izolacija genomske DNA učinjena je iz leukocitnog sloja pomoću komercijalnih kolona QIAamp DNA Blood Mini kit (Qiagen, Njemačka) ili na uređaju *MagNA Pure Compact* uz uporabu *MagNA Pure LC* reagensnog kita (*Roche Diagnostics Corporation, SAD*).

ABO GENOTIPIZACIJA POMOĆU METODE PCR-SSP (ALEL SPECIFIČNI PCR)

U svrhu određivanja ABO genotipova DDK korištena je PCR-SSP metoda (od engl. *Sequence Specific Primering*) uz uporabu 8 parova oligonukleotidnih začetnika (*primera*) specifičnih za određene sekvence pojedinih ABO alela u osam paralelnih PCR reakcija. Metoda PCR-SSP je preuzeta iz literature (23), a modificirana u laboratoriju Odjela za molekularnu dijagnostiku Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu. Izmijenjeni su oligonukleotidni začetnici u dvije PCR

reakcije 7 i 8: A2-7 5'-CAG GCG GTC CGG AAG CG-3'; A2-8 5'-CAG GCG GTC CGG AAC ACG-3'; A2-r/2 5'-GTG TGT GTG ATT TGA GGT GGG GAC-3' i program temperatura za umnožavanje. U svakoj SSP reakciji istodobno je umnožen i ulomak gena za humani hormon rasta (*Human growth hormone* - HGH) kao interna pozitivna kontrola da bi se potvrdila prisutnost DNA u reakcijskoj smjesi. ABO genotipizacija pomoću PCR-SSP metode na 5 glavnih alela omogućava razlikovanje 15 genotipova sustava ABO.

STATISTIČKA ANALIZA

Dobiveni rezultati prikazani su u tablicama s apsolutnom i relativnom učestalošću N (%). Dob sudionika prikazana je medijanom i rasponom. Statistička analiza dobivenih rezultata sastojala se od statističkih usporedbi pomoću odgovarajućih testova za populacijske genetičke analize i usporedbe ne-numeričkih podataka te određivanja statističke značajnosti rezultata u odnosu na očekivane rezultate (hi-kvadrat test). Sve vrijednosti P manje od 0,05 smatrane su statistički značajnim. Hardy-Weinberg jednadžba je korištena za predviđanje učestalosti određenih genotipova s obzirom na opažene frekvencije alela (24). Za statističku obradu podataka korišten je softverski sustav MedCalc14.

REZULTATI

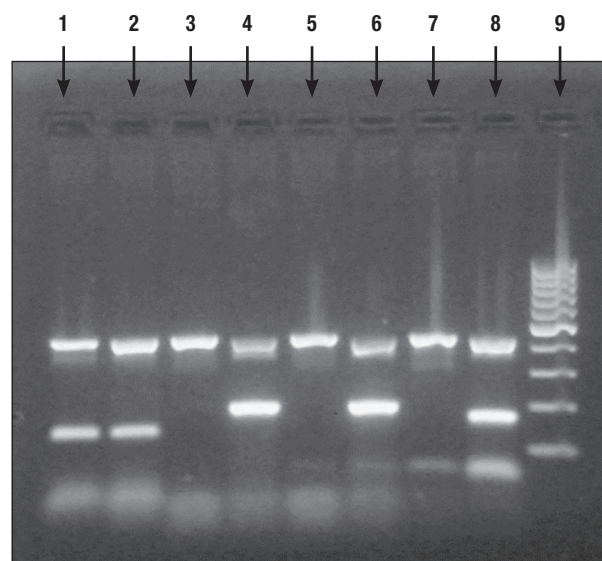
Skupinu je sačinjavalo 123 žena (40,6 %) i 180 muškarca (59,4 %) u dobi od 18 do 65 godina. Slika 1. prikazuje genotip O1A1 dobiven PCR-SSP metodom. Rezultati dobiveni genotipizacijom dobrovoljnih davatelja krvi prikazani su u tablici 1, a na sl. 1 prikazan je genotip O1A1. Detekcija umnoženih PCR-SSP produkata učinjena je pomoću elektroforeze na gelovima s etidij bromidom, pri naponu od 60-100 V (25). Genotipizacijom DDK u RH utvrđeno je 12 od 15 genotipova. Najzastupljeniji je bio O1O1 (37,2 %), pa slijede O1A1 (27,1 %), O1B (15,8 %), A1B (4,3 %), A1A1 (4,0 %), O1A2 (3,6 %), O1O2 (2,6 %), A1A2 (1,7 %), O2A1 (1,7 %), A2B (1,0 %), BB (0,7 %) te O2O2 (0,3 %). Među ispitivanim davateljima nitko nije imao jedan od 3 rijetka ABO genotipa: A2A2, O2A2, O2B. Kako bismo odredili specifičnost metode ABO genotipizacije, usporedili smo ABO fenotip (A, B, O i AB) koji je bio zabilježen u medicinskoj dokumentaciji davatelja, s određenim genotipom ABO. Utvrđena je 100 % korelacija između određenog genotipa i fenotipa. Podatci o rasprostranjenosti pojedinih ABO alela u DDK prikazani su u tablici 2. Najzastupljeniji je alel

O1 (62 %), nakon čega slijedi A1 (21 %), B (11 %), A2 (3,5 %), a najrjeđi je O2 (2,5 %) alel. U tablici 3 prikazani su rezultati dobivenih i očekivanih frekvencija ABO genotipova po Hardy-Weinberg (HW) jednadžbi. Uspoređujući opažene i očekivane frekvencije nije utvrđena statistički značajna razlika između njih ($P = 0,5658$), te se može zaključiti da je populacija u stanju Hardy-Weinberg ravnoteže za ABO genotipove, a rezultati opaženih frekvencija mogu se jasnije usporediti s drugim populacijama.

Tablica 1.

Rezultati dobiveni genotipizacijom dobrovoljnih davatelja krvi

Krvna grupa ABO fenotip	Krvna grupa ABO genotip	Ispitanici N (%)
O 122 (40,2%)	O1O1	113 (37,2)
	O1O2	8 (2,6)
	O2O2	1 (0,3)
A 115 (38,0%)	O1A1	82 (27,1)
	O1A2	11 (3,6)
	O2A1	5 (1,7)
	O2A2	-
	A1A1	12 (4,0)
	A1A2	5 (1,7)
	A2A2	-
B 50 (16,5%)	O1B	48 (15,8)
	O2B	-
	BB	2 (0,7)
AB 16 (5,3%)	A1B	13 (4,3)
	A2B	3 (1,0)
UKUPNO N		303



Sl. 1. Krvna grupa A, genotip O1A1, PCR-SSP metoda, 1,5 % agarozni gel. Linije: 1-134 pb, 2-133 pb, 4-193 pb, 6-194 pb, 8-173 pb. Pozitivna interna kontrola 434 pb. Linija 9-molekularni biljeg 100 pb., I. Jukić, HZTM

Tablica 2.
 Zastupljenost pojedinih alela ABO u DDK

aleli ABO	Ispitanici N (%)	Frekvencija alela – ispitanici N (%)	Očekivana frekvencija (%)
O1	375 (62 %)	385 (64,5)	63,53 %
O2	15 (2,5 %)		
A1	129 (21 %)	153 (24,5)	25,25 %
A2	19 (3,5 %)		
B	68 (11 %)	68 (11)	11,22 %

Tablica 3.
 Rezultati dobivenih i očekivanih frekvencija pojedinih ABO
 genotipova

ABO genotip	Broj ispitanika	Očekivani Broj	Opažena frekvencija (%)	Očekivana frekvencija (%)
O1O1, O1O2	122	122,3	40,1	40,36
O1A1, O1A2	93	97,2	32,4	32,08
A1A1, A1A2	22	19,31	6,37	6,37
A1B, A2B	16	17,17	5,67	5,67
BB	2	3,82	1,26	1,26
O1B, O2B	48	43,2	14,26	14,26

RASPRAVA

Nakon otkrića ABO sustava početkom 20. stoljeća i praktične primjene znanja o neophodnoj kompatibilnosti između davatelja i primatelja krvi u bolnicama, počeci transfuzijske medicine u Hrvatskoj sežu u daleku prošlost. Prvo registrirano transfuzijsko liječenje u Hrvatskoj provedeno je 1923. godine u Petrovoj bolnici. Od tada pa sve do danas, kada se u cijelom procesu od davatelja krvi do kliničke primjene pripravaka primjenjuju moderni i sofisticirani postupci, glavna težnja je i nadalje postizanje što veće podudarnosti između davatelja i primatelja te što sigurnije transfuzijsko liječenje pri čemu glavnu ulogu i dalje ima ABO sustav krvnih grupa.

Poznato je da učestalosti gena, tj. frekvencije gena za polimorfizme krvnih grupa uglavnom služe kao biljezi pojedinih populacija i rasa (26). Rezultati ispitivanja populacijske genetike za ABO sustav utvrdili su najvišu učestalost O gena (>0,7) u Americi i nekim dijelovima Afrike i Australije, dok učestalost O gena nije bila tako velika na europskom i azijskom kontinentu (27). Frekvencija O2 alela iznosi u Europi od 0,017 do 0,033; a uopće ga nema u istočnoj Aziji. Učestalost alela A je relativno velika u Europi (0,25-0,55), zastupljenost je

veća od 0,45 kod Aboridžina na jugu Australije, a do 0,35 se nalazi kod starih američkih plemena. Alel A2 uglavnom se nalazi u Europi i Africi, gdje ne prelazi učestalost od 0,1 a drugdje u svijetu je veoma rijedak. Frekvencija B alela u Europi varira od 0,15 na istoku do <0,05 na zapadu, u Nizozemskoj i Francuskoj. Najviša frekvencija alela B je u Aziji (0,2-0,3), dok ga gotovo nema kod američkih starosjedilaca i australskih Aboridžina (26).

U hrvatskoj populaciji najčešća je fenotipski krvna grupa A (41 %), zatim slijede krvne grupe O (39%), B (15%), a najmanje je zastupljena krvna grupa AB (5 %). Dosada nije provedena studija ispitivanja genotipova ABO krvne grupe u hrvatskoj populaciji. U ovom radu načinjena je genotipizacija 303 dobrovoljnih davatelja krvi pomoću PCR-SSP metode na 5 osnovnih alela, koja omogućuje razlikovanje 15 ABO genotipova.

Ispitivana skupina DDK skupljena slučajnim odabirom odražava prije navedeni postotak učestalosti četiri krvne grupe u hrvatskoj populaciji, uz blaže varijacije (40,2 % O; 38,0 % A, 16,5 % B; 5,3 % AB).

Treba naglasiti da su dobrovoljni davatelji krvi koji dolaze u Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, a koji nastanjuju Zagreb i širu zagrebačku regiju, reprezentativan uzorak pučanstva zemljopisnog podrijetla iz cijele Hrvatske. Najveća je bila učestalost O1(0,620) alela, slijedi alel A1(0,210), a najmanja je pojavnost O2 (0,025) alela u hrvatskoj populaciji.

Zastupljenost O alela u Srednjoj Americi (0,64) i Francuskoj (0,64) slična je zastupljenosti istog alela u Hrvatskoj (0,65), dok je u Japanu (0,55), u Africi (0,57) i među Indijcima (0,56) nešto niža. Frekvencija B alela je u našoj populaciji (0,11) veća nego među Amerikancima (0,07) ili Francuzima (0,06), a manja nego kod stanovnika Japana (0,17), Afrike (0,21) ili Indije (0,26). Sve uspoređivane populacije su najslabije zastupljenosti A alela: Amerika 0,26, Francuska 0,3, Japan 0,28, Afrika 0,22, Indija 0,18, a Hrvatska 0,24 (27,28). Među stanovnicima Jordana fenotipski je vodeća krvna grupa A (38 %), slijedi O (37 %), pa B (18 %) i AB (7 %), a prema analizi genotipova ABO pronađeno je najviše nositelja OO genotipa (37,1 %), zatim AO (33,3 %), slijedi BO (13,3 %), pa AB (9,52 %), AA (5,7 %), a najrjeđi su nositelji genotipa BB (0,9 %) (29). Talijanski istraživači ispitali su učestalost ABO genotipova u skupini od 250 talijanskih DDK. Najčešći genotip je bio O1O1, slijede AB, OB, OA te manje zastupljeni AA, BB i O1O2 (30).

Među stanovnicima Kuwaita je veća zastupljenost nositelja fenotipski B krvne grupe, a distribucija alela među ispitanicima je: A1 – 0,0746, A2 – 0,0592, B

– 0,1676, O1 – 0,6831 i O2 – 0,0155 (31). Ogasawara i sur. su u svom istraživanju utvrdili kako su A1O2 i B1O1 vodeći genotipovi među Japancima, ukupno zastupljeni s 83 % i 87 % unutar svojih alelnih grupa dok su unutar krvne grupe O pronašli 53 % nositelja O2O1 genotipa te 43 % nositelja O1O1 genotipa (32). Zaključno, razdioba alela u Hrvatskoj je usporediva s drugim europskim narodima. Prema učestalosti B alela, više se ipak priklanjamo istoku Europe, a najvjerojatnije je to posljedica migracija stanovništva u prošlosti. Bitno je naglasiti na kraju da su ugljikohidratni antigeni koji su dijelovi ABO sustava krvnih grupa blisko srodni antigenima u bakterijama, biljkama i životinjama. To je dokaz konzervacije i očuvanja gena ABO tijekom evolucije i odražava važnost sustava ABO(H) antigena ne samo pri transfuziji krvi, već i u važnim biološkim funkcijama u eritrocitima. Podatci dobiveni ispitivanjem Hardy-Weinberg ravnoteže govore u prilog tome da genetske varijacije u hrvatskoj populaciji ostaju konstantne, tj. stabilne tijekom prijelaza iz jedne generacije u drugu što upućuje da ne postoje čimbenici koji narušavaju ovu ravnotežu.

Proučavanje fiziologije i uloge glikanskih struktura čimbenika vWF trebalo bi pomoći u razumijevanju mehanizama kojima krvne grupe doprinose trombotičkom riziku, kao i zašto je krvna grupa genetički čimbenik u povezanosti s određenim bolestima.

Sigurno je međutim da sustav ABO djeluje još u nekim važnim biološkim funkcijama te će sustav ABO i dalje nastaviti poticati zanimanje znanstvenika koji se bave glikobiologijom, a posebno transfuziologom.

ZAKLJUČAK

U hrvatskoj populaciji najveća je učestalost O1 alela, slijede A1 i B, a najmanja je pojavnost O2 alela. Kada rezultate usporedimo s literaturnim podacima o frekvencijama ABO alela u svijetu, razdioba alela u Hrvatskoj je usporediva s drugim europskim narodima. Prema učestalosti B alela hrvatska populacija je sukladnija istoku Europe, što je najvjerojatnije posljedica migracija stanovništva u prošlosti. Rezultati genotipizacije ABO krvne grupe kod dobrovoljnih davatelja krvi, koji su reprezentativan uzorak hrvatske populacije, od temeljnog su značenja za istraživanja ABO sustava KG u hrvatskoj populaciji, a daljnje studije će istraživati povezanost ABO sustava kao genetičkog čimbenika za povećani rizik pojavnosti nekih bolesti kao i za antropološka istraživanja.

L I T E R A T U R A

1. Yamamoto F. Molecular genetics of the ABO histo-blood group system. *Vox Sang* 1995; 69: 1-7.
2. Issitt PD, Anstee DJ. *Applied Blood Group Serology*. Durham NC: Montgomery Scientific Publications, 1998, 70-85.
3. BGMUT Blood group antigen mutation database. 2017; [8 stranica]. Dostupno na URL adresi: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/gv/mhc/xslcgi.cgi?cmd=bgmut/systems_alleles&system=abo. Datum pristupa informaciji: 08. ožujka 2017.
4. Patnaik SK, Helmsberg W, Blumenfeld OO. BGMUT: NCBI dBRBC database of allelic variations of genes encoding antigens of blood group systems. *Nucleic Acids Res* 2012; 40 (Database issue): D1023-9.
5. Garratty G, Glynn SA, McEntire R. ABO and Rh(D) phenotype frequencies of different racial/ethnic groups in the United States. *Transfusion* 2004; 44: 703-6.
6. Seltsam A, Hallensleben M, Kollmann A, Blasczyk R. The nature of diversity and diversification at the ABO locus. *Blood* 2003; 102: 3035-42.
7. Potts WTW. *History and Blood Groups in the British Isles*. U: Sawyer PH, ed. *English Medieval Settlement*. New York: St. Martin's Press, 1979, 236-53.
8. Klein HG. 2005; Why Do People Have Different Blood Types? [1 stranica]. Dostupno na URL adresi: <http://www.scientificamerican.com/article/why-do-people-have-differ/>, Datum pristupa informaciji: 16. siječnja 2017.
9. Bloodbook.com.2017; Racial and ethnic distribution of ABO blood types. [3 stranice]. Dostupno na URL adresi: <http://www.bloodbook.com/world-abo.html>. Datum pristupa informaciji: 8.siječnja 2017.
10. Nayak SK. ABO blood groups in different diseases. *J Ind Med* 1997; 87: 449-52.
11. Garratty G. Blood groups and disease: a historical perspective. *Transfus Med Rev* 2000; 14: 291-301.
12. Anstee DJ. The relationship between blood groups and disease. *Blood* 2010; 115: 4635-43.
13. Liunbruno GM, Franchini M. Beyond immunohaematology: the role of the ABO blood group in human diseases. *Blood Transfus* 2013; 11: 491-9.
14. Wu O, Bayoumi N, Vickers MA, Clark P. ABO(H) blood groups and vascular disease: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost* 2008; 6: 62-9.
15. Jukic I, Bingulac-Popovic J, Dogic V i sur. ABO blood groups and genetic risk factors for thrombosis in Croatian population. *Croat Med J* 2009; 50: 550-8.
16. Jukic I, Bingulac-Popovic J, Dogic V i sur. Evaluation of ABO blood groups as a risk factor for myocardial infarction. *Blood Transfus* 2013; 11: 464-5.
17. Franchini M, Capra F, Targher G. Relationship between ABO blood group and von Willebrand factor levels: from biology to clinical implications. *Thromb J* 2007; 5: 14:1-5.

18. Hakomori S. Antigen structure and genetic basis of histo-blood groups A, B and O: their changes associated with human cancer. *Biochim Biophys Acta* 1999; 473: 247-66.
19. Iodice S, Maisonneuve P, Botteri E, Sandri MT, Lowenfels AB. ABO blood group and cancer. *Eur J Cancer* 2010; 46: 3345-50.
20. Franchini M, Lippi G. The intriguing relationship between the ABO blood group, cardiovascular disease, and cancer. *BMC Medicine* 2015; 13: 7.
21. Cserti CM, Dzik WH. The ABO blood group system and Plasmodium falciparum malaria. *Blood* 2007; 110: 2250-8.
22. Blackwell CC, Dundas S, James VS i sur. Blood group and susceptibility to disease caused by Escherichia coli O157. *J Infect Dis* 2002; 185: 393-6.
23. Gassner C, Schmarda A, Nussbaumer W, Schönitzer D. ABO glycosyltransferase genotyping by polymerase chain reaction using sequence-specific primers. *Blood* 1996; 88: 1852-6.
24. Hardy Weinberg-equilibrium calculation. 2015; [2 strane]. Dostupno na URL adresi: <http://www.had2know.com/academics/hardy-weinberg-equilibrium-calculator-3-allele>. Datum pristupa informaciji: 16. prosinca 2015.
25. Green MR, Sambrook J. Molecular cloning, a laboratory manual. New Jersey: Cold Spring Harbour Laboratory Press, 2012, 81-6.
26. Daniels G. The molecular genetics of blood group polymorphism. *Hum Genet* 2009; 126: 729-42.
27. Criswell D. ABO Blood and Human Origins. *Acts & Facts* 2008; 37: 10.
28. Ray S, Gorakshakar AC, Vasantha K, Nadkarni A, Italia Y, Ghosh K. Molecular genotyping of ABO blood groups in some population groups from India. *Indian J Med Res* 2014; 139: 105-11.
29. Hanania S, Hassawi D, Irshaid N. Allele frequency and molecular genotypes of ABO blood group system in a Jordanian population. *J Med Sci* 2007; 7: 51-8.
30. Villa A, Drago F, Misto R, F Morelati F, Poli F, Sirchia G. ABO genotyping in Italian blood donors. *Haematologica* 1996; 81: 492-6.
31. El-Zawahri MM, Luqmani YA. Molecular genotyping and frequencies of A1, A2, B, O1 and O2 alleles of the ABO blood group system in a Kuwaiti population. *Int J Hematol* 2008; 87: 303-9.
32. Ogasawara K, Bannai M, Saitou N i sur. Extensive polymorphism of ABO blood group gene: three major lineages of the alleles for the common ABO phenotypes. *Hum Genet* 1996; 97: 777-83.

SUMMARY

DISTRIBUTION OF THE MAIN ABO BLOOD GROUP ALLELES IN CROATIAN POPULATION

I. JUKIĆ¹, J. BINGULAC-POPOVIĆ¹, M. SAMARDŽIJA², M. LAMPALO³, A. HEĆIMOVIĆ¹, V. ĐOGIĆ¹
and M. STRAUSS PATKO¹

¹Croatian Institute of Transfusion Medicine, Zagreb, ²University of Osijek, School of Medicine, Osijek and
³Zagreb University Hospital Centre, Jordanovac Clinical Department for Lung Diseases, Zagreb

The frequencies of gene polymorphisms of blood groups serve as markers for populations and races. Distribution of ABO blood groups varies among populations and subpopulations around the world. *The aim of the study* was to determine distribution of the 5 main alleles of ABO system among Croatian blood donors and compare them with other populations. *Material and Methods:* The study included 303 samples of healthy unrelated volunteer blood donors, 123 female and 180 male, aged 18-65 years, as a representative sample population of Croatia. After isolation of genomic DNA using commercial columns (QIAamp DNA Blood Mini Kit, Qiagen, Germany) or on the Magna Pure Compact (Roche Diagnostics Corp., USA) device, ABO genotypes were determined by the PCR-SSP method. *Results:* Twelve of 15 ABO genotypes were identified. The most common was O1O1 (37.30%), followed by O1A1 (27.00%), O1B (15.80%), A1B (4.30%), A1A1 (4.00%), O1A2 (3.60%), O1O2 (2.60%), A1A2 (1.70%), O2A1 (1.70%), A2B (1.00%), BB (0.70%), and O2O2 (0.30%). Three rare ABO genotypes, A2A2, O2A2, and O2B, were not identified. The calculated allele frequencies of the five main alleles were as follows: O1, 0.620; O2, 0.025; A1, 0.21; A2, 0.035; and B, 0.11. In the Croatian population, O1 was found to be the most common allele, followed by A1 and B, while O2 allele was the least prevalent one. *Conclusion:* The distribution of alleles in Croatia is comparable to other European nations. According to the frequency of B allele, the Croatian population is comparable to Eastern Europe, probably due to migration of the population in the past. Results of ABO blood group genotyping have fundamental importance for research of the ABO system as a genetic risk factor for some diseases, as well as for anthropologic testing.

Key words: main ABO blood group alleles, ABO blood groups, voluntary blood donors