



С.И. Донсков, Б.М. Уртаев, И.В. Дубинкин

НОВАЯ ТАКТИКА ГЕМОТРАНСФУЗИОННОЙ ТЕРАПИИ — ОТ СОВМЕСТИМОСТИ К ИДЕНТИЧНОСТИ

Руководство для специалистов производственной
и клинической трансфузиологии

С.И. Донсков, Б.М. Уртаев, И.В. Дубинкин

**НОВАЯ ТАКТИКА ГЕМОТРАНСФУЗИОННОЙ
ТЕРАПИИ – ОТ СОВМЕСТИМОСТИ
К ИДЕНТИЧНОСТИ**

**Руководство для специалистов
производственной и клинической трансфузиологии**

Москва 2015



УДК 615.38.065
ББК 53/57

Донсков С.И.

Д 11 Новая тактика гемотрансфузионной терапии – от совместимости к идентичности. Руководство для специалистов производственной и клинической трансфузиологии /С.И. Донсков, Б.М. Уртаев, И.В. Дубинкин. – М.: Издательство БИНОМ, 2015. – 270 с.

Руководство содержит научное обоснование новой тактики гемотрансфузионной терапии, основанной на идентичности донора и реципиента по 10 трансфузионно опасным антигенам эритроцитов.

Представлены в справочной форме имеющиеся в литературе сведения о групповых антигенных системах крови человека, а также результаты собственных исследований авторов в области обеспечения иммунологической безопасности гемокомпонентной терапии.

Содержатся данные о номенклатуре антигенов эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов, генетике, геногеографии, значении в трансфузиологии и акушерстве, связи с заболеваниями и возможной роли в биологии человека.

Изложены концепции авторов, касающиеся происхождения антиэритроцитарных антител, оценки чувствительности иммуносерологических методов исследования, правила подбора идентичных пар донор – реципиент.

В приложении помещены выписки из нормативных документов.

Для врачей-лаборантов станций и отделений переливания крови, иммуносерологов, трансфузиологов, акушеров и гинекологов, антропологов, судебных медиков, преподавателей, слушателей и студентов медицинских учебных заведений, организаторов здравоохранения.

The scientific substantiation of a new transfusion tactics based on the identity of the donor and the recipient of 10 transfusion dangerous erythrocyte antigens are presented in the book.

There are published data on the systems of human blood groups, as well as the results of research by the authors on the immunological safety of blood transfusion.

Contains information about the nomenclature of antigens of red blood cells, leukocytes, and platelets, genetics, gene geography, meaning for transfusiology and obstetrics, association with illness and possible role in human biology.

Authors presented the concept of the origin of red cell antibody, sensitivity immunoserological research methods, selection of identical pairs of donor - recipient.

The appendix contains an extract from the regulations.

The guide is intended for medical laboratory blood services, transfusiologists, obstetricians and gynecologists, anthropologists, forensic doctors, teachers and students of medical schools, health care managers.

УДК 615.38.065
ББК 53/57

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	10
Общие сведения	11
Концепции совместимой крови (эволюция представлений)	15
I период (1818 – 1900 гг.) – до открытия групп крови АВО.....	16
II период. Совместимость по системе АВО (1901–1939 гг.)	17
III период. Совместимость по антигенам А, В и D (резус-фактору) (1940–1989 гг.)	18
IV период. Совместимость по антигенам А, В, D и фактору Kell (1993–2003 гг.).....	20
V период. Идентичность по 10 трансфузионно опасным антигенам: А, В, D, С, с, Е, е, С ^w , К и к (2004 г. – настоящее время)	21
VI Период. Идентичность по <i>цис</i> -антигенам: се, Се, сЕ и СЕ	29
Аллоиммунизация как глобальный популяционный процесс.....	32
Частота антител (индекс аллоиммунизации населения)	32
Структура аллоиммунизации	37
Сочетанная аллоиммунизация антигенами D и К (эффект усиления).....	42
Конкуренция антигенов	43
Геногеографическая характеристика	44
Хронобиологическая характеристика.....	47
Происхождение антиэритроцитарных антител.....	48
Контакт с группоспецифическими субстанциями окружающей среды.....	50
Мутации генов, контролирующих репертуар иммуноглобулинов.....	51
Трансплацентарный переход антителпродуцирующих клеток от матери к плоду	51
Аллоиммунизация в постнатальном периоде	53
Аллоиммунизация половым путем	57
Риск посттрансфузионных осложнений и принцип их профилактики	59
Серология посттрансфузионных осложнений	63
Диагностика АВО-несовместимости	63
Диагностика Rh-несовместимости.....	66
Блокада антител	71
Клинические примеры.....	71

Отсроченные гемолитические реакции	76
Частота ОГР	77
Сроки обнаружения антител, вызывающих ОГР	80
Профилактика ОГР.....	85
Кровяные химеры	85
Трансплантационные химеры.....	87
Трансфузионная тактика при кровяных химерах	87
Гемолитическая болезнь новорожденных.....	88
Этиология.....	88
Патогенез	91
Клинические формы ГБН	92
Лабораторная диагностика	92
Прогноз	94
Профилактика	94
Лечение	95
ГБН, обусловленная антителами анти-А и анти-В.....	96
Неонатальная тромбоцитопеническая пурпура	96
Система обеспечения иммунологической безопасности переливания эритроцитов (организационная структура, методология)	98
Принципы обеспечения иммунологической безопасности переливания эритроцитов	99
Шкала приоритета трансфузионно опасных антигенов.....	101
Профилактика посттрансфузионных осложнений по антигенам Kell и hr'(c).....	102
Тактика трансфузиолога	104
Антигены эритроцитов.....	105
Системы АВО и Hh.....	105
Система АВО	105
Подгруппы крови.....	107
Отсутствие изогемагглютининов.....	107
Антиген С.....	108
<i>Цис-АВ</i>	109
Частота распределения.....	110
Система Hh.....	110
Химическая природа антигенов А, В и Н	111
Групповые антигены в тканях	112
Выделительство.....	113

Парадоксальное выделительство	114
Молекулярно-генетическая основа антигенов А, В, Н и их наследование	115
Генный комплекс $AB(H)$	115
Значение антигенов АВО в клинической практике.....	116
Гемолитические трансфузионные реакции.....	116
Правила подбора совместимой крови по системе АВО	116
Антитела, не имеющие клинического значения	117
Экстраагглютинины	117
α_1 и α_2	117
Анти-Н.....	118
Система Rh	118
Значение в медицине и биологии	118
Трактовка резус-принадлежности	120
Биологическая роль антигенов резус	121
Классификация.....	122
Номенклатура, фенотипы и генотипы	123
Наследование	124
Генетические теории	126
Эффекты <i>транс</i> и <i>цис</i>	127
Экспрессия антигенов Rh	128
Структура полипептидов Rh.....	128
Антиген Rh ₀ (D).....	129
Парциальные D-антигены.....	130
Слабые формы антигена D (фенотип D ^u)	131
Антигены rh'(C), hr'(c), rh''(E), hr''(e) и ассоциированные с ними факторы системы Rh	132
Антигены f(ce), rh ₁ (Ce), Rh27(cE), Rh22(CE), V(ce ^S) и VS(Ce ^S). 134	
Редко и часто встречающиеся антигены Rh.....	135
Фенотипы делеций	136
Фенотипы Rh _{null} и Rh _{mod}	137
Онтогенез и филогенез антигенов Rh	138
Распределение антигенов Rh при опухолях и анемиях.....	139
Системы Kell и Kx	140
Парциальные К-антигены и парциальные анти-К-антитела	142
Ослабленные варианты К.....	144
Трансформация К ⁻ в К ⁺ , К ⁺ в К ⁻	145

Система Kx	145
Система MNS	146
Системы P, GLOB и коллекция 209 GLOB	148
Система Lutheran.....	150
Система Lewis	151
Особенности антигенов Lewis у детей.....	154
Система Duffy	154
Система Kidd.....	156
Система Diego	158
Система Cartwright.....	159
Система Xg	161
Система Scianna	162
Система Dombrock.....	163
Система Colton	164
Система LW.....	165
Система Chido/Rodgers.....	166
Система Gerbich	167
Система Cromer.....	167
Система Knops.....	168
Система Indian.....	169
Система Ok	169
Система RAPH	170
Система John Milton Hagen	171
Система I.....	172
Система GIL	172
Система RHAG.....	173
Система FORS	174
Система JR (Junior)	174
Система LAN (Langereis)	176
Система TF (GATA1, KLF1)	177
Коллекция 208 Er	178
Коллекция 211 Vel	178
Серии антигенов 700 и 900	179
Группы крови в биологии человека.....	180
Групповые антигены в природе.....	180
Геногеография групп крови.....	181
Группы крови и болезни	182
Угнетение экспрессии антигенов ABO и H при лейкозах	183
Группы крови при заболеваниях желудочно-кишечного трак-	

та.....	184
Группы крови и диета.....	185
Группы крови и продолжительность жизни.....	186
Объем особи в пространстве.....	186
Регуляторная функция антител	187
Антигенный полиморфизм бесконечен	188
Методы определения групп крови	189
Порядок иммуносерологических исследований	189
Техника иммуносерологических исследований.....	190
Подготовка к анализу	191
Фенотипирование донора и реципиента	191
Определение группы крови	191
Определение резус-принадлежности и других антигенов.....	192
Экспресс-метод на плоскости	192
Реакция конглотинации с применением 10% желатина ...	193
Реакция конглотинации с применением универсального реагента.....	194
Реакция агглютинации в солевой среде	195
Пробы на индивидуальную совместимость крови донора и реципиента	196
Двухэтапная проба в пробирках с антиглобулином.....	197
Проба на совместимость на плоскости при комнатной температуре.....	197
Непрямая проба Кумбса	198
Проба на совместимость с применением 10% желатина	199
Проба на совместимость с применением 33% полиглобулина	199
Диффузионно-адгезионные технологии	200
Теория чувствительности иммуносерологических методов исследования.....	202
Ошибки при определении групп крови	215
Технические ошибки.....	216
Трудноопределимые группы крови.....	218
Антигены лейкоцитов*	223
HLA-система	224
Генетика	229
Антигены HLA на эритроцитах	233
Vg ^a , Vg ^b и Vg ^c	233
Клиническое значение.....	235

HLA и болезни	236
HLA-зависимые заболевания.....	237
Маркеры лимфоцитов	238
KIR-рецепторы	240
Антигены тромбоцитов.....	241
Значение в трансфузиологии	243
Посттрансфузионная тромбоцитопеническая пурпура	244
Групповые антигенные системы белков сыворотки	245
Групповые антигены глобулинов	245
Система Gm	245
Система Km (Inv)	246
Система Gc.....	246
Групповые антигены липопротеинов	246
Система Ag	247
Система Au	247
Система Lp и Ld	247
Заключение.....	247
Рекомендуемая литература.....	248
Приложения	250
1. Выписка из Постановления Правительства Москвы от 30.12.2008 г. № 1282-ПП «О Городской целевой программе «Развитие донорства крови и ее компонентов» на 2009–2010 гг.....	250
2. Выписка из ГОСТ Р52938–2008 «Кровь донорская и ее компоненты. Контейнеры с консервированной кровью или ее компонентами. Маркировка»	250
3. Выписка из Постановления Правительства РФ от 31 декабря 2010 г. № 1230.....	251
4. Выписка из приказа МЗ РФ от 02.04.2013 г. № 183н «Об утверждении правил клинического использования донорской крови и (или) ее компонентов»	257
III. Правила проведения трансфузии (переливания) донорской крови и (или) ее компонентов	257
IV. Правила исследований при трансфузии (переливании) донорской крови и (или) ее компонентов.....	259
V. Правила и методы исследований при трансфузии (переливании) консервированной донорской крови и эритроцитсодержащих компонентов.....	261
VI. Правила и методы исследований при трансфузии	262

(переливании) свежезамороженной плазмы и тромбоцитного концентрата (тромбоцитов)	262
VIII. Правила проведения трансфузии (переливания) свежезамороженной плазмы	264
IX. Правила трансфузии (переливания) криопреципитата	265
X. Правила трансфузии (переливания) тромбоцитного концентрата (тромбоцитов)	265
XII. Правила трансфузии (переливания) донорской крови и (или) ее компонентов детям	265

Введение

В последнее десятилетие многие специалисты в области трансфузионной медицины пришли к пониманию того, что глобальная сеть учреждений клинической гемотрансфузиологии, осуществляющая десятки миллионов переливаний крови и ее компонентов в год, наряду с очевидным медико-социальным эффектом приносит и определенные нежелательные элементы. Речь, в частности, идет о неизбежном риске аллоиммунизации реципиентов трансфузионно опасными минорными антигенами эритроцитов, ятрогенном повышении индекса аллоиммунизации населения, что, соответственно, увеличивает частоту посттрансфузионных гемолитических реакций, а также частоту рождения детей с гемолитической болезнью.

Современная медицинская (гемотрансфузиологическая) культура уже не может мириться с широкомасштабной искусственной аллоиммунизацией населения. Осмысление этого факта привело к поиску выхода из создавшегося положения.

Основной целью руководства явилось научное обоснование, практическое применение и популяризация новой тактики гемотрансфузионной терапии. Эта тактика проста: недостаточно переливать кровь, совместимую по 3 антигенам эритроцитов (ABO- и резус-принадлежности), необходимо переливать кровь, идентичную по 10 и более трансфузионно опасным антигенам.

От совместимости к идентичности – вот основная идея книги.

Такой подход позволит обеспечить, прежде всего, неотъемлемое право реципиента на качественную гемотрансфузионную помощь, поскольку гарантирует ее эффективность и безопасность, минимизирует риск аллоиммунизации и связанных с ней осложнений.

Отрадно констатировать, что Министерство здравоохранения России издало приказ от 02.04.2013 г. № 183н «Об утверждении правил клинического использования донорской крови и (или) ее компонентов», предусматривающий переливание крови, идентичной по указанным 10 антигенам, и обязательное определение у реципиентов антиэритроцитарных антител.

Общие сведения

Известно более 40 групповых антигенных систем крови человека, включающих суммарно более 1 000 антигенов эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов и белков плазмы, определяемых с помощью специфических антител и молекулярно-биологических методов исследования.

Антигены эритроцитов человека представлены 33 групповыми системами, 7 коллекциями и 2 сериями (общие и частные). Всего до 2014 года идентифицировано 340 антигенов эритроцитов, установлена их химическая структура, локализация в мембране эритроцита, расположение соответствующих генов на хромосомах.

Групповые антигены клеток крови и плазмы, как правило, не связаны с полом и не меняются на протяжении жизни. Сочетание их индивидуально у каждого человека. Одинаковые комбинации групповых антигенов крови у людей не встречаются, за исключением монозиготных близнецов, у которых они практически идентичны, однако и в этих случаях могут иметь индивидуальные отличия по степени вы-

раженности или другим параметрам. Частота групп крови среди представителей различных рас и этнических групп неодинакова, что, как считают, обусловлено геногеографической адаптацией вида *Homo hominis* в процессе эволюции.

По химической природе групповые антигены крови являются белками, полисахаридами или сложными комплексами белков, углеводов и липидов. Большое разнообразие групповых антигенов обусловлено множеством аллелей в соответствующих генных локусах. Гены, контролирующие синтез полисахаридных антигенов (ABO, H, P, Lewis и Ii), управляют специфическими ферментами – гликозилтрансферазами, которые присоединяют терминальные углеводородные группы к полисахаридным цепям-предшественникам и формируют таким образом антигенную структуру. Гены, контролирующие протеиновые антигены (Rhesus, Kell, Lutheran и др.), непосредственно синтезируют полипептиды, несущие антигенные детерминанты. Некоторые антигены, присутствующие на клетках, представляют собой белково-полисахаридные комплексы, адсорбированные из плазмы (антигены систем Lewis, Chido/Rogers).

Группоспецифические вещества, подобные групповым агглютинагенам и групповым агглютинином человека, широко распространены в природе. Многие виды животных, растений, бактерий, объекты неорганической природы содержат эти вещества.

Группы крови имеют значение не только в медицине, но и в биологии человека. Групповые гликопротеины, как структурный элемент мембраны клеток, обеспечивают регуляторную и трофическую функцию, перенося на себе ферменты, гормоны и белки плазмы, в силу химического сродства выступают в роли перекидных мостиков, по которым патогенные микроорганизмы проникают в клетку или доставляются к клеткам-мишеням. Они связаны с малоизученными органоспецифическими антигенами важнейших желез внутренней секреции и играют немаловажную роль в адаптации человека как биологического вида к факторам внешней среды.

Гликопротеин полосы 3, несущий антигены системы Diego, обеспечивает перенос анионов внутрь клеток. Антигенные детерминанты системы Colton и GIL являются составной частью аквапорина –

белка, ответственного за транспорт воды в клеточной мембране. Антигены системы Kidd участвуют в транспорте мочевины. Антигены Duffy, Lutheran, LW и Indian определяют адгезивные свойства клеток. Антигены системы Cromer препятствуют адсорбции на эритроцитах комплемента, предохраняя эритроциты от аутогемолиза, а антигены Knops, наоборот, являются рецепторами для фиксации СЗ-компонента комплемента. Гликофорины А, В, С и D, несущие антигены MN и Gerbich, придают эритроцитам отрицательный заряд и таким образом поддерживают суспензионную стабильность клеток, препятствуют их агрегации.

Отсутствие антигенов в клетках крови, нулевой фенотип, сопровождается компенсированной гемолитической анемией у лиц с фенотипом Rh_{null}, хроническим гранулематозом (синдромом McLeod) у лиц с фенотипом K₀. В большинстве случаев носители нулевого фенотипа соматически здоровы. Физиологические функции отсутствующих антигенов могут компенсироваться антигенами других групповых систем.

Клиническое значение групповых антигенов определяется их иммуногенностью – способностью вызывать образование антител, разрушающих эритроциты, лейкоциты и тромбоциты в кровяном русле. Указанные антитела обуславливают посттрансфузионные осложнения и реакции при переливании компонентов крови, гемолитическую болезнь новорожденных.

Степень иммуногенности групповых антигенов зависит от особенностей их биохимического строения, частоты распределения в популяции и, по-видимому, частоты лиц респондеров и нереспондеров по отношению к тому или иному антигену.

В соответствии с рекомендациями номенклатурной комиссии Международного общества трансфузиологов [International Society of Blood Transfusion (ISBT)] групповые антигены эритроцитов разделены на 3 категории: системы, коллекции и серии (табл. 1).

Система – это совокупность антигенных антигенов, связь которых друг с другом хорошо прослеживается. Групповые антигены, составляющие систему, кодируются аллельными или близкорасположенными генами и не зависят от генов, контролирующих другие

групповые системы. Например, четыре пары антигенных систем: K и k, Kp^a и Kp^b, Js^a и Js^b, Wk^a и Wk^b – входят в состав одной и той же групповой системы Kell.

Коллекция – это совокупность антигенов, которые имеют фенотипические (серологические, биохимические) взаимосвязи, однако генетическая связь между ними не доказана, что не позволяет выделить их в независимую систему или включить в известную. Например, антигены Le^c и Le^d выявляются на эритроцитах, когда последние не содержат антигенов Le^a и Le^b. Гены, кодирующие эти антигены, расположены на 19-й хромосоме, но не являются аллельными. Антигены Le^a и Le^b связаны с функцией гена *Le*, а антигены Le^c и Le^d – с функцией гена *Se*.

Термином «серия» обозначают группы антигенов, которые не могут быть причислены к какой-либо системе или коллекции. К серии 700 относят антигены с низкой частотой встречаемости (менее 1 %), к серии 900 относят антигены с высокой частотой (более 99 %).

Каждой системе присвоено буквенное обозначение и порядковый номер. Система ABO имеет номер 001, MNS – 002, P1 – 003, RH – 004, KEL – 006 и т. д. Каждый антиген в системе получил номер: 001 для A; 002 для B и т. д. Полный код антигена A соответствует 001001, B – 001002; антигенов D, C и E системы Rh – 004001, 004002, 004003 соответственно. Антигены могут быть записаны в виде символа и номера без нулей слева, например: RH1, RH2, RH3 по номенклатуре ISBT или Rh1, Rh2, Rh3 по буквенно-цифровой номенклатуре Розенфельда.

Таблица 1

Классификация групповых антигенов эритроцитов

Наименование системы	Символ	Номер	Номер антигена в системе								Локализация генов	
			001	002	003	004	005	006	007	008		
ABO	ABO	001	A	B	A,B	A1						19q34.1-43.2
MNSs ¹⁾	MNS	002	M	N	S	s	U	He	Mi ^a	M ^c		4q28-q31
P	P1	003	P1									22q11.2-qter
Rh ²⁾	RH	004	D	C	E	c	e	f	Ce	C ^w		1p36.2-p34
Lutheran ³⁾	LU	005	Lu ^a	Lu ^b	Lu ^{ab}	Lu4	Lu5	Lu6	Lu7	Lu8		19q12-q13
Kell ⁴⁾	KEL	006	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Ku	Js ^a	Js ^b			7q33
Lewis	LE	007	Le ^a	Le ^b	Le ^{ab}							19p13.3
Duffy	FY	008	Fy ^a	Fy ^b	Fy ³	Fy ⁴	Fy ⁵	Fy6				1q22-q23

Kidd	JK	009	Jk ^a	Jk ^b	Jk3							18q11-q12
Diego ⁵⁾	DI	010	Di ^a	Di ^b	W ^r a	W ^r b	W ^d a	R ^b a	WARR	ELO		17q12-q21
Cartright (Yt)	YT	011	Y ^t a	Y ^t b								7q22
Xg	XG	012	X ^g a									Xp22.32
Scianna	SC	013	Sc1	Sc2	Sc3							1p36.2-p22.1
Dombrock	DO	014	Do ^a	Do ^b	G ^y a	Hy	Jo ^a					12q13.2-p12.1
Colton	CO	015	Co ^a	Co ^b	Co ^{ab}							7p14
Landsteiner- Wiener	LW	016					LW ^a	LW ^{ab}	LW ^b			19p13.2-cen
Chido/ Rodgers	CH/RG	017	Ch1	Ch2	Ch3	Ch4	Ch5	Ch6	WH			6p21.3
Hh	H	018	H									19q13
Kx	XK	019	Kx									Xp21.1
Gerbich	GE	020		Ge2	Ge3	Ge4	Wb	Ls ^a	An ^a	Dh ^a		2q14-q21
Cromer	CROM	021	Cr ^a	Tc ^a	Tc ^b	Tc ^c	Dr ^a	Es ^a	IFC	WES ^a		1q32
Knops	KN	022	Kn ^a	Kn ^b	McC ^a	SI ^a	Yk ^a	McC ^b	Vil	SI3		1q32
Indian	IN	023	In ^a	In ^b								11p13
Ok	OK	024	Ok ^a									19
Raph	RAPH	025	MER2									11p15
John Milton Hagen	JMH	026	JMH	JMHK	JMHL	JMHG	JMHM					15q.22.3-q23
I	I	027	001									6p24
GLOB	P	028	001									3q25
GIL	GIL	029	001									9p13
RHAG	Duclos	030	Duclos	OI ^a	DSLK							6p11-21.1
FORS	FORS	031	FORS1									19p
Junior	Jr ^a	032	Jr ^a									4q22.1
Langereis	Lan	033	Lan									2q36
Наименование коллекций:												
Cost	COST	205	Cs ^a	Cs ^b								
Ii	I	207	I	i								
Er	ER	208	Er ^a	Er ^b								
Globo	GLOB	209		P ^k	LKE							
Vel	VEL	211	Vel	ABTI								
Н-ассоциированные		210	Le ^c	Le ^d								
Серия 700 ⁶⁾		700		By	Chr ^a		Bx ^a					
Серия 901 ⁷⁾		900	Vel		At ^a	Sd ^a		PEL	Emm	AnWj	MAM	

Системы и серии, отмеченные индексом ^{1)–7)}, включают более десяти антигенов: система MNS – 46, Rh – 52, Lutheran – 21, Kell – 30, Diego – 21, серия 700 включает 21 антиген, серия 901 – 9 антигенов.

Концепции совместимой крови (эволюция представлений)

Представления о совместимости крови, так же как и лабораторные методы ее оценки, менялись и совершенствовались на протяжении всей истории гемотрансфузиологии.

Чтобы полнее осмыслить доминирующую в настоящее время концепцию идентичной крови и прогнозировать перспективы ее

дальнейшего совершенствования, мы выделили 5 периодов ее формирования – от начальных этапов становления до уровня современных представлений.

I период (1818 – 1900 гг.) – до открытия групп крови АВО

Этот период можно характеризовать как накопительный, хотя и все последующие этапы развития указанной концепции также основаны на накоплении новых фактов.

На протяжении почти ста лет, с 1818 по 1900 год, предпринимались многочисленные, нередко успешные, но большей частью неудачные попытки переливания крови от человека человеку.

В 1818 г. Джеймс Бланделл, английский акушер, спас родильницу, погибавшую от послеродового кровотечения, перелив ей кровь мужа. С 1825 по 1830 год Бланделл выполнил 10 гемотрансфузий, 5 из которых помогли пациентам. Самуэль Лэйн, ученик Бланделла, провел удачное переливание крови больному гемофилией.

В 1932 г. акушер Андрей Мартынович Вольф в Санкт-Петербурге повторил опыт Бланделла, перелив кровь умирающей от кровотечения родильнице, и таким образом спас ее, как он пишет, от неминуемой смерти.

В целом в России в рассматриваемый период произведено (документировано) около 60 трансфузий крови (И.М. Соколов, С.И. Костарев, С.П. Коломнин, В.В. Сутугин и др.). С.П. Коломнин произвел 22 переливания крови.

Вышел ряд диссертаций (А.М. Филомафитский, 1848; В.В. Сутугин, 1865; В. Раутенберг, 1867 и др.), в которых авторы теоретически обосновывали пользу переливания крови или обобщали накопленный ими, хотя и небольшой, положительный и отрицательный опыт гемотрансфузий.

Полученные в период с 1818 по 1900 год факты и их анализ позволили сделать однозначное объективное заключение о том, что переливание крови дает выраженный лечебный эффект и является единственным результативным средством спасения жизни при острой массивной кровопотере, однако в большинстве случаев после перели-

вания крови развиваются тяжелые, нередко смертельные осложнения. Предполагали существование неких благоприятных факторов, сочетание которых обеспечивает успех переливания крови, а если таковые отсутствуют, переливание крови усугубляет состояние пациента.

Таким образом, вопрос о том, как достичь лечебного эффекта от гемотрансфузии и избежать осложнения, получил статус социального заказа и явился отправной точкой формирования концепции совместимой крови. Основное положение этой концепции базировалось на совместимости или несовместимости крови донора и реципиента. Совместимая трансфузия лечит, несовместимая – приносит вред.

II период. Совместимость по системе АВО (1901—1939 гг.)

В 1900—1901 гг. австрийский химик и врач Карл Ландштейнер, в 1907 г. чешский психиатр Ян Янский и в 1910 г. английский врач-исследователь Вильям Мосс независимо друг от друга открыли группы крови АВО.

Основополагающая находка Ландштейнера заключалась не столько в том, что он обнаружил закономерность групповой дифференцировки крови людей, сколько в его гениальном предположении, что трансфузии крови между индивидами одной группы не приводят к разрушению перелитых эритроцитов. Напротив, шок, желтуха, гемоглобинурия и другие проявления трансфузионного осложнения наблюдаются только тогда, когда пациент получил трансфузию крови другой группы.

В 1907 г. Гектоэн, по-видимому, еще не зная о работах Ландштейнера и Янского, нашел, что осложнения при переливании крови можно предупредить. Он предложил смешивать образцы крови донора и реципиента и таким образом проверять их совместимость.

Примерно в то же время Рубен Оттенберг в Нью-Йорке провел переливание крови с использованием метода перекрестной совместимости и в дальнейшем сформулировал концепцию совместимой крови, известную как «правило Оттенберга» (рис. 1).

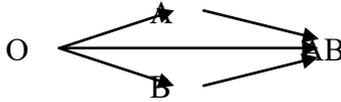


Рис. 1. Правило совместимости Оттенберга.

Открытие групп крови имело огромное практическое значение. Была объяснена причина возникновения посттрансфузионных осложнений и намечены пути их преодоления посредством подбора доноров, одинаковых с реципиентом по группе крови. С этого времени переливание крови получило научное обоснование и стало относительно быстро распространяться в медицинской практике.

Однако до 1914 г. групповая система Ландштейнера, так же как классификация групп крови Янского и Мосса, не получила должного признания. Первая мировая война коренным образом изменила ситуацию. Переливание крови оказалось востребованным и широко распространилось как высокоэффективный и безопасный лечебный метод, спасший многие жизни раненых и больных. С помощью сывороток Ландштейнера в США, Мосса в Англии, Янского в Европе и СССР стало возможным подбирать совместимую кровь.

Таким образом, в основу концепции совместимой крови на протяжении второго из рассматриваемых периодов было положено соответствие донора и реципиента по группе крови АВО, то есть по антигенам А и В.

III период. Совместимость по антигенам А, В и D (резус-фактору) (1940–1989 гг.)

В начале 1940-х годов правила подбора совместимой крови были дополнены. Соответствие донора и реципиента по группе крови АВО стало недостаточным для обеспечения полной безопасности гемотрансфузий.

Период 1930–1940 гг. характеризовался поиском сферы применения гемотрансфузий в различных областях медицины, установлением показаний для переливания крови. Кровь переливали с целью возмещения кровопотери, для парентерального питания и общей активизации функций организма, воздействия на иммунитет, для лече-

ния инфекций, истощения и при многих других патологических состояниях. Применяли как однократные, так и многократные гемотрансфузии одним и тем же реципиентам.

По мере расширения сферы применения гемотрансфузий начали проявлять себя нежелательные посттрансфузионные осложнения, обусловленные другим антигеном, не относящимся к системе АВО, – резус-фактором.

Резус-фактор (антиген D) оказался очень иммуногенным. Частота посттрансфузионных осложнений, обусловленных этим антигеном, в 1970-х годах в России составляла 50 %. Естественно, что переливание крови в целях его безопасности стали производить только при условии, если донор и реципиент имеют одинаковую группу крови АВО и одинаковую резус-принадлежность. В связи с этим в концепции совместимой крови на протяжении третьего периода декларировалось обязательное соответствие донора и реципиента уже не по двум – А и В, а по трем антигенам – А, В и D.

В России определять резус-фактор при переливании крови начали после Великой Отечественной войны. В 1947 г. появился первый отечественный метод определения резус-фактора в сывороточной среде на чашках Петри, предложенный Н. И. Блиновым и Н. С. Дробышевой, далее был разработан метод конглоутинации с желатином (А.Г. Башлай, 1960), метод конглоутинации с декстраном (О.В. Успенская, 1961; Ф.А. Траулько, 1966), которые позволили внедрить определение резус-фактора в широкую медицинскую практику. Предложенные вслед за этим экспресс-методы определения резус-фактора (А.Я. Ашкенази, 1962; С.И. Донсков, Е.А. Зотиков, Р.М. Уринсон, 1967; С.И. Донсков, 1969) существенно упростили это исследование и перевели его из разряда исключительно лабораторных методов в категорию экспресс-методов, доступных для выполнения любому врачу.

В начале 1980-х годов в России появились тестовые реагенты нового поколения – моноклональные антитела для определения групповых антигенов А, В и D (И.Л. Чертков с соавт.), которые наряду с высокой активностью и специфичностью оказались более технологичными и стали постепенно вытеснять существующие технологии

производства стандартных (поликлональных) изогемагглютинирующих сывороток анти-А, анти-В и сывороток антирезус.

Однако совершенствование техники определения резус-фактора и внедрение моноклональных антител не привнесло чего-либо нового в концепцию совместимой крови, и она до 1993 г. сохраняла упомянутый выше принцип соответствия донора и реципиента по трем антигенам: А, В и D.

IV период. Совместимость по антигенам А, В, D и фактору Kell (1993–2003 гг.)

С середины 1960-х годов основная гемотрансфузиологическая доктрина претерпела кардинальные изменения. От переливания цельной крови начали отходить, отдавая предпочтение компонентам крови: плазме, эритроцитам, тромбоцитам, делая акцент на их целевом применении.

В 1970—1990 гг., подобно тому как антиген D проявил свою иммуногенность на фоне совместимых по АВО трансфузий, начал проявлять себя фактор Келл на фоне трансфузий, совместимых по АВО и D. Трансфузионные осложнения, обусловленные фактором Келл, вышли практически на первый план.

Антиген Келл присутствует примерно у 10 % доноров, поэтому около 10 % заготавливаемой донорской крови в стране являлось К-положительной. При отсутствии подбора донора и реципиента по фактору К бóльшую часть (90 %) заготовленных К-положительных эритроцитов переливали К-отрицательным реципиентам.

Несложно подсчитать: если в 1980-е годы в СССР ежегодно производили около 10 млн трансфузий эритроцитов, то примерно 900 тыс. реципиентов ежегодно подвергались искусственной аллоиммунизации фактором К, что из года в год увеличивало число носителей анти-К-антител.

Единственным мероприятием, которое в этих условиях могло исключить риск аллоиммунизации реципиентов и профилактировать посттрансфузионные осложнения по фактору Kell, стал в первую очередь пересмотр (дополнение) концепции совместимой крови донора и реципиен-

та, а именно введение в число учитываемых трансфузионно опасных антигенов фактора Келл. С этого времени иммуносерологам и трансфузиологам вменялось в обязанность наряду с антигенами А, В и D определять у донора и реципиента фактор К.

Поскольку в период с 1990 по 2000 год в России отсутствовали в достаточном количестве сыворотки анти-К и определение этого фактора у доноров и реципиентов в масштабе всей страны не представлялось возможным, было принято решение временно приостановить выдачу К-положительной крови в лечебные учреждения (приказ МЗ РФ от 09.01.1998 г. № 2 «Об утверждении инструкций по иммуносерологии»). Вскоре был предложен экспресс-метод определения антигена К на плоскости без подогрева, и далее получены моноклональные анти-К-антитела (С.И. Донсков, И.В. Дубинкин, 2002, 2003), что позволило полностью обеспечить потребности ЛПУ в этом реактиве и в значительной мере способствовало выполнению приказа МЗ РФ № 2 в части профилактики посттрансфузионных осложнений, обусловленных антигеном К.

Таким образом, в IV периоде развития концепция совместимой крови была дополнена необходимостью учета еще одного трансфузионно опасного антигена – К, и в правила подбора пар донор – реципиент было включено обязательное определение не 3 (А, В и D), а 4 антигенов: А, В, D и К.

Следует, однако, отметить, что требование подбора донора и реципиента по антигену К вплоть до 2008 г. выполнялось еще не во всех лечебных учреждениях России как неукоснительное. В настоящее время этот антиген учитывают повсеместно, что существенно снизило риск аллоиммунизации антигеном К, способствовало повышению качества гемотрансфузионной терапии в целом по стране.

V период. Идентичность по 10 трансфузионно опасным антигенам: А, В, D, С, с, Е, е, С^w, К и к (2004 г. – настоящее время)

Обязательное повсеместное определение у донора и реципиента группы крови АВО, резус- и К-фактора перед переливанием крови, а также, несомненно, возросшая за последнее двадцатилетие культура иммуносерологических исследований и общая трансфузиологическая

культура изменили структуру посттрансфузионных осложнений. Если к 1980 году основную долю посттрансфузионных осложнений (более 95 %) составляла несовместимость по мажорным антигенам – А, В и D, то в последующие два десятилетия возросла относительная частота осложнений, в том числе отсроченных посттрансфузионных реакций, обусловленных минорными (не АВО и D) антигенами эритроцитов. К ним относятся антигены К, с, Е, е, С^W и др., которые также следует отнести к трансфузионно опасным.

Несмотря на неуклонное совершенствование системы обеспечения иммунологической безопасности гемотрансфузий за рассмотренные выше 4 периода, современная гемотрансфузионная терапия все еще продолжает носить характер искусственной аллоиммунизации реципиентов.

Кооперированное исследование крови 1 331 612 доноров и больных, проведенное лабораторией стандартизации групп крови ГНЦ РАМН в течение 6 лет в лечебно-профилактических учреждениях Москвы, выявило 2 511 носителей антиэритроцитарных антител. Рассчитаны индекс аллоиммунизации (0,18 %) и структура аллоиммунизации населения Москвы (рис. 2).

Антитела к антигенам: D > K > E > c > C^W > C > e > Fy > Le > Jk > P₁ > k
 Частота антител, %: 80 6 4 3 2 0,5 0,4 > 0,04

Рис. 2. Структура аллоиммунизации населения Москвы.

Структура аллоиммунизации является также шкалой иммуногенности, или приоритета трансфузионно опасных антигенов, одновременно является шкалой приоритета трансфузионно опасных антител. Оба упомянутых параметра (частота и структура) в совокупности характеризуют особенности аллоиммунизации населения региона.

Для клинической практики шкала приоритета трансфузионно опасных антигенов важна, поскольку подчеркивает значение тех или иных антигенов эритроцитов, в особенности минорных антигенов К, с, Е, С^W, как источника аллоиммунизации населения и причины посттрансфузионных осложнений.

Примерно 80 % встречающихся среди населения антиэритроцитарных антител приходится на долю мажорного антигена D (рис. 2). На долю

минорных антигенов (К, Е, с, С^W, С, е и к) приходится около 16 % встречающихся в популяции антител. Иными словами, соответствие донора и реципиента по антигену D обеспечивает безопасность гемотрансфузий только на 80 %. Возможность аллоиммунизации реципиента в остальных 16 % случаев до последнего времени службой крови игнорировалась. Очевидно, что такое положение не соответствовало современным представлениям о необходимом качестве гемотрансфузионной терапии и не обеспечивало в должной мере право реципиента на качественное гемотрансфузионное обслуживание.

В постановлении Правительства Москвы от 30.12.2008 г. № 1282-ПП «О городской целевой программе: Развитие донорства крови и ее компонентов на 2009–2010 гг. » прямо указано: «При современном уровне знаний в области иммуносерологии переливать *резус-положительным реципиентам* эритроциты *резус-положительных доноров* без учета остальных антигенов системы резус *недопустимо*. По данным различных авторов, 15 % больных, которым переливают эритроциты, подвержены риску аллоиммунизации. Максимальное совмещение донора и реципиента по антигенам клеток и плазменных белков крови является основой иммуногематологической безопасности».

Следует подчеркнуть, что целенаправленная профилактика аллосенсибилизации к антигенам с, Е, С^W, С, е и к (какой бы малый процент она ни составляла) в службе крови отсутствует. Вместе с тем указанные антигены проявляют себя в клинике как трансфузионно опасные и требуют обязательного учета.

Таким образом, в современной трансфузиологической доктрине формируется новая идеологическая составляющая, а именно переход от концепции переливания *совместимой* крови по А, В, D и К к концепции переливания *идентичной* крови по 10 трансфузионно опасным антигенам: А, В, D, С, с, Е, е, С^W, К и к.

Обязательное фенотипирование доноров по трансфузионно опасным антигенам при заготовке от них гемокомпонентов на станциях и в отделениях переливания крови закреплено специальным постановлением Правительства РФ от 31.12.2010 г. № 1230.

Нормативный документ, регламентирующий обязательное фенотипирование реципиентов в лечебных учреждениях РФ, в настоящее время подготовлен и находится на рассмотрении МЗ РФ. Как только этот документ будет издан, новая, более совершенная тактика трансфузионной терапии с учетом 10 трансфузионно опасных антигенов найдет повсеместное применение*.

Сам процесс подбора пар донор – реципиент, идентичных по указанным 10 антигенам, несложен. Он заключается в визуальном сравнении фенотипов донора и реципиента и отборе донора, идентичного по указанным антигенам реципиенту.

*К моменту завершения работы над книгой Министерство здравоохранения России издало приказ от 02.04.2013 г. 183н «Об утверждении правил клинического использования донорской крови и (или) ее компонентов», предусматривающий переливание крови, идентичной по указанным 10 антигенам, и обязательное определение у реципиентов антиэритроцитарных антител.

Приводим пример практического применения предлагаемой тактики гемотрансфузионной терапии.

С мая 2007 г. в клинических подразделениях Гематологического научного центра в соответствии с приказом по институту 08.05.2007 г. № 39 от «О совершенствовании гемотрансфузионного обеспечения клиник института» в целях повышения лечебной эффективности гемотрансфузий, профилактики аллоиммунизации и предупреждения посттрансфузионных осложнений организовано переливание эритроцитсодержащих компонентов крови с учетом их идентичности по 10 указанным аллоантигенам.

Всех пациентов, поступающих в клинические отделения ГНЦ, и всех доноров, прибывающих в отдел заготовки крови для донации, фенотируют. Полученные данные вносят в компьютер.

В соответствии с приложением к приказу № 39 доноров делят на 3 группы:

1. Идентичные доноры (или доноры 1-й очереди) – лица, которые не имеют антигенов, отсутствующих у реципиента. Например, для реципиента CcD_{ee} идентичными считают доноров, имеющих фенотип CcD_{ee}, CCDee, ccD_{ee}, Ccddee и ccddee. Для реципиента с фенотипом CCDee идентичными являются доноры CCDee и CCddee, для

реципиента с фенотипом CcDEe – доноры с любым резус-фенотипом, кроме имеющих антиген C^w.

2. Доноры 2-й очереди – лица, имеющие один минорный антиген, которого нет у реципиента. Например, реципиенту с фенотипом ccDee при отсутствии идентичного донора могут быть перелиты эритроциты Ccdee, но не ccDEe и ccddEe, поскольку антиген E является более сильным иммуногеном, чем антиген C. Для резус-отрицательных реципиентов (ccddee) донорами 2-й очереди считаются доноры с фенотипом Ccddee.

3. Доноры 3-й очереди – лица, имеющие 2 минорных антигена, которых нет у реципиента.

Кровь доноров 2-ой очереди следует использовать лишь в крайних случаях, а доноров 3-й очереди только по витальным показаниям при невозможности найти идентичных доноров и доноров 2-й очереди.

С целью контроля выполнения приказа по ГНЦ № 39 отделение клинической трансфузиологии и лаборатория иммунологической безопасности гемотрансфузий ГНЦ ежеквартально анализируют сведения о проведенных гемотрансфузиях, оценивают соотношение идентичных и неидентичных гемотрансфузий, корректируют алгоритм подбора идентичных доноров.

За период с 01.01.2008 г. по 31.12.2012 г. в клиниках ГНЦ, обеспечивших лечение за это время около 12 000 пациентов, было перелито 28 160 доз эритроцитсодержащих сред (эритроцитная масса с удаленным лейкоцитарно-тромбоцитарным слоем, эритроцитная масса, обедненная лейкоцитами и тромбоцитами, размороженные отмытые эритроциты) (табл. 2). Из них 25 692 гемотрансфузии (91,12 %) были идентичными. Таким образом, в подавляющем большинстве случаев было обеспечено полное соответствие (идентичность) донора и реципиента по 10 трансфузионно опасным антигенам эритроцитов.

Наименьшие показатели (86,01 % и 81,27 %) зафиксированы в период реорганизации структуры института, 2009–2010 гг.

При условии случайного распределения переливаемых доз эритроцитов резус-положительным реципиентам (без целенаправленного подбора донора по минорным антигенам резус и Келл) частота иден-

тичных трансфузий составила бы 30–40 % , что существенно ниже полученного нами показателя.

Таблица 2

Показатели гемотрансфузионного обеспечения клиник ГНЦ
за 2008–2012 годы

Год	Количество доз эритроцитов		Количество гемотрансфузий от доноров					
	суточный запас	перелито	идентичных		2-й очереди		3-й очереди	
			абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
2008	27	4 552	4 165	91,49	387 (8,50 %)			
2009	17	5 700	4 903	86,01	288	5,05	509	8,93
2010	22	5 863	4 765	81,27	1 040	17,74	58	0,99
2011	17	5 736	5 609	97,78	101	1,76	26	0,45
2012	20	6 309	6 250	99,06	58*	0,91	1**	0,01
Итого:	21 (в среднем)	28 160	25 692	91,12	2 468 (8,76 %)			

* Донор имел превышение по 1 антигену: С, с или е.

** Донор имел превышение по 2 антигенам: с и Е.

До недавнего времени существовало устойчивое представление, что люди, одинаковые по набору групповых антигенов АВО, резус и Келл, встречаются очень редко (примерно 1 на 1 000), в связи с чем выбор идентичного по этим антигенам донора затруднен, а в ряде случаев практически невозможен. Это заблуждение, основанное на результатах формального математического подсчета возможных сочетаний и перестановок групповых антигенов как абсолютно независимых друг от друга разнородных признаков. В действительности это не так: расчетные данные не совпадают с фактическими наблюдениями. Частота распределения фенотипов Rh-Hr одинакова у лиц, имеющих разную группу крови по системам АВО, Lewis, MNS, Kell и др., а также одинакова как среди доноров, так и больных, что значительно упрощает выбора идентичного донора. Так, если фенотип CcDee встречается с частотой 31,93 %, то вероятность подбора реципиенту идентичного донора составит около 32 % (т. е. 1 из 3). Если учесть, что для реципиента CcDee идентичными будут доноры не только CcDee (31,93 %), но и CCDee (16,81 %), ccddee (12,71 %), ccDee (2,21

%) и Ccddee (1,54 %), то вероятность подбора идентичной пары составит: $31,93 + 16,81 + 12,71 + 2,21 + 1,54 + 13,69 = 65,20$ %, т. е. идентичными окажутся 2 донора из 3. Однако такой расчет справедлив при условии подбора пар с часто встречающимися фенотипами. Для реципиентов с редкими фенотипами, ccDee (2,21 %) или Ccddee (1,54 %), подбор окажется менее успешным и потребует большего контингента доноров. В первом случае: ccDee (2,21 %) + ccddee (12,70 %) = 14,91 %, во втором случае: Ccddee (1,54 %) + ccddee (12,7 %) + CCddee (0,03 %) = 14,27 %, т. е. каждый 7 донор будет идентичен. Для более редких фенотипов потребуется соответственно более широкие, но вполне реальные для достижения успеха, выборки.

При целенаправленном подборе доноров реципиентам даже при наличии 20 доз среднесуточного запаса эритроцитов удастся осуществить идентичные гемотрансфузии более чем в 90 % случаев (табл. 2).

Показатель идентичных гемотрансфузий варьировал по годам. В частности, в 2012 г. по сравнению с 2008 г. количество гемотрансфузий от идентичных доноров увеличилось с 91,49 % до 99,12 %. Одновременно существенно сократилось количество трансфузий от неидентичных доноров – с 8,50 % в 2008 г. до 0,92 % (0,91 + 0,01) в 2012 г. Доля трансфузий от доноров 3-й очереди также уменьшилась – с 8,93 % до 0,01 %, что явилось несомненным положительным сдвигом в достижении более высокого качества гемотрансфузионной терапии в клиниках ГНЦ.

При использовании вышеописанной тактики гемотрансфузионной терапии случаев аллоиммунизации реципиентов антигенами Rh-Нг и других антигенных систем не было зарегистрировано.

Еще более высокие показатели идентичных гемотрансфузий (100 %) получены Д.Е. Павловой в Детской городской клинической больнице (ДГКБ) св. Владимира (г. Москва). Практически все 3 004 трансфузии, проведенные в этой больнице в течение 5 лет, были от идентичных доноров (табл. 3). Кровь доноров 2-й и 3-й очереди не использовалась. Исключением явился лишь 1 случай, когда из-за отсутствия требуемого редкого донора ребенку с фенотипом КК перелили эритроциты Кк.

Таблица 3

Показатели гемотранфузионного обеспечения ДГКБ св. Владимира за 2008–2012 годы (по данным Д.Е. Павловой)

Год	Количество доз эритроцитов		Количество гемотранфузий от доноров					
	суточный запас	перелито	идентичных		2-й очереди		3-й очереди	
			абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
2008	33	496	496	100	0	0	0	0
2009	78	511	511	100	0	0	0	0
2010	66	559	559	100	0	0	0	0
2011	57	644	644	100	0	0	0	0
2012	59	794	793	99,87	1	0,13	0	0
Итого:	59 (в среднем)	3004	3003	99,97	1 (0,03 %)			

Представленные данные еще раз убеждают в том, что подбор идентичных пар донор – реципиент вполне реален при правильной организации гемотранфузионного процесса.

В настоящее время назрела настоятельная необходимость повсеместного фенотипирования больных в лечебных учреждениях. Решение этой первостепенной задачи, стоящей перед организаторами службы крови, позволит увеличить долю идентичных гемотранфузий до 100 % и тем самым существенно повысит качество современной гемотранфузионной терапии в Российской Федерации.

Для оптимизации подбора пар донор – реципиент, в том числе с редкими фенотипами, целесообразно создавать региональные административно-территориальные заготовительно-потребительские объединения «КРОВЬ». В указанные объединения могут входить лечебные учреждения, заготавливающие, а также использующие донорскую кровь и ее компоненты, включая предприятия по переработке плазмы. Объединение должно иметь общую учетную приходно-расходную базу данных, располагать единой диспетчерской службой, координирующей взаимодействие учреждений и объединяющей их в единый заготовительно-потребительский административно-территориальный комплекс. Целесообразно формирование на станциях переливания крови подвижных курьерских групп, функцией которых будет адресная доставка пациентам идентичных эритроцитов в случае отсутствия таких эритроцитов в лечебном учреждении.

VI Период. Идентичность по *cis*-антигенам: се, Се, сЕ и СЕ

Целесообразно упомянуть еще одну особенность аллоиммунизации вследствие гемотрансфузий, на основании которой можно судить о том, в каком направлении будет, возможно, осуществляться дальнейшее совершенствование современной концепции совместимой крови.

В чем заключается эта особенность?

Антигенность того или иного субстрата определяется не только его иммуногенными свойствами: наименьшим количеством вещества, инициирующего антителогенез, наименьшей частотой бустовых инъекций, а также высотой титра и авидностью антител, появляющихся в результате аллоиммунизации. Об иммуногенности групповых антигенов крови можно судить также по хронологии их открытия, поскольку при случайном выборе донора и реципиента в первую очередь проявляют себя наиболее сильные иммуногенные факторы. Последовательность открытия групповых антигенных систем после АВО-системы следующая: резус-фактор (антиген D) открыт в 1940 г., hr' (с) – в 1941 г., Е – в 1943 г., е – в 1945 г., К и C^W – в 1946 г., Fy^a – в 1950 г., Jk^a – в 1951 г. и т. д. Хронология открытия трансфузионно опас-

ных антигенов эритроцитов совпадает с частотой соответствующих антител в популяции (рис. 2). Чем иммуногеннее субстрат, тем чаще встречаются антитела против него и соответственно выше вероятность его более раннего обнаружения. Вместе с тем повсеместный подбор донора и реципиента по уже заявившим о себе антигенам с, Е, С^W, С, е и k не исключает перспективу выявления новых трансфузионно опасных антигенов, которые проявят себя на этом новом фоне, и в будущем их также придется учитывать в практике переливания эритроцитов.

Период VI развития концепции совместимой крови – гипотетический. Он, как мы полагаем, получит начало отсчета с того момента, когда концепция совместимости по 10 трансфузионно опасным антигенам будет повсеместно внедрена. Это может произойти уже через 5–10 лет. Можно полагать, что по мере увеличения масштаба применения гемотрансфузий, идентичных по антигенам D, С, с, Е, е и С^W, проявят свои аллоиммунизирующие свойства *цис*-антигены: сe, Се, сЕ и СЕ.

Два гена, находящиеся в одном цистроне, то есть в позиции *цис*, могут экспрессировать, помимо свойственных им антигенов, третий, сопутствующий антиген. Так, аллель *RHce* кодирует продукцию антигенов с, е, и f (се); аллель *RHcE* кодирует продукцию антигенов С, е и rh_i (Се); аллель *RHcE* – с, Е и сЕ (Rh27); аллель *RHCE* – С, Е и СЕ (Rh22).

Таким образом, генотип *CDe/cDE* производит не 5 (С, с, D, Е и е), а 7 (С, с, D, Е, е, Се и сЕ) антигенов, генотип *cde/cde* – не 2 (с и е), а 3 (с, е и се) антигена, генотип *cDe/CDE* – 7 антигенов: с, D, е, С, Е, се и СЕ.

Анти-f (се)-антитела реагируют с эритроцитами лиц *cDe/CDe*, *cde/cde* и эритроцитами лиц с другими вариантами генотипов, при которых гены *с* и *е* находятся в положении *цис*, но не реагируют с эритроцитами лиц *Cde/cDE*, *CDe/cDE* и эритроцитами других лиц, у которых гены *с* и *е* также присутствуют, но в положении *транс*. Иными словами, сыворотки анти-се не реагируют с эритроцитами лиц *cDE/Cde*, содержащими оба антигена (и с, и е), но лишенными *цис*-антигена се.

Резус-положительный реципиент CDe/CDe , которому перелили резус-положительные эритроциты cDE/cde , получил сразу 4 чужеродных антигена: с, Е, сЕ и се (табл. 4).

Таблица 4

Варианты аллоиммунизации реципиента *цис*-антигенами донора при гемотрансфузии, идентичной по антигену D

Генотип		Возможная аллоиммунизация антигенами
реципиента	донора	
CDe/CDe	cDE/cde	с, Е, сЕ и се
CDe/cDe	CDE/cDe	се и СЕ
cDE/Cde	CDe/Cde	се
Cde/cdE	cde/cde	се

Реципиенты cDE/Cde при переливании им эритроцитов cDe/Cde могут быть аллоиммунизированы антигеном се, а реципиенты CDe/cDE при переливании им эритроцитов CDE/cDe могут быть аллоиммунизированы антигеном се и СЕ. Таким образом, идентичность фенотипов донора и реципиента еще не означает их идентичность по генотипу, вследствие чего может произойти аллоиммунизация.

Подбор донора и реципиента, идентичных по минорным антигенам Rh-Hr, к чему мы призываем в настоящей работе, позволит в значительной степени, но, по-видимому, не в 100 % случаев, избежать аллоиммунизации реципиентов *цис*-антигенами.

Клиническое значение антител к *цис*-антигенам такое же, как и других Rh-антител: они вызывают гемолитическую болезнь новорожденных и посттрансфузионные реакции.

Более полное обеспечение иммунологической безопасности гемотрансфузий в перспективе будет, по-видимому, строиться с учетом идентичности по *цис*-антигенам, антигенам Duffy, Kidd, Lutheran и другим, пока еще неизвестным факторам.

Аллоиммунизация как глобальный популяционный процесс

Во многих контингентах населения, независимо от расовых и национальных различий, находят лиц, в крови которых присутствуют иммунные антиэритроцитарные антитела. Аллоиммунизация антигенами клеточных и плазменных элементов крови – естественный непрерывный популяционный процесс, присущий виду *Homo hominis*. Этот процесс регулируется тремя основными параметрами: частотой антигенов, их иммуногенностью и частотой респондеров в популяции.

Как указывалось выше, 2 показателя характеризуют аллоиммунизацию как популяционный феномен: 1 – частота антител в популяции (индекс аллоиммунизации населения), 2 – структура аллоиммунизации (частота антител разной специфичности).

Частота антител (индекс аллоиммунизации населения)

Понятие «индекс сенсibilизации» или «индекс аллоиммунизации» относится к универсальным (индекс сенсibilизации к антигенам, аллергенам, производственному шуму и другим воздействиям). Оно более емко и точно отражает суть явления. Не частота встречаемости антител вообще, а именно степень, уровень аллоиммунизации населения конкретной географической зоны, этнической группы. Индекс аллоиммунизации можно сравнивать как специфический параметр, характеризующий ту или иную популяцию в медицинском, биологическом, антропологическом, геногеографическом аспектах.

Понятие «индекс аллоиммунизации» введено нами в производственную и клиническую трансфузиологию специально для того, чтобы трансфузиологи в большей мере осознали степень ответственности за возможные негативные последствия своей деятельности.

Предположим индекс аллоиммунизации населения в регионе 0,2 %. Это означает, что личный риск стать виновником посттрансфузионного осложнения для трансфузиолога составляет 1 на 500, поскольку

ку одна из 500 трансфузий эритроцитов придется на реципиента, имеющего противозэритроцитарные антитела.

Широкое применение трансфузий эритроцитов без учета трансфузионно опасных минорных антигенов эритроцитов увеличивает индекс аллоиммунизации населения и, как следствие, риск посттрансфузионных осложнений. Среди носителей антител 80,4 % женщин и 19,5 % мужчин. Определенный процент носителей антител (как женщин, так и мужчин) формируется после переливания эритроцитов, т. е. в результате деятельности учреждений службы крови.

Индекс аллоиммунизации (Q) рассчитывают по формуле:

$$Q = \frac{X}{N} \times 100 \%,$$

где X – число лиц, содержащих антитела,
N – общее число исследованных.

Собственно расчет не сложен. Трудность представляет подготовка выборки для расчета. Однако даже в том случае, если выборка сделана правильно, рассчитанный индекс всегда неточен и требует поправочных коэффициентов. Например, в лаборатории, специализирующейся на идентификации антител, куда направляют сыворотки лиц, имеющих акушерские и посттрансфузионные осложнения, индекс аллоиммунизации, естественно, окажется высоким. Таким же высоким может оказаться индекс аллоиммунизации пациентов гематологической клиники и специализированного роддома. Напротив, в поликлинике, обследующей призывников и учащихся, индекс аллоиммунизации будет низким. И в том и в другом случае вычисленный индекс, несомненно, будет полезен в плане локального применения для расчета риска посттрансфузионных или акушерских осложнений, расчета средств медицинского обеспечения. Однако он не может быть использован как достоверный критерий, характеризующий истинный уровень аллоиммунизации населения в регионе. Он будет или слиш-

ком завышен или слишком занижен. В табл. 6 приведены фактические данные, иллюстрирующие это положение.

Таблица 6

Индекс аллоиммунизации различных контингентов обследованных

№ строки	Город, страна	Контингент	Всего исследовано	Число лиц с антителами	ИС, %
1	Дзержинск	Доноры	49190	42	0,08
2	Москва	Доноры	90021	152	0,16
3	Саратов	Доноры	—	—	0,18
4	Первоуральск	Доноры	460874	2285	0,5
5	Москва	Доноры, больные	524954	1144	0,22
6	Тверь	Беременные	1194	4	0,33
7	Первоуральск	Больные	12000	252	4,2
8	Москва	Больные, направленные для индивидуального подбора крови	4282	252	5,8
9	Москва	Больные гематологические	807	49	6,1
10	Ереван	Беременные с отягощенным акушерским анамнезом	2130	296	13,8
11	Минск	Лица rh- (группа риска)	386	56	14,5
12	Гонконг (китайцы)	Больные	21327	137	0,64
13	Уганда	Больные серповидно-клеточной анемией	428	26	6,1
14	Кувейт	Доноры, больные, беременные	179045	1278	0,71
15	Белу-Оризонти (Бразилия)	Больные серповидно-клеточной анемией	828		9,9
16	Хорватия	Гематологические больные, имевшие многократные трансфузии	2669	48	1,8

17	Италия		1435	74	5,2
18	Англия	Беременные	6062	115	1,9
19	Англия	Беременные	380790	733	0,19

В смешанной группе (доноры и больные – строка 5) и в группах повышенного риска аллоиммунизации (строки 6–11) индекс аллоиммунизации наиболее высок – от 0,22 % до 14,5 %.

У доноров, как наиболее здоровой категории населения, индекс аллоиммунизации относительно низкий – 0,08 %, 0,16 %, 0,18 % (строки 1, 2, 3 соответственно). Исключение составляет индекс аллоиммунизации доноров Свердловской области (строка 4) – 0,5 %, чему ниже дано объяснение.

Au и соавт. (2003) сравнивали частоту антиэритроцитарных антител у реципиентов (европейцев и китайцев Гонконга), которым была пересажена печень. Оказалось, что частота аллоиммунизации у европейцев почти в 2 раза выше (14 %), чем у китайцев (8,8 %). У европейцев вырабатывались преимущественно антитела антирезус и анти-K, у китайцев преимущественно анти-Mi-антитела (29 %).

По данным Lee и соавт. (2003), частота анти-Mi-антител среди аллоиммунизированных китайцев Гонконга достигала 57,6 %.

Wang и соавт. (2006) нашли 3 случая анти-Mi^a-антител при обследовании 30 больных талассемией (тайваньцев), получавших регулярные переливания эритроцитов. Распределение антител было следующим: 4 анти-E, 2 анти-E + с, 2 анти-Mi^a, 1 анти-Mi^a + E, 1 анти-D и 1 анти-S.

Bilwani и соавт. (2005) обследовали 97 больных талассемией (пакистанцев) и у 9 из них нашли антиэритроцитарные антитела: 3 анти-K, 1 анти-K + E, 1 анти-E, 2 анти-D + C, 2 неидентифицированы.

Среди 428 больных серповидно-клеточной анемией (угандийцев) индекс аллоиммунизации составил 6,1 %. У 26 больных идентифицировано 30 аллоантител, из них 20 (66,7 %), относящихся к системе резус, 5 (16,6 %) – к системе MNS (Natukunda и соавт., 2010). Среди 828 больных серповидно-клеточной анемией (бразильцев) индекс аллоиммунизации составил 9,9 % (Mugaо и соавт., 2005). Большинство антител (79 %) относилось к системе резус и Келл.

Из 50 больных серповидно-клеточной анемией, которым переливали эритроциты, 18 выработали антиэритроцитарные антитела (Orlina и соавт., 1978). Из 36 идентифицированных антител 16 были против антигенов резус, 12 против антигенов Lewis, 5 анти-Kell, по 1 анти-Jk^a, анти-Fy^a и анти-M.

У жителей Кувейта (179 045 доноров, больных и беременных) частота аллоиммунизированных антигенами эритроцитов соответствовала 0,71 % (Ameen и соавт., 2005). Из них: анти-D – 27,3 %, анти-E – 18,5 %, anti-K – 15,6 %. Соотношение аллоиммунизированных женщин и мужчин было 3,2 : 1.

По данным Rakić и соавт. (1999), в Хорватии частота антиэритроцитарных антител у реципиентов составила 1,8 % (48 аллоиммунизированных на 2 669 исследованных). Наиболее часто встречались антитела анти-D – 38,9 % и анти-K – 22,2 %.

В Италии индекс аллоиммунизации больных талассемией, получивших многочисленные трансфузии, равнялся 5,2 % (Sirchia и соавт., 1985). У 74 пациентов авторы выявили 136 антител, преимущественно против антигенов системы резус, Келл, Кидд и Даффи.

В Мельбурне (Австралия) индекс аллоиммунизации беременных и родильниц составил 1,3 % (Pepperell и соавт., 1977).

Solola и соавт. (1983) нашли антиэритроцитарные антитела у 115 беременных из 6 062 обследованных. Среди носительниц антител 15 женщин были Rh⁻, остальные 100 Rh⁺. Приведенная статистика еще раз убеждает в том, что резус-положительные люди столь же уязвимы в плане аллоиммунизации антигенами эритроцитов, как и резус-отрицательные, и в связи с этим скрининг антител необходимо проводить у всех пациентов независимо от их резус-принадлежности.

Hardy и соавт. (1981) нашли антиэритроцитарные антитела у 733 беременных из 380 790 обследованных ими за 30 лет наблюдений (индекс аллоиммунизации – 0,19 %). Интересен следующий факт: авторы отметили, что у 25 % женщин, имевших анти-E-антитела, и у 13 % женщин, имевших анти-K-антитела, причину аллоиммунизации установить не удалось.

Самый высокий индекс аллоиммунизации (до 40 %) отмечается среди больных серповидно-клеточной анемией, которым по жизненным показаниям часто переливают эритроциты.

При расчете индекса аллоиммунизации населения в регионе целесообразно соблюдать следующие условия:

1. Скрининг антител эритроцитами, содержащими не менее 12 антигенов: D, C, E, c, e, K, k, Fy^a, Le^a, M, N, и S.
2. Выборка – не менее 5 000 исследованных лиц.
3. Продолжительность накопления сведений – не менее 3 лет.
4. Исключение повторов в выборках по годам.
5. Исследование только донорского контингента.

Поскольку частота аллоиммунизации доноров всегда ниже, чем больных, можно ввести дополнительные коэффициенты, приближающие расчетный индекс к фактическому, реально существующему в регионе. Если средний возраст доноров 25 лет, расчетный индекс можно умножить на поправочный коэффициент 1,3 (увеличение индекса на 30 %); если средний возраст доноров 35 лет, расчетный индекс можно умножить на поправочный коэффициент 1,2 (увеличение индекса на 20 %). Например, в Москве индекс аллоиммунизации, рассчитанный у доноров – 0,16 %, у больных – 5,8 %. Реальный уровень аллоиммунизации населения Москвы составит $0,16 \times 1,2 = 0,19$ %. Таким образом, реально существующий (близкий к нему) индекс аллоиммунизации населения Москвы составляет около 0,2 %.

Расчет индекса аллоиммунизации населения в регионе необходимо рассматривать как должностную обязанность иммуносерологов службы крови.

Структура аллоиммунизации

Этот показатель характеризует как количество носителей антиэритроцитарных антител, так и иммуногенность того или иного антигена. Рассмотрим это на примере. По данным А.Г. Башлай и соавт. (1998), среди 663 аллоиммунизированных лиц антитела распределялись по специфичности и частоте в абсолютных цифрах и % следующим образом (сводка 1).

Сводка 1

Частота распределения антиэритроцитарных антител (n = 663)

D – 438 (66 %)	DC – 95 (14,3 %)	K – 33 (4,9 %)	c – 28 (4,2 %)
E – 13 (1,9 %)	DE – 8 (1,2 %)	Fy ^a – 4 (0,6 %)	C – 3 (0,45 %)
C ^w – 3 (0,45 %)	e – 2 (0,3 %)	k – 1 (0,15 %)	C+e – 1 (0,15 %)
DCE – 1 (0,15 %)	E+c – 1 (0,15 %)	Специфичность не установлена – 36 (5,4 %)	

Большинство аллоиммунизированных, 438 (66 %), имели антитела анти-D; 33 (4,9 %) – антитела анти-Kell; 28 (4,2 %) – анти-c; 4 (0,6 %) – анти-Fy^a. Другими словами, антитела к антигену D встречались в 13 раз чаще, чем антитела к антигену Kell, в 15 раз чаще, чем к антигену hr'(c), в 110 раз чаще, чем к антигену Fy^a, что свидетельствует о существенно более выраженной иммуногенной активности антигена D по сравнению с антигенами Kell, hr'(c) и Fy^a.

Располагая частоту антител в убывающем порядке, ряд исследователей составили шкалу иммуногенности антигенов эритроцитов, которую можно также назвать шкалой приоритета трансфузионно опасных антигенов (сводка 2).

Сводка 2

Шкала приоритета трансфузионно опасных антигенов эритроцитов по разным авторам

1. D > C > E > c > K > Fy^a (J. Dausset, 1959);
2. D > C > c > E > K > Fy^a (М.А. Умнова, 1966);
3. D > K > c > E > e > Fy^a > Le > C > s (В.А. Мороков, 1992);
4. D > K > c > E > Fy^a > C (А.Г. Башлай и соавт., 1998);
5. D > K > c > E > C > Fy^a (В.И. Червяков, 2000);
6. D > K > E > c > C^w > e > C > Fy^a, Fy^b, Le^a, s, P1, N (С.И. Донсков и соавт., 2006).

Сравним приведенные последовательности 1–6. По Dausset (1959) и М.А. Умновой (1967), после антигена D следует C; по В.А. Морокову (1992), А.Г. Башлай (1998) и В.И. Червякову (2000), после антигена D следует K. По Dausset и М.А. Умновой, антиген hr'(c) располагается после антигена E и C соответственно; по В.А. Морокову,

А.Г. Башлай и В.И. Червякову, антиген hr'(с) располагается после антигена К.

При видимом несоответствии сравниваемых последовательностей они по существу не содержат противоречий. Различия обусловлены методикой построения шкалы и случайными колебаниями частоты антител в отдельных выборках. Для иллюстрации проанализируем сводку 1.

Моноспецифические антитела анти-Е и анти-С встречаются редко, в 1,9 % и 0,45 % случаев аллоиммунизации соответственно. Чаще антитела указанной специфичности вырабатываются в комбинации с анти-Д-антителами как следствие аллоиммунизации антигеном D, который, являясь сильным иммуногеном, «пробивает брешь» в иммунологической толерантности к аллоантигенам.

Если формально сравнить частоту анти-С-антител в виде суммы моноспецифических и комбинированных [анти-С (0,45 %) + анти-DC (14,3 %) + анти-С+с (0,15 %) = 14,9 %] с частотой антител анти-К (4,9 %) и анти-с (4,2 %), создается впечатление, что антиген С обладает большей иммуногенностью, чем антигены К и с. Исходя из этого, антиген С был помещен в шкалу иммуногенности после антигена D: $D > C$ (Dausset, М.А. Умнова). Так же обстояло дело с антигеном Е, который к началу 60-х годов прошлого столетия был достаточно хорошо изучен в отличие от других минорных антигенов. Выявляемость анти-Е-антител была соответственно выше, чем открытых позднее анти-К-антител, которые оставались неидентифицированными. Поэтому в 60-х годах антиген Е помещали после С: $D > C > E$, а антиген К оказался на пятом месте: $D > C > E > c > K$ (Dausset) или $D > C > c > E > K$ (М.А. Умнова).

В 90-х годах принцип построения шкалы иммуногенности изменился. Основанием для этого послужили сведения о том, что К и hr'(с) более выраженные иммуногены, чем С и Е. Об этом свидетельствовали результаты искусственной иммунизации добровольцев. В частности, попытки ряда исследователей получить моноспецифические антитела анти-С и анти-Е не достигали цели, несмотря на длительные курсы иммунизации – 2–3 года. Вместо желаемых анти-С- и анти-Е-антител нередко вырабатывались анти-К-антитела. Иммуногенность

факторов К и hr'(c) показана в сводках А.Г. Башлай, В.А. Морокова, С.И. Донскова, В.И. Червякова.

Комбинированные антитела анти-DC, анти-DE в свете новых представлений уже не учитывались как анти-С и анти-Е, но учитывались только как анти-Д, поскольку комбинированная аллоиммунизация инициировалась именно этим антигеном. Шкала иммуногенности стала более адекватной.

По данным лаборатории стандартизации групп крови ГНЦ РАМН за 1999 г., шкала приоритета трансфузионно опасных антигенов представляет собой последовательность, где отдельные минорные антигены, имеющие близкую по величине частоту соответствующих антител, могут меняться местами:

$$D > K(c) > c(K) > E(C^w) > C^w(E) > e > C > др.$$

Для клинической практики эти замены не являются принципиальными. Они лишь подчеркивают значение минорных антигенов эритроцитов, в особенности К, с, Е, C^w , как причины аллоиммунизации.

Тогмеу и соавт. (2008) подсчитали частоту антиэритроцитарных антител у мужчин – военных ветеранов. Антитела у этого контингента лиц были обусловлены преимущественно переливаниями компонентов крови. Интересно, что при условии подбора донора и реципиента по АВО и D шкала приоритета трансфузионно опасных антигенов смещалась: К – 21,9 %, Е – 19,4 %, D – 9,1 %, Fy^a – 5,4 %, с – 4,8 %, Jk^a – 3,7 %.

Влаговевска и соавт. (2009) идентифицировали антиэритроцитарные антитела у 75 реципиентов, получавших переливания эритроцитов. По данным этих исследователей, антитела обнаруживались с частотой: анти-К – 26, анти-Е – 25, анти-с – 6, анти-С – 4, анти-М – 4, анти- Fy^a – 3, анти- Jk^a – 3, анти- C^w – 2, анти-е – 1, анти- Le^b – 2, анти-к – 1, анти- Fy^b – 1, анти- Lu^b – 1, анти- Le^a – 1, анти- P_1 – 1. Как и в упомянутых выше наблюдениях, первые места в шкале приоритета трансфузионно опасных антигенов заняли антигены К, Е и с.

Аналогичные данные получены нами при анализе специфичности антител в сыворотках крови 2 074 жителей г. Москвы (табл. 5).

Таблица 5

Распределение антител по специфичности
у жителей Москвы *

Специфичность антител	Количество случаев	Частота, %
D	1348	64,99
DC	300	14,46
K	126	6,07
E	81	3,90
c	70	3,37
C ^W	22	1,06
DE	20	0,96
C	12	0,57
e	9	0,43
DK	5	0,24
Fy ^a	5	0,24
Le ^b	4	0,19
DCE	3	0,14
S	2	0,09
s	2	0,09
Le ^a	2	0,09
K+Fy ^a	1	0,04
k	1	0,04
P ₁	1	0,04
M	1	0,04
N	1	0,04
Fy ^b	1	0,04
Jk ^a	1	0,04
??	56	2,70
ВСЕГО:	2074	99,87

* По данным кооперированных исследований лаборатории стандартизации групп крови ГНЦ РАМН за 6 лет (1997–2002 гг.).

Сочетанная аллоиммунизация антигенами D и K (эффект усиления)

Ряд исследователей (М.А. Умнова и др., 1961) обратили внимание на то, что лица, вырабатывающие анти-D-антитела, нередко одновременно вырабатывают антитела анти-K или антитела другой специфичности, не относящейся к системе резус.

Issitt (1965) сравнил частоту анти-K-антител в 3 группах аллоиммунизированных лиц. В 1-ю группу вошли реципиенты D⁻, которые имели переливания крови D⁻, т. е. были идентичны с донорами по резус-фактору. Во 2-ю группу вошли лица D⁻, получившие переливания крови D⁺, но не выработавшие анти-D-антител. Группу 3-ю составили реципиенты D⁻, получавшие кровь D⁺ и выработавшие анти-D-антитела. Автор отметил, что только 1 из 32 реципиентов 1-й и 2-й группы выработал K-антитела, в то время как из 12 человек 3-й группы 6 реципиентов (50 %) выработали анти-K.

Далее Issitt и соавт. (1973) наблюдали 3 аллоиммунизированных трансфузиями и беременностями лиц, которые при последующих переливаниях крови выработали последовательно: в 1-м случае – анти-Fy^a, затем анти-CE и анти-Jk^b; во 2-м случае – анти-E, затем анти-K и анти-Fy^a; в 3-м – анти-E, анти-Fy^a и анти-Jk^b.

Archer и соавт. (1969) среди 78 человек, имевших анти-D-антитела, выявили 6 с анти-Fy^a, 4 – с анти-Jk^a, 4 – с анти-s и другими антителами. Среди 48 человек, получавших трансфузии крови, но не выработавших резус-антител, авторы не нашли ни одного, кто бы выработал антитела другой специфичности.

Указанные авторы полагают, что продукция антител одной специфичности способствует продукции антител другой специфичности и усматривают в этом эффект усиления одного антигенного раздражителя другим. В особенности это касается D-антигена, который, являясь сильным иммуногеном, «пробивает» иммунологическую толерантность организма к аллоантигенам и делает его чувствительным к другим, более слабым антигенам.

Эффект усиления иммуногенности слабого антигена сильным обнаружили Schierman и McBride (1967) в экспериментах на курах. При иммунизации кур эритроцитами А (А – слабый иммуноген для этого вида птиц) не происходило выработки антител. Если же кур иммунизировали эритроцитами АВ (В – сильный иммуноген для кур) вырабатывались антитела анти-В и анти-А. Интересно, что эффект усиления не наблюдали, когда иммунизацию проводили смесью эритроцитов А и В, но проявлялся, когда оба антигена присутствовали на эритроцитах вместе.

Не исключено, что эффект усиления представляет собой кажущееся явление, проявляющееся в результате искусственного, как правило, ретроспективного разделения реципиентов на аллоиммунизированных и не аллоиммунизированных. Одновременная выработка антител разной специфичности у одних иммунизированных лиц и отсутствие антител у других характеризует лишь состояние респондерства индивида в данный конкретный период времени. Респондер или нереспондер по отношению к антигену D в равной степени может оказаться таковым по отношению к другим антигенам. Кроме того, известно много случаев образования моноспецифических антител, при которых эффект усиления себя не проявляет несмотря на длительный курс иммунизации. Однако нет достаточных оснований отрицать возможность существования феномена синэргичного иммуногенного усиления.

Конкуренция антигенов

Существует прямо противоположное мнение относительно того, что выработка одного специфического антитела стимулирует выработку другого. Некоторые специалисты считают, что между антигенами проявляются конкурентные отношения, препятствующие синтезу антител другой специфичности. Антитела, появившиеся раньше других, связываются с эритроцитами, несущими антиген, ускоряют элиминацию этих клеток и таким образом исключают дальнейшую антигенную стимуляцию. Известно, что при разногруппной беременности, когда плод имеет группу крови А или В, а мать О, аллоиму-

низация антигеном D происходит существенно реже, чем при совместимой по АВО беременности, именно за счет быстрого разрушения эритроцитов изогемагглютинаинами крови.

Протективный эффект АВО-несовместимости проявляется и в отношении аллоиммунизации антигенами К, hr' (с) Fy^a, Jk^a и другими.

Уже в ранних работах, относящихся к середине 1960-х годов, было показано, что цельные эритроциты обладают более выраженными иммуногенными свойствами, чем лизированные. Так, Schneider и Preisler (1965) констатировали образование резус-антител у 4 из 15 иммунизированных цельными эритроцитами и только у 1 из 17 иммунизированных стромой эритроцитов. Аналогичные результаты, свидетельствующие о низкой иммуногенности разрушенных эритроцитов по сравнению с нативными, получены и другими авторами.

Геногеографическая характеристика

Ранее явление аллоиммунизации в планетарном масштабе не анализировали, хотя такой подход представляет несомненный интерес. В фундаментальных изданиях: «Генофонд населения России...» Ю.Г. Рычкова и соавт. (2000) и «The Distribution of the Human Blood Groups...» Mourant и соавт. (1976) мы не нашли упоминания о таком популяционном параметре.

Индекс аллоиммунизации населения позволяет сравнивать интенсивность и другие особенности аллоиммунизации в популяциях, относящихся к разным расам, народностям, этническим группам, в различных зонах географического или административного деления. Носители иммунных аллоантител против антигенов эритроцитов (в равной мере лимфоцитов, тромбоцитов, белков плазмы) зарегистрированы во всех географических зонах проживания. Противозэритроцитарные антитела находили у представителей всех рас, народностей, изученных этнических групп. Аллоиммунизация как популяционное явление – процесс непрерывный.

На основании данных, полученных нами совместно с В.И. Червяковым, А.Е. Скудицким и другими исследователями, можно заключить, что индекс аллоиммунизации в различных регионах России (по-

видимому, и других государствах земного шара) не одинаков, что является одним из элементов, характеризующих своеобразие этого показателя. В частности в Москве он составляет 0,16 %; в Среднем Поволжье (Нижегородская область) – 0,08 %; в Нижнем Поволжье (Саратовская область) – 0,18 %; на Среднем Урале (Свердловская область) – 0,5 %.

А.Е. Скудицкий (2001) отметил относительное постоянство уровня аллоиммунизации населения Среднего Урала на протяжении 11 лет наблюдения, на основании чего можно полагать, что индекс аллоиммунизации населения в каждом конкретном регионе является величиной постоянной. Сколько выбывает из популяции лиц, содержащих антитела, в силу естественной убыли, примерно столько же их появляется вновь. Константность для данного региона – это второй элемент, вторая особенность, характеризующая аллоиммунизацию как глобальный популяционный процесс.

Третий элемент, третья популяционная особенность аллоиммунизации, на наш взгляд, заключается в причине ее неравномерности от региона к региону. Обращает на себя внимание тот факт, что в Свердловской области индекс аллоиммунизации наиболее высокий – 0,5 %, в 3–6 раз выше, чем в других областях (Нижегородской, Саратовской, в Москве).

По-видимому, Свердловская область, являясь географической границей Европы и Азии, является одновременно геногеографической границей, стыком взаимопроникновения европеоидной и монголоидной рас, зоной расовой генопенетрации. Именно в таких зонах, по нашему мнению, можно ожидать наибольшую частоту аллоиммунизации вследствие браков между представителями различных рас, отличающихся набором групповых антигенов, а возможно особенностями функционирования генов иммунного ответа. Геногеографические стыки, как разломы земной коры, как стыки наук, рождают аномалии и парадоксы, многообразие форм. Приведем 2 наиболее ярких примера.

1. Антитела Диего (анти-Di^a) впервые обнаружены в Венесуэле в семье европейцев и потомков коренных индейцев (Layrisse и соавт., 1955). Анти-Di^a-антитела послужили причиной гемолитической болезни новорожденного. Второй случай анти-Dia-антител описан в ир-

ландско-австралийской семье (Simmons и соавт., 1968). Последующие исследования показали, что антиген Диего встречается только у монголоидов (китайцы – 2,5 %; японцы – 8–10 %; индейцы Chippewa – 11 %; карибские индейцы Sachama – 36 %; индейцы Бразилии – до 46 %). У европеоидов и негроидов антиген Диего отсутствует.

Уместно упомянуть, что монголоиды более однородная популяция в отношении сильных иммуногенов. Частота антигена D (наиболее выраженного иммуногена) среди монголоидов достигает 98–100 %. Практически все монголоиды резус-положительны и, соответственно, не продуцируют наиболее часто встречающихся резус-антител, в то время как 14–17 % европеоидов не содержат антигена D и могут продуцировать резус-антитела. Проблема гемолитической болезни новорожденных, а также посттрансфузионных осложнений, обусловленных резус-фактором, у монголоидов отсутствует, у европеоидов она актуальна.

2. Антитела Саттер (анти- J_s^a), относящиеся к системе Kell, впервые обнаружены Giblett и Chase (1959) в США у реципиента европейца после трансфузии эритроцитов донора негроида. Антиген Саттер встречается только у негроидов, его частота у представителей этой расы достигает 20 %. У европеоидов и монголоидов (эскимосы, индейцы Северной Америки и Венесуэлы) этот антиген не обнаружен. Антитела к аллельному антигену Саттер – J_s^b – обнаружены у негритянки, имевшей фенотип J_s^a (генотип J_s^a/J_s^a).

Напротив, частота антигена K у европеоидов выше (до 12 %), чем у негроидов, у которых она крайне низка – менее 2 %. Китайцы и японцы антигена K не содержат. У монголов антиген K встречается с частотой 0,4 %. Уместно подчеркнуть, что Монголия располагается между Россией и Китаем, и представляет собой некую промежуточную зону встречного дрейфа генов на границе Европы и Азии.

Таким образом, в зонах генопентрации монголоиды → европеоиды можно ожидать увеличение индекса аллоиммунизации за счет антигена D. Данные А. Е. Скудицкого по Свердловской области это подтверждают: частота носителей антител в г. Первоуральске и прилегающих к нему районах составляет 0,5 %, что в 2,5 раза выше по сравнению с европейской частью РФ.

В зонах генопентрации европеоиды→негроиды (Африка), европеоиды→монголоиды (Китай, Япония) можно ожидать увеличение индекса аллоиммунизации за счет антигена Kell. В США, где зона генопентрации негроиды→европеоиды чрезвычайно широка и представляет почти всю страну, индекс аллоиммунизации имеет свою специфику. Антиген Саттер системы Келл проявил себя именно здесь.

Геногеографические стыки, зоны генопентрации, служат источником необычных антител, увеличивая в целом индекс аллоиммунизации населения данного региона. В гомогенных популяциях (островитяне Полинезии, аборигены Австралии, изоляты) частота аллоиммунизации, если следовать логике нашего рассуждения, должна быть ниже.

Хронобиологическая характеристика

В соответствии с концепцией биологических ритмов все процессы, происходящие в организме, подвержены колебаниям. Известны суточные (циркадные), сезонные, годовые (цирканнуальные) ритмы. Один и тот же параметр: уровень гемоглобина, количество лейкоцитов или какой-либо показатель их функциональной активности неодинаков в разное время суток, разное время года. Для каждого человека (или группы людей) биологические ритмы могут быть индивидуальными или общими.

Определенным ритмам, очевидно, подвержен процесс антителообразования у каждого человека, а также в популяции в целом, включая колебание частоты респондеров и нереспондеров в определенном временном интервале. Можно предполагать существование планетарных ритмов, включающих периодические хронобиологические всплески, пики аллоиммунизации.

В период позднего палеолита, когда 3 основные расы начали формироваться, отдельные популяции в силу замкнутости, закрытости, оседлости, территориальной разобщенности имели, по-видимому, более строго очерченные геногеографические границы. Зон генопентрации не существовало или они были узкими, соответствовали приграничным районам обитания первобытных общин. Можно предпола-

гать, что индекс аллоиммунизации в тот период и при тех условиях был низок.

В современном мире геногеографические границы все более размываются миграционным процессом. Зоны генопентрации неуклонно расширяются: перемешивание негроидов и европеоидов в Америке (США) и Англии, европеоидов и негроидов в Африке, монголоидов и европеоидов в Европе, европеоидов и монголоидов в Азии.

Если перемешиванию рас ничто не будет препятствовать, это приведет к сглаживанию частоты аллоиммунизации в различных регионах Земного шара. Этот процесс может занять не одно тысячелетие, если он будет развиваться именно в этом, а не в противоположном направлении: не в сближении (перемешивании), а в разобщении рас.

Тем не менее, тенденция к уравниванию частоты аллоиммунизации в отдельных регионах, сглаживание индекса аллоиммунизации, приближение его к среднестатистическому, является, на наш взгляд, четвертым, элементом, характеризующим аллоиммунизацию как глобальный популяционный хронобиологический процесс.

Итак, индекс аллоиммунизации населения характеризуется неравномерностью в разных регионах, постоянством для данного региона, аномалиями в зонах генопентрации, тенденцией к сглаживанию до среднеарифметического.

Показатели аллоиммунизации населения отдельных территорий Российской Федерации по состоянию на 1997–2000 гг., представленные в настоящей работе, интересно сравнить с таковыми через 50, 100 лет и т. д.

Происхождение антиэритроцитарных антител

Антиэритроцитарные антитела, выявляемые у людей, имеют разную природу. Причиной их появления могут служить:

1. Беременности.
2. Гемотрансфузии.

3. Контакт с группоспецифическими субстанциями растительного, животного и бактериального происхождения.
4. Мутации генов, контролирурующих репертуар иммуноглобулинов.
5. Аллоиммунизация спермантитенами (в основном антигенами лимфоцитов – HLA).
6. Трансплацентарный переход антителпродуцирующих клеток от матери к плоду.
7. Аллоиммунизация половым путем (проникновение аллоантигенов через слизистую половых органов при половом контакте).
8. Аллоиммунизация новорожденного [проникновение гемопоэтических (эритропоэтических) клеток матери, в кровотока плода в процессе родов)].

Наиболее частая причина их возникновения – аллоиммунизация антигенами эритроцитов в процессе родов (редко в течение беременности) или при переливании компонентов крови. Антитела, не связанные с беременностью или переливанием крови, относят к "naturaly ossurance" – естественно встречающимся, или спонтанным. Однако это определение не вносит ясности в понимание механизма их происхождения.

Антитела аллоиммунного происхождения относятся к трансфузионно опасным. Антитела спонтанного происхождения, в том числе ферментзависимые, считаются трансфузионно не опасными ввиду их относительно низкой активности, хотя в связи с малым числом наблюдений это окончательно не доказано. Существует общее мнение, что присутствие у реципиента антител против антигенов переливаемой крови так или иначе неблагоприятно сказывается на сроках приживания и возможности полноценного функционирования перелитых эритроцитов.

Далее рассматриваются менее известные причины возникновения противозитроцитарных антител, а также обсуждается возможность существования неизвестных ранее механизмов образования этих антител у их носителей.

Контакт с группоспецифическими субстанциями окружающей среды

Многочисленные объекты растительного и животного мира содержат полисахариды, гликолипиды и гликопротеины, подобные групповым антигенам эритроцитов человека. Будучи сильными иммуногенами, эти вещества проникают в организм с продуктами питания, вследствие паразитарных инвазий, инфекций, а также в процессе нормального взаимодействия макроорганизма с микрофлорой кожи, дыхательных путей, мочеполовой системы, желудочно-кишечного тракта. Уместно отметить, что лечение антибиотиками снижает титр изогемагглютининов, антибактериальных и противовирусных антител в сыворотке крови. После отмены антибиотиков титр этих антител восстанавливается.

Наиболее распространены в природе группоспецифические вещества АВО, в меньшей степени – Lewis, MNS, Kell. В связи с этим случаи выявления полных или неполных спонтанных антител анти-А, анти-В, анти- Le^a , анти- Le^b , анти- Le^y , анти-М, анти-Н, анти-S и анти-К не вызывают удивления. Они не являются по своему происхождению аллоиммунными в прямом смысле, так как образовались в ответ не на аллоантигены, а на гетероантигены подобной (схожей) специфичности. Некоторые антитела (анти- Le^b и анти- Le^y) при определенных условиях вырабатываются у лиц $A_{\beta}(II)$ и $AB_0(IV)$ в качестве своеобразной компенсации отсутствующих изогемагглютининов.

Что касается спонтанных антител анти-D, анти-E и анти- C^W системы резус (в том числе энзимзависимых), то их присутствие у людей остается загадкой, поскольку соответствующие антигены кроме как в эритроцитах человека и некоторых высших обезьян у других представителей фауны и флоры нашей планеты не обнаружены. В связи с этим возникает закономерное предположение о том, что эти антитела могут синтезироваться в отсутствие антигенной стимуляции.

Мутации генов, контролирующих репертуар иммуноглобулинов

Данная концепция выдвигается нами как предположительная.

Спонтанные антирезус-антитела по специфической направленности и серологическим свойствам подобны, если не идентичны, аллоиммунным. Они реагируют с эритроцитами других людей, но не реагируют с собственными эритроцитами. В то же время их нельзя отнести к аллоиммунным, так как причиной их появления не является аллоиммунизация.

Можно предположить, хотя для этого нет достаточного экспериментального обоснования, что синтез спонтанных антител обусловлен мутациями в генах, контролирующих репертуар специфических иммуноглобулинов. В результате таких мутаций иммуногенный стимул, необходимый для антителогенеза, становится либо ненужным, либо его восприятие искажается, в результате чего вырабатываются антитела произвольной специфичности, случайно совпадающей с аллоантигенной (в том числе анти-резус) направленностью. Иными словами, без какого-либо специфического антигенного контакта или в процессе контакта с антигеном, не относящимся к аллогенным системам, вырабатываются антитела со специфичностью анти-Е, анти-С^W, анти-К или другие.

Не исключено, что подобные мутации могут провоцировать вирусы или какие-либо другие воздействия на генетический аппарат человека.

Трансплацентарный переход антителпродуцирующих клеток от матери к плоду

Ранее нами было высказано предположение о том, что в процессе родов в кровотоки плода вместе с кровью матери могут попадать иммунокомпетентные материнские клетки, продуцирующие антитела самой разнообразной специфичности: противобактериальные, противовирусные, а также аллогенные антиэритроцитарные (С.И. Донсков и соавт., 1998). При условии совместимости по HLA-системе эти клетки заселяют костный мозг новорожденного и продуцируют соот-

ветствующие антитела. Подобный механизм возникновения спонтанных антител, в том числе с аллогенной направленностью, по видимому, является общебиологическим феноменом. Он широко распространен у млекопитающих, в том числе человека, и носит как позитивный характер – лежит в основе противобактериальной, противовирусной и, возможно, противоопухолевой защиты организма, так и негативный характер – пополняет контингент лиц с повышенным риском посттрансфузионных осложнений или каких-либо других нежелательных реакций, обусловленных наличием антиэритроцитарных антител.

Приводим 2 наблюдения, послужившие основанием для выказанного выше предположения.

Случай 1. У женщины A(II)ccDee (муж A(II)CcDee, в анамнезе 3 беременности, первая окончилась выкидышем, вторая и третья – нормальными срочными родами, трансфузий эритроцитов не было) обнаружены полные и неполные анти-E-антитела. Такие же анти-E-антитела выявлены у 2 ее сыновей: 20 лет O(I)ccDee и 19 лет A(II)ccDee. У обоих в анамнезе трансфузий эритроцитов не было.

Случай 2. Мужчине A(II)Rh⁺ с целью лечения острого миелобластного лейкоза пересадили костный мозг сестры A(II)Ccddee, имевшей беременности от резус-положительного мужа. Через 4 недели после трансплантации у реципиента появились полные и неполные анти-D-антитела с титром 1 : 128, положительная прямая, а затем непряная проба Кумбса, билирубинемия, потемнение мочи. Через 6 недель фенотип реципиента из A(II)Rh⁺ преобразовался в A(II)Rh⁻. Спустя 3,5 года после трансплантации костного мозга титр анти-D-антител снизился до 1 : 4.

Очевидно, что появление анти-E-антител у 2 сыновей в первом случае явилось следствием трансплацентарного проникновения антителпродуцирующих клеток матери. Во втором случае анти-D-антитела появились благодаря антителпродуцирующим клеткам или клеткам памяти, попавшим в кровотоку реципиента с трансплантированным ему костным мозгом аллоиммунизированной сестры.

Аллоиммунизация в постнатальном периоде

Персистенция материнских эритроцитов в кровотоке новорожденного протекает соответственно закономерностям, наблюдаемым при трансплантации аллогенных гемопоэтических клеток. Попадающие в кровоток ребенка в процессе родов гемопоэтические клетки матери могут создавать в его костном мозге временный очаг кроветворения (миниалломиелотрансплантация). Выброс в кровоток ребенка иногруппных эритроцитов, продуцируемых переживающим материнским клоном, инициирует антителообразование у ребенка. Появившиеся антитела приводят к подавлению указанного клона. Полагаем, что это еще один материальный механизм возникновения противозритроцитарных антител, ранее считавшихся спонтанными. В действительности эти антитела имеют хотя и необычное, но аллоиммунное происхождение.

Приводим случай обнаружения анти- C^W -антител, который позволяет предположить именно такой механизм их происхождения.

У родильницы Б-й, 1977 г. рождения, в 2004 г. при плановом скрининге обнаружены анти- C^W -антитела. В акушерском анамнезе Б-й 5 беременностей от одного мужа: 1-я – в 1997 г., закончилась рождением ребенка с геморрагическим синдромом, на третьи сутки ребенок умер; 2-я – в 1998 г., закончилась на раннем сроке выкидышем; 3-я – в 1999 г., закончилась медицинским абортом. 4-я – в 2000 г., закончилась рождением здорового ребенка, 5-я – в 2004 г., закончилась медицинским абортом. Гемотрансфузий не было.

Выявление антител в сыворотках и фенотипирование эритроцитов проводили четырьмя методами: методом конглотинации в пробирках с 33% полиглоукином, методом конглотинации в пробирках с 10% желатином, реакцией агглютинации на плоскости с помощью моноклональных антител и гелевым методом в микроколонках. Скрининг и идентификацию антител проводили желатиновым, гелевым и ферментным методами с использованием 11-клеточной панели стандартных эритроцитов.

Исследовали эритроциты (рис. 3) и сыворотку (табл. 7) крови членов семьи Б-й: мужа, дочери, матери и брата.

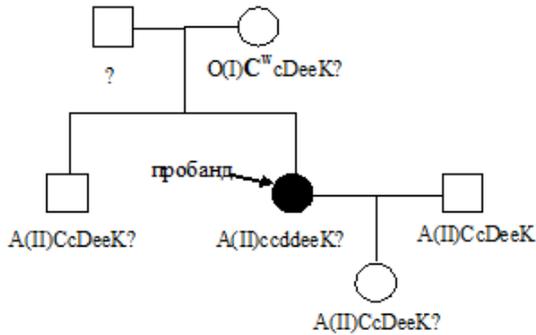


Рис. 3. Групповая принадлежность членов семьи Б-й.

Сыворотка Б-й с тремя образцами C^w-положительных эритроцитов, в том числе матери, в ферментном методе реагировала в разведении 1 : 16 – 1 : 32 (табл. 7). С собственными эритроцитами, эритроцитами мужа, брата и дочери, а также другими эритроцитами, не содержащими антигена C^w, сыворотка не реагировала, что еще раз подтверждало отсутствие антигена C^w в эритроцитах близких родственников за исключением матери.

Таблица 7

Протокол титрования сыворотки Б-й с эритроцитами, обработанными протеазой С

Фенотип энзимированных эритроцитов	Агглютинация эритроцитов							
	с сывороткой пробанда в разведении						с сывороткой AB(IV) в разведении 1 : 2	с 0,9% NaCl
	2	4	8	16	32	64		
ccddee (Б-й)	-	-	-	-	-	-	-	-
C ^w cDee (матери)	+++	+++	++	++	+	-	-	-
C ^w ddee (донора)	+++	+++	++	+	-	-	-	-
C ^w CDee (донора)	+++	+++	++	++	+	-	-	-
CcDee (мужа)	-	-	-	-	-	-	-	-
CcDee (дочери)	-	-	-	-	-	-	-	-
CcDee (брата)	-	-	-	-	-	-	-	-
CCDee	-	-	-	-	-	-	-	-
ccddee	-	-	-	-	-	-	-	-

+++ агглютинация лепестковая, ++ крупнозернистая, + мелкозернистая,
- агглютинация отсутствует.

Адсорбция сыворотки эритроцитами, содержащими антиген C^W , приводила к полному истощению анти- C^W -антител. Адсорбция сыворотки эритроцитами, не содержащими антигена C^W , практически не сказывалась на активности анти- C^W -антител, присутствующих в сыворотке.

При исследовании сыворотки Б-ной в мае 2007 г., через 2,5 года с момента обнаружения, анти- C^W -антитела желатиновым методом не выявлены, гелевым методом выявлены (реакция ++), титр их с энзимированными эритроцитами снизился и соответствовал разведению 1 : 8.

Проведенные исследования показали, что антиген C^W присутствовал только у матери пробанда. Эритроциты мужа, дочери и брата не содержали антигена C^W . Антитела анти- C^W имелись только у Б-ной. У ее матери, мужа, брата и дочери анти- C^W -антител не обнаружено. Антитела и присутствующие антигены были выявлены всеми 4 использованными методами.

Результаты проведенного исследования позволяют заключить, что анти- C^W -антитела, обнаруженные у Б-й, появились вследствие аллоиммунизации антигеном C^W , присутствующим в эритроцитах матери. Однако эта аллоиммунизация носит необычный характер и, по видимому, относится к редкому типу аллоиммунизации. Ранее такие антитела относили к естественно встречающимся, поскольку не видели причины их возникновения.

Считаем уместным более подробно обсудить высказанное положение.

В соответствии с существующими представлениями аллоиммунизация плода эритроцитами матери невозможна, поскольку плод гаплоидентичен и, кроме того, толерантен по отношению к антигенам матери. По данным П.Н. Косякова и Р.А. Авдеевой (1974) и других авторов, плод начинает контактировать с резус-антигенами матери в раннем эмбриональном периоде, с 8–10 недель развития, когда его иммунная система еще не сформировалась. По завершению формирования (до рождения) иммунная система плода воспринимает антигены матери как свои, а не как чужеродные. Таков механизм иммунологической толерантности плода, открытый в начале 50-х годов прошлого века Гашеком, Медоваром, Биллингхэмом и Brentом.

Мы полагаем, что в рассматриваемом случае имела место иммунизация пробанда антигеном материнской специфичности в позднем

постнатальном периоде. Попавшие в процессе родов в кровотоки пробанда гемопоэтические клетки матери могли создать в его костном мозге очаг кроветворения, продуцирующий эритроциты C^{W+} . Последние, очевидно, и послужили причиной аллоиммунизации Б-ной, когда она была еще ребенком.

В рассматриваемом случае иммунологическая толерантность пробанда, возникшая в период эмбрионального развития, могла быть преодолена в более позднем постнатальном или близком к пубертатному периоде в результате выброса в кровоток большого количества эритроцитов C^{W+} , продуцируемых пережившим клоном гемопоэтических клеток матери. Анти- C^{W} -антитела, выработавшиеся у пробанда в ответ на сильный антигенный стимул, привели к элиминации указанного клона, продуцирующего эритроциты C^{W+} .

Вышеизложенное положение, а именно аллоиммунизация не за счет перелитых эритроцитов, а за счет эритроцитов, продуцируемых *de novo* материнскими гемопоэтическими клетками, проникшими в организм плода вследствие фетоплацентарного кровотечения, находит подтверждение в многочисленных случаях трансплантации костного мозга. В результате репопуляции пересаженной костномозговой ткани, продуцирующей эритроциты донорского фенотипа, происходит аллоиммунизация реципиента. Описаны случаи (Л.П. Порешина, 2005), когда появившиеся противозритроцитарные антитела полностью подавляли клоны гемопоэтических клеток, послуживших причиной образования этих антител.

Полагаем, что нами установлен еще один материальный механизм возникновения противозритроцитарных антител, ранее считавшихся естественными. В действительности эти антитела имеют хотя и необычное, но аллоиммунное происхождение. Следует упомянуть, что антигены резус, в том числе C^{W} , кроме эритроцитов человека в окружающей природе не встречаются, поэтому иммунизация C^{W} -антигеном не аллогенного происхождения в рассматриваемом случае практически исключена.

Аллоиммунизация половым путем

Такой механизм возникновения антиэритроцитарных антител ранее не обсуждался.

Проникновение эритроцитов, на наш взгляд, возможно через слизистую припущивающей области и уретры при половом контакте во время *mensis*. Вероятность аллоиммунизации мужчин кровью женщин в упомянутом случае существенно выше, чем вероятность аллоиммунизации женщин кровью мужчин. По-видимому, именно этим обусловлен ранее не имевший объяснения факт, что среди носителей анти-D-антител около 19 % мужчин, большинство из которых не имели гемотрансфузий. Аллоиммунизация спермантитенами в большей мере характерна для HLA-антител, встречающихся у замужних женщин, не имевших беременностей и гемотрансфузий. Известно, что указанные гаметные клетки содержат HLA-антигены, но не содержат антигенов резус и большинства других антигенов, присущих эритроцитам.

Высказанное предположение, несомненно, нуждается в статистической и экспериментальной проверке, однако, на наш взгляд, его уже сегодня целесообразно использовать в аргументации гигиены половых отношений.

Большинство антител проявляют себя в трансфузиологической и акушерской практике (табл. 8).

Таблица 8

Общая характеристика аллоиммунных антиэритроцитарных антител

Антитела системы	Класс иммуноглобулинов		Трансфузионные реакции	Способность вызывать ГБН
	IgM	IgG		
ABO	Большинство	Некоторые	Немедленного типа, от умеренно выраженных до тяжелых	Редко

Rh	Некоторые	Большинство	Немедленного, замедленного типов, от легких до тяжелых	Часто, от легких до тяжелых форм
Kell	Некоторые	Большинство	Немедленного, замедленного типов, от легких до тяжелых	Иногда, от легких до тяжелых форм
Kidd	Некоторые	Большинство	Немедленного, замедленного типов, от легких до тяжелых	Редко, легкие формы
Duffy	Редко	Большинство	Немедленного, замедленного типов, от легких до тяжелых	Редко, легкие формы
M	Некоторые	Большинство	Замедленного типа (редко)	Редко, легкие формы
N	Большинство	Некоторые	Нет	Нет
S	Некоторые	Большинство	Замедленного типа, легкое течение	Редко, от легких до тяжелых форм
s	Редко	Большинство	Замедленного типа, легкое течение	Редко, от легких до тяжелых форм
U	Редко	Большинство	Немедленного, замедленного типов, от легких до тяжелых	Редко, от легких до тяжелых форм
P1	Большинство	Редко	Нет	Нет
Lutheran	Некоторые	Большинство	Замедленного типа	Редко, легкие формы
Le ^a	Большинство	Некоторые	Немедленного типа (редко)	Нет
Le ^b	Большинство	Редко	Нет	Нет
Diego	Некоторые	Большинство	Замедленного типа, от легких до тяжелых	Редко, от легких до тяжелых форм
Colton	Редко	Большинство	Замедленного типа, легкое течение	Редко, от легких до тяжелых форм

Dombrock	Редко	Большинство	Немедленного, замедленного типов, от легких до тяжелых	Редко, легкие формы
LW	Редко	Большинство	Замедленного типа, легкое течение	Редко, легкие формы
Yt ^a	Редко	Большинство	Замедленного типа (редко), легкое течение	Нет
I	Большинство	Редко	Нет	Нет
Ch/Rg	Редко	Большинство	Анафилактического характера	Нет
JMN	Редко	Большинство	Замедленного типа (редко)	Нет
Knops	Редко	Большинство	Нет	Нет
Xg ^a	Редко	Большинство	Нет	Нет

Риск посттрансфузионных осложнений и принцип их профилактики

Как уже указывалось выше, индекс аллоиммунизации населения (частота носителей антиэритроцитарных антител) в различных регионах Российской Федерации неодинаков и составляет 0,08–0,6 %. Однако, несмотря на то, что один из 200–650 граждан Российской Федерации имеет антиэритроцитарные антитела, реальный риск посттрансфузионного осложнения (ПТО) в лечебно-профилактических учреждениях РФ существенно ниже. Это обусловлено тем, что более 80 % всех встречающихся антиэритроцитарных антител – это антитела анти-D. Существенно меньшая доля антиэритроцитарных антител, около 20 %, приходится на антитела против минорных (не столь иммуногенных, как D) антигенов: K, E, c, C^W, C, k и др.

При условии идентичности донора и реципиента по антигену D, как того требует современная трансфузиологическая доктрина, риск ПТО снижается соответственно на 80 %, что составляет 1 на 2 500 трансфузий эритроцитов.

Расчет производили следующим образом. Если индекс аллоиммунизации населения данного региона равен 0,2 %, то при трансфузии одногруппных по АВО эритроцитов 1 000 реципиентам (при случай-

ном распределении по остальным антигенам: D, K, E, с, С^W, С и др.) следует ожидать 2 случая ПТО, или 1 ПТО на 500 гемотрансфузий. Если проводить гемотрансфузии, идентичные по АВО и D, риск ПТО уменьшается на 80 % и вероятность ПТО, соответственно, снижается по сравнению с предыдущим примером (1 на 500) до 1 на 2 500 [0,2 (100 %) минус 0,16 (80 %) = 0,04 (20 %), т. е. 1 на 2 500].

Однако и в эту вероятность следует внести поправку. Примерно половина встречающихся антител (в особенности к минорным антигенам) имеет низкую активность и проявляет себя клинически в виде реакций, которые относительно легко купируются медикаментозными средствами. Таким образом, риск ПТО с клиническими проявлениями тяжелой и средней степени уменьшается еще на 50 % и составит 1 на 5 000 трансфузий.

Далее уместно ввести еще один поправочный коэффициент – вероятность повторного переливания аллоиммунизированному больному именно тех эритроцитов, против которых он содержит антитела. Вероятность такого события составляет в среднем около 40 % (сумма частоты широко и редко встречающихся антигенов эритроцитов, разделенная на количество учитываемых антигенов). С учетом этой поправки риск посттрансфузионного осложнения в ЛПУ уменьшается до 1 на 12 500 трансфузий эритроцитов.

Для отдельно взятого трансфузиолога риск стать виновником посттрансфузионного осложнения крайне мал и, по-видимому, этим можно объяснить, что некоторые трансфузиологи пренебрегают проведением пробы на совместимость, полагаясь на то, что результат очередной пробы, как и во всех предшествующих случаях, будет благоприятным. Именно это обманчивое ощущение трансфузиолога лежит в основе большинства случаев посттрансфузионных осложнений. Вероятность осложнения, как бы она ни была мала, на практике всегда реализуется. Для одного трансфузиолога «опасный» реципиент в силу случайного распределения может не встретиться в течение всей жизни, для другого – первая же трансфузия может оказаться фатальной. Об этом следует всегда помнить и выполнять пробы на индивидуальную совместимость донора и реципиента с удвоенным вниманием.

Профилактику посттрансфузионных осложнений по относительно редким минорным антигенам (K и C^W) осуществить на практике относительно легко. Принцип ее прост. Частота этих антигенов составляет 8 % и 5 % соответственно. Достаточно отвести доноров K+ и C^W+ от донации эритроцитов, не выдавать эти эритроциты в лечебные учреждения, и посттрансфузионные осложнения по этим факторам можно предупредить практически на 100 %.

Иначе обстоит дело с профилактикой посттрансфузионных осложнений по антигенам hr' (c), rh" (E) и hr" (e), имеющим высокую частоту: 80 %, 30 % и 97 % соответственно. В отношении этих антигенов указанный выше принцип «исключить из обращения» не применим, поскольку отвести доноров hr' (c)+, rh" (E)+ и hr" (e)+ от донации эритроцитов вряд ли возможно. Для этого существует другой и, по-видимому, единственно правильный путь – использовать для переливания идентичные по этим антигенам эритроциты.

Такой же принцип подбора должен быть распространен на другие трансфузионно опасные антигены: k, Fy^a, Lu^a и др.

Эритроциты, содержащие антиген hr' (c), могут быть перелиты реципиентам c/c и C/c, но не C/C. Эритроциты, содержащие антиген E, можно переливать реципиентам e/E и E/E, но не e/e, содержащие антиген hr" (e) (частота \approx 98 %) – реципиентам e/e и e/E, но не E/E. Для практического трансфузиолога это означает, что переливание эритроцитов можно осуществлять только в том случае, если реципиент и донор идентичны по антигенам D, C, E, c, e, C^W , K и k при условии что их группа крови по системе АВО совпадает. Таким образом, идеальной трансфузионной средой для переливания реципиенту следует считать эритроцитсодержащие компоненты крови, полученной от донора, идентичного с реципиентом по 10 трансфузионно опасным антигенам: A, B, D, C, E, c, e, C^W , K и k.

В учреждениях службы крови, которые представляют собой хорошо организованную корпорированную систему, фенотипирование доноров по антигенам эритроцитов практически налажено. Необходимо наладить эту работу в лечебно-профилактических учреждениях, что в целом не представляет особого труда и не требует больших затрат.

Концепция совместимой крови согласно нормативным документам до 2013 г.* включала 3 позиции:

- донор и реципиент должны быть идентичны по антигенам А, В и D,
- донор не должен иметь антигена К,
- реципиент не должен иметь антител, направленных против антигенов донора.

В соответствии с современными представлениями о совместимости крови донора и реципиента указанная концепция, декларируемая в нормативах 2013 г.**, основывается на 2 позициях и только в такой редакции должна применяться при переливании эритроцитов:

- донор и реципиент должны быть идентичны по антигенам А, В, D, С, Е, с, е, С^w, К и к,
- реципиент не должен иметь антител, направленных против антигенов донора.

* Приказы МЗ РФ от 09.01.1998г. № 2 «Об утверждении инструкций по иммуносерологии» и от 25.11.2002 г. № 363 «Об утверждении инструкции по применению компонентов крови».

** Приказ № 183н от 02.04.2013 г. «Об утверждении правил клинического использования донорской крови и (или) ее компонентов».

Таким образом, современная концепция подбора совместимых эритроцитов должна базироваться на обязательном фенотипировании доноров и больных по 10 трансфузионно опасным антигенам эритроцитов и обязательном скрининге преобладающих антител.

На время переходного периода от совместимости (по А, В, D и К) к идентичности (по А, В, D, С, Е, с, е, С^w, К и к) учреждениям службы крови целесообразно приостановить выдачу эритроцитов С^w+ в лечебно-профилактические учреждения. Донорам С^w+ (частота встречаемости ≈ 5 %) следует предложить другой вид донорства, как это в предшествующие годы практиковалось в отношении доноров К+.

Выявление лиц, содержащих антиэритроцитарные антитела, также должно стать функциональной обязанностью иммуносерологов, нормой работы всех учреждений службы крови независимо от их мощности: станций, отделений и кабинетов переливания крови. Необходимость выявления антител у доноров и больных логически

вытекает из специфики деятельности учреждений службы крови и не требует больших финансовых вложений.

Необходимо подсчитывать индекс аллоиммунизации доноров и больных в каждом лечебном учреждении гемотрансфузиологического профиля. Без этого не мыслится полноценная гемотрансфузионная терапия в обслуживаемом регионе.

Серология посттрансфузионных осложнений

Понятие «несовместимая кровь» в ряде случаев трактуется неверно. Некоторые трансфузиологи называют донорскую кровь несовместимой, если она содержит антигены, отсутствующие у реципиента. Это положение верно только для тех случаев, когда донор и реципиент имеют разную группу крови, например: донор А(II) – реципиент В(III) или донор АВ(IV) – реципиент О(I). На другие антигенные системы это положение не распространяется. Отсутствие антигенов резус, Kell и др. у реципиента и наличие их у донора не следует расценивать как несовместимость. Это всего лишь несоответствие. О несовместимости можно говорить только в том случае, если сыворотка реципиента содержит антитела к трансфузионно опасным антигенам эритроцитов донора. Причем не вообще антитела, а именно трансфузионно опасные (АВО, резус, Kell), поскольку ряд антител (холодовые, Lewis и др.) трансфузионной опасности не представляют.

Наиболее частой причиной гемотрансфузионных осложнений является несовместимость реципиента и донора по антигенам А, В, D, с и К, реже по антигенам Е, С^W, е, Fy^a и другим.

Диагностика АВО-несовместимости

Диагностика иногруппной по АВО-системе гемотрансфузии, как правило, не представляет затруднений. Она основывается на сведениях, предоставляемых медицинским персоналом, и результатах лабораторного сравнения группы крови донора и реципиента. Вместе с тем сведения о крови, которая была перелита, не всегда могут быть до-

стоверными. Отдельные, нередко наиболее существенные детали иногда утаиваются персоналом, допустившим иногруппную трансфузию. Однако во всех случаях серологическое исследование образцов крови позволяет выявить имевшую место трансфузию иногруппной крови.

Если у реципиента налицо клинические проявления посттрансфузионного осложнения (шок, гемолиз, почечная недостаточность и др.), первое, что должен сделать иммуносеролог – исследовать кровь реципиента на наличие кровяной химеры. В первые часы после трансфузии (даже через сутки) можно наблюдать это явление. Присутствие иногруппных эритроцитов в крови реципиента устанавливают при определении группы крови реагентами анти-А, анти-В и анти-АВ. Если реципиенту О(І) перелиты эритроциты А(ІІ), последние будут агглютинироваться реагентом анти-А и анти-АВ, и на интенсивно красном фоне неагглютинированных эритроцитов О(І) будут хорошо видны четкие мелкие агглютинаты эритроцитов А(ІІ) (картина рубиновых зерен). С реагентом анти-В эффекта рубиновых зерен не будет. Результат учитывают визуально, для дополнительного контроля используют микроскоп. Аналогичную картину кровяного химизма с образованием рубиновых зерен в соответствующих реагентах можно наблюдать при любом другом варианте иногруппной трансфузии.

Наличие кровяной химеры и ее исчезновение через 2–3 дня дает основание для заключения об имевшей место иногруппной гемотрансфузии.

Независимо от того, обнаружена у реципиента кровяная химера или нет, проводится иммуносерологический мониторинг, заключающийся в периодическом исследовании титра изогемагглютининов и иммунных антител к антигенам АВО и другим трансфузионно опасным антигенам.

Для дифференцировки естественных и иммунных α - и β -антител исследуемую сыворотку прогревают при 70 °С в течение 10 мин. Естественные (термолабильные) изогемагглютинины α и β разрушаются, иммунные α - и β -антитела (термостабильные) сохраняют свою активность. Изогемагглютинины исследуют методом солевой агглютинации на плоскости или в маленьких пробирках (или планшетах для

иммунологических реакций), неполные антитела исследуют с помощью непрямой реакции Кумбса и другими методами, детектирующими IgG.

Допустим, химеру проследить не удалось, и аллоиммунные α - и β -антитела не выявлены. В этом случае исследуют сыворотку реципиента на наличие других антиэритроцитарных антител. Отсутствие у реципиента аллоиммунных антител анти-D, анти-c, анти-E, анти-K, анти-Fy, анти-Lu и др. указывает на то, что посттрансфузионное осложнение, скорее всего, обусловлено несовместимостью по системе ABO. Следует также помнить, что посттрансфузионное осложнение, подобное осложнению после переливания иногруппной крови, может возникнуть после переливания гемолизированной (случайно замороженной и размороженной) или бактериально контаминированной крови.

Общая закономерность серологических сдвигов после иногруппной трансфузии сводится к следующему. Титр изогемагглютининов α и β повышается, появляются иммунные α - и β -антитела, затем уровень изогемагглютининов постепенно снижается до исходного, титр иммунных антител также снижается или они исчезают.

В первые дни после трансфузии титр изогемагглютининов не отличается от среднестатистического или даже может быть несколько ниже за счет адсорбции изогемагглютининов перелитыми эритроцитами и плазмой. Лишь в отдельных редких случаях титр резко повышается уже в первые часы после переливания. Создается впечатление, что изогемагглютинины выбрасываются в огромном количестве из имеющегося депо.

С 7–10-го по 20-й день после трансфузии титр изогемагглютининов возрастает на 3–4 ступени. Через 2–3 недели появляются неполные (реже полные) иммунные антитела α и β . Титр их невысок: до 1 : 32 неполные, до 1 : 8 полные. Лишь в отдельных случаях титр иммунных антител достигает 1 : 256, но все же остается значительно ниже титра естественных изогемагглютининов, который может достигать 1 : 32 000. Титр α -изогемагглютининов обычно выше – 1 : 256–4 000, титр β -изогемагглютининов ниже – 1 : 128–2 000. Высокий титр иммунных антител держится недолго и через полтора-два

месяца может снизиться до 0. В эти же сроки снижается титр изогемагглютининов, однако еще долго держится на уровне, превышающем исходные показатели.

Если посттрансфузионное осложнение развивается на фоне уже имеющейся сенсибилизации реципиента к групповым антигенам АВО, например в результате разногруппной беременности, то картина серологических сдвигов будет иной. В таких случаях исследование, проведенное не следующий день после переливания, позволяет выявить высокие титры изогемагглютининов, а в некоторых случаях – присутствие иммунных антител. Далее титр всех антител возрастает и, достигнув к 10–20-му дню максимальных значений, постепенно снижается.

Следует иметь в виду, что однократное или двукратное исследование, проведенное тотчас после осложнения и в первые дни после него, не позволяет дать экспертное заключение об имевшей место иногруппной гемотрансфузии. Повышенный титр α - и β -изогемагглютининов и наличие иммунных антител может быть следствием не данной трансфузии, а предшествующей иммунизации, и само осложнение может иметь другие причины. Только результаты динамического исследования крови реципиента позволяют ответить на этот вопрос определенно. Наличие даже одного из упомянутых показателей: химеризм, характерная динамика титра термолabileльных α - и β -агглютининов, появление и убыль термостабильных α - и β -антител – позволяет с уверенностью сделать вывод о том, что имела место гемотрансфузия, несовместимая по АВО-системе.

Диагностика Rh-несовместимости

Наиболее частой причиной несовместимости переливаемой крови является антиген D, так как именно он наиболее иммуногенен по сравнению с другими антигенами системы Rh. Аллоиммунизация антигенами резус может происходить во время беременности, чаще во время родов, а также при трансфузии крови. Особенно часто аллоиммунизация развивается в тех случаях, когда эти 2 вида антигенной стимуляции сочетаются.

В литературе обсуждаются и другие причины появления антиэритроцитарных антител: тренсплацентарный перенос антител продуцирующих клеток, постнатальная транзиторная микротрансплантация гемопоэтических клеток. Однако невыяснено, являются ли антиэритроцитарные антитела, появившиеся вследствие этих причин, трансфузионно опасными.

Кроме антигена D, причиной сенсibilизации могут быть факторы с, E, C^W и e, а также групповые антигены других систем, в первую очередь Kell и Duffy. Однако, как уже упоминалось, антигенная активность перечисленных факторов значительно ниже, чем активность D, поэтому сенсibilизация к ним встречается реже.

Серологические изменения после переливания крови, несовместимой по антигенам резус, имеют свои особенности. Последние обусловлены как характером поступления антигена в организм, так и иммунным статусом сенсibilизируемого. Важно, каким образом поступил чужеродный антиген в организм – во время беременности или кроме беременности имели место переливания крови, или антиген поступил в организм только с переливаемой кровью.

М.А. Умнова (1967) выделила 3 типа серологических изменений после переливания Rh-несовместимой крови, каждый из которых проявлялся в соответствующей группе реципиентов.

Первая группа реципиентов включала женщин, которые до трансфузии крови были сенсibilизированы повторными беременностями. Все они были резус-отрицательными и имели какую-либо патологию беременности: выкидыши, преждевременные роды, многоводие, рождение детей с гемолитической болезнью. Переливание крови ранее им не производилось.

Серологические изменения у реципиентов этой группы были однотипны. До трансфузии и в первые дни после трансфузии присутствовали анти-D-антитела неполной формы с титром 1 : 64 или ниже. К 15–20-му дню титр антител возрастал, достигая в отдельных случаях 1 : 2 000. Далее активность антител постепенно снижалась. Иногда выявлялись полные антитела той же специфичности, которые появлялись на 4–7-й день после трансфузии. К 15–20-му дню титр их возрастал, достигая 1 : 128.

К 7-му дню нередко появлялись неполные антитела анти-С, на 7–10-й день анти-С-антитела выявлялись в полной форме. Активность анти-С-антител, как и анти-Д-антител, возрастала к 15–20-му дню, их титр достигал 1 : 32 для неполных и 1 : 4 – для полных.

С 20–25-го дня титр всех антител постепенно снижался. К 60-му дню сохранялись только антитела анти-Д, именно те, которые послужили причиной осложнения. Титр их еще долгое время превышал исходный на 2–3 ступени. Эти антитела наблюдались через 2–3 года, и титр их иногда был выше исходного.

Антитела иной специфичности обычно не возникали у женщин-реципиентов, сенсibilизация которых была связана только с беременностями, если первичная стимуляция была обусловлена антигеном Д, а не другими антигенами.

Вторую группу реципиентов составили женщины, сенсibilизация которых была обусловлена не только беременностями, но и трансфузиями крови. У них, как и в первой группе, имела место патология беременности и, помимо этого, сопутствующие заболевания, которые чаще всего и являлись показанием к гемотрансфузии. Если при этом ошибочно переливали резус-положительную кровь, то с увеличением числа трансфузий сначала отмечались посттрансфузионные реакции, а затем возникало гемотрансфузионное осложнение.

Серологические изменения при таких осложнениях были характерны для всех больных с данным видом сенсibilизации. В первые дни после переливания несовместимой крови у реципиентов имелись как анти-Д-, так и анти-С-антитела в полной и неполной форме. Осложнения у таких больных протекали тяжелее.

Исходный титр анти-Д-антител был выше, чем у больных предыдущей группы, сенсibilизированных только в результате беременности и не получавших гемотрансфузий. Антитела анти-Д неполные чаще всего имели титр 1 : 256, неполные анти-С-антитела – 1 : 16, полные анти-Д – 1 : 4, полные анти-С – 1 : 2. Приблизительно на 7-ой день нередко появлялись антитела анти-Е неполной, а затем полной формы.

В дальнейшем динамика титра повторяла картину, характерную для реципиентов первой группы, т. е. титр всех антител достигал мак-

симума к 15–20-му дню, а затем снижался. Антитела, появившиеся после несовместимой трансфузии, постепенно исчезали в порядке, обратном сроку их появления: те, что появились позже, исчезали раньше, и наоборот, те антитела, которые появились раньше, циркулировали более длительное время. Антитела, послужившие причиной сенсбилизации и посттрансфузионного осложнения, сохранялись более длительное время. Однако при сходности динамики серологических изменений в рассмотренных группах, титры антител у реципиентов второй группы имели более высокие значения. Максимальный титр антител анти-D неполных составлял 1 : 4 000–8 000, полных – 1 : 128, анти-C неполных – 1 : 512, полных – 1 : 4, анти-E неполных – 1 : 8, полных – 1 : 2. Антитела анти-D и анти-C в неполной форме многие месяцы сохранялись на высоком уровне.

Очевидны как сходство, так и характерные различия антителообразования в зависимости от того, произошло ли осложнение только на фоне имевших место беременностей или беременностей и трансфузий крови. В первой группе вырабатывались только анти-D-антитела, во второй – антитела анти-DC, титр антител в первой группе был ниже, чем во второй; во второй группе появлялись дополнительно антитела другой специфичности.

Пока не найден ответ на вопрос, почему в тех случаях, когда беременности сочетаются с трансфузиями крови, образование антител вызывают оба антигена резус – D и C, а при беременности только D? Как полагает М.А. Умнова, решающую роль играет характер поступления антигена. При беременности иммунизация матери происходит за счет более сильного антигена D, а фактор C, как менее антигенный, не оказывает иммунизирующего действия. При поступлении же фактора C не только от плода, но и с переливаемой кровью, этот фактор, наряду с D, дает также сильный стимулирующий эффект. К этому можно добавить, что при беременности и в процессе родов в кровяное русло попадает несоизмеримо меньшее количество иммунизирующего субстрата, чем при гемотрансфузии. Может иметь значение и тот факт, что антигенная стимуляция при беременности исходит от одного индивида, в то время как при сочетанных беременностях и гемотрансфузии стимулирующий антиген поступает от разных индивидов.

Третью группу реципиентов составили лица с повышенной склонностью к аллоиммунизации. К ним относятся больные пароксизмальной ночной гемоглобинурией, идиопатической тромбоцитопенической пурпурой, а также больные, страдающие язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки. Риск посттрансфузионных осложнений у этой категории реципиентов выше еще и потому, что им чаще приходится переливать кровь по клиническим показаниям. Осложнение у таких больных обусловлено, как правило, антителами одной специфичности, исходный титр которых бывает невысок. Однако после иногруппной трансфузии титр антител повышается очень резко, достигая исключительно высоких цифр – 1 : 1 000 000). Снижается он столь же резко. Иногда наблюдается кратковременное появление других антител. Динамика серологических изменений отличается от таковой у больных 2 предыдущих групп резким скачком титра антител.

Таким образом, у всех больных, перенесших переливание несовместимой крови, наблюдаются наряду с общими проявлениями частные особенности, обусловленные иммунным статусом, характером поступления антигена и характером заболевания. Отмечается вариабельность динамики антител, их специфичности и формы. Серологические отклонения не являются клинически значимыми и не требуют какого-либо индивидуального подхода в лечении больного, однако они свидетельствуют об имевшем место переливании иногруппной крови, требующем незамедлительных лечебных мероприятий.

Следует особо подчеркнуть, что сыворотка почти всех реципиентов на пике реакции на несовместимые эритроциты, наряду с повышением титра антител, вызвавших осложнение, приобретает способность склеивать эритроциты почти всех доноров. Эта неспецифическая агглютинация эритроцитов чрезвычайно осложняет подбор крови таким больным.

Блокада антител

Блокада антител наблюдается при переливании большого объема несовместимой крови. Чаще она происходит у больных с острой массивной кровопотерей.

Это явление заключается в том, что антитела, циркулирующие в крови реципиента, полностью или почти полностью адсорбируются перелитыми эритроцитами. Серологическое исследование крови больного показывает отсутствие антител. Клинические проявления посттрансфузионного осложнения при этом сильно сглажены. Падение уровня гемоглобина, отмечающееся у реципиента, ошибочно связывают с основным заболеванием, и для коррекции анемии продолжают проведение трансфузий несовместимой крови.

Блокада антител сохраняется в первые дни после трансфузии и затрудняет диагностику не только трансфузионного осложнения, но иногда и групповой принадлежности реципиента.

Может происходить блокада не только естественных изогемагглютининов α и β , но и аллоиммунных антител анти-D, анти-K, анти-Fy^a и антител другой специфичности.

Клинические примеры

Рассмотрим 2 наиболее типичных для блокады антител случая.

Больная Б-ка, 31 года, вес – 47 кг, поступила в реанимационное отделение Гематологического научного центра РАМН 14.10.09 г. с диагнозом: синдром гиперстимуляции яичников, массивное кровотечение. В центре экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), откуда была доставлена женщина, ей проводили подготовку к ЭКО гонадотропными гормонами. После пункции яичника у больной развилось сильное кровотечение. Кровопотеря составила 3,5 л. Больной перели-

то 11 л кровезамещающих жидкостей, в том числе 1,5 л эритроцитов А(II) и 4,2 л свежезамороженной плазмы А(II). Реакций на переливания не было.

При поступлении в ГНЦ первичное определение группы крови, выполненное дежурным реаниматологом, а также контрольное подтверждающее определение группы крови, проведенное перекрестным методом двумя врачами-иммуносерологами в 2 разных лабораториях, показало совпадающие результаты: группа крови больной $A_{\beta}(II)$. Эритроциты больной агглютинировались реагентом анти-А, реагентом анти-В не агглютинировались, в сыворотке присутствовали характерные для группы крови А изогемагглютинины β , изогемагглютинины α отсутствовали, кровяная химера отсутствовала. Контрольное исследование выполняли профессиональные иммуносерологи с большим стажем работы. Исследуемый образец крови не вызвал у них каких-либо сомнений, так как ничем не отличался от типичных образцов группы $A_{\beta}(II)$.

Поскольку сомнений в групповой принадлежности больной не возникло, индивидуальный подбор донора для этой больной не проводили. С 14.10.09 г. по 20.10.09 г. больной перелили в 7 приемов 2,4 л эритроцитов А(II), 5,4 л плазмы А(II) и 48 доз тромбоцитов А(II). Трансфузионных реакций не было.

Несмотря на интенсивную гемотрансфузионную терапию анемия, имевшаяся у больной при поступлении, не купировалась.

При индивидуальном подборе крови 19.10.09 г. у больной констатирована кровяная химера: 80 % эритроцитов агглютинировались реагентом анти-А, 20 % эритроцитов не агглютинировались реагентами анти-А и анти-В. В сыворотке крови больной присутствовали изогемагглютинины β с титром 1 : 256 и изогемагглютинины α с титром 1 : 16. Возникло подозрение, которое вскоре подтвердилось: больная имеет группу крови $O_{\alpha\beta}(I)$, а не $A_{\beta}(II)$, как было установлено ранее.

С 21.10.09 г. по 27.10.09 г. больной перелито в 4 приема 1 л эритроцитарной массы $O(I)$, 0,6 л плазмы А(II) и 3 л плазмы АВ(IV). Кровяная химера 21.10.09 г. составила 70 %, 22.10.09 г. – 10 %, 23.10.09 г. хи-

мера выявлялась только при микроскопии. 30.10.09 г. больная была выписана в удовлетворительном состоянии.

Ретроспективное исследование сыворотки больной от 14.10.09 г. с помощью непрямой пробы Кумбса позволило выявить микрохимеру. При микроскопии наблюдались мелкие немногочисленные в поле зрения агглютинаты эритроцитов А(II). Наличие микроагглютинатов могло быть обусловлено перелитыми коллоидными средами. Вместе с тем при выполнении индивидуального подбора уже тогда должно было появиться сомнение в правильности определения группы крови у больной Б-ки в Центре ЭКО.

Очевидным остается одно: в 2 учреждениях в течение 3 недель больной перелито около 4 л иногруппных эритроцитов и около 10 л иногруппной плазмы. На фоне массивной кровопотери переливание такого объема гемокомпонентов вызвало полную блокаду антител и полную кровяную химеру. Определение групповой принадлежности реципиента в такой ситуации обычными методами крайне затруднено. Блокада антител и поступление огромной массы антигенного субстрата не позволили развиваться типичному для таких иногруппных трансфузий посттрансфузионному осложнению. Можно лишь строить предположения относительно того, могли ли трансфузиологии и иммуносерологи указанных учреждений предотвратить иногруппные трансфузии.

Случай переливания большого количества иногруппной эритро-массы и плазмы, окончившийся благоприятным исходом, описали В.Г. Никогосов и Т.В. Фадеева (1994):

Больная О., 35 лет, поступила в Каменскую городскую больницу Ростовской области 18.06.1992 г. с диагнозом: ревматоидный полиартрит. В кардиологическом отделении больницы у больной была определена группа крови А(II) Rh⁺ и в связи с анемией (Hb – 79 г/л, эритроцитов – $2,37 \times 10^{12}/л$) с 25.08.92 г. по 02.09.92 г. ей перелито 600 мл эритро-массы А(II) Rh⁺. Осложнений не наблюдали. Больная продолжала получать противоревматическое лечение глюкокортикоидами.

29.09.1992 г. у больной появились боли в животе, по поводу которых 7.10.92 г. ей произведена гастродуоденоскопия, а 14.10.92 г. лапаротомия с ушиванием прободной язвы двенадцатиперстной кишки.

Перед операцией лечащим врачом реанимационного отделения у больной перепроверена группа крови и определена как В(III).

15. 10. 92 г. После проверки на совместимость (как записано в истории болезни) ей перелили 600 мл эритроцитной массы группы В(III). Лечащий врач констатировал, что осложнений нет. Температура тела 37,8 °С, АД 110/70 мм рт. столба, пульс 110 уд/мин. В

17.00 того же дня дежурный реаниматолог записал: «Состояние больной тяжелое, обусловлено операционным вмешательством. Жалуется на боли в области послеоперационной раны. Больной введено 2 мл морфина. В 24.00 введено еще 2 мл морфина».

16.10.92 г. Состояние больной тяжелое. Беспокоят боли в коленных суставах и в области послеоперационной раны. Артериальное давление 110/70 мм рт. столба. За сутки введено 3300 мл жидкости, выделено 1900 мл, Hb – 52 г/л, в моче: белок 0,485 мг%, лейкоциты 280–290 в поле зрения, эритроциты 60–80 в поле зрения. В связи с анемией больной перелили эритромассу группы В(III) 500 мл и 520 мл плазмы группы В(III).

17.10.92 г. Состояние остается тяжелым. Температура тела 37,5 °С, пульс 110 уд/мин., артериальное давление 130/70 мм рт. столба. Диурез 2050 мл. Из раны гнойное отделяемое. В моче эритроциты 3–8 в поле зрения. Больной перелили 540 мл эритромассы группы В(III) и 400 мл плазмы группы В(III).

20.10.92 г. Анализ крови: Hb – 30 г/л, количество эритроцитов – $1,38 \times 10^{12}$ /л, билирубин общий – 194,0, прямой – 182,0, непрямой – 12,0; белок 59,98 г/л. В моче эритроциты 3–5 в поле зрения.

21.10.92 г. Отмечена иктеричность склер и кожных покровов. Анализ крови: Hb – 48 г/л, эритроциты $1,49 \times 10^{12}$ /л.

Переливание эритромассы и плазмы группы В(III) продолжали до 25.10.92 г., когда лаборантом больницы вновь была перепроверена группа крови больной и было установлено, что со стандартными сыворотками у нее определяется группа крови АВ(IV), а со стандартными эритроцитами А(II). К этому времени всего было перелито 4740 мл эритроцитов В(III) и 1890 мл плазмы В(III).

25.10.92 г. Кровь больной исследована на городской СПК, где отмечено, что в ее крови присутствуют агглютиногены А и В и агглютинин β. Гемотрансфузии отменены. По поводу основного заболевания больная продолжала получать глюкокортикоидные препараты (триамцинолон).

29.10.92 г. Состояние больной улучшилось. Билирубин снизился до нормы; эритроциты в моче отсутствуют. Больная переведена в терапевтическое отделение для продолжения лечения полиартрита и затем в удовлетворительном состоянии выписана на амбулаторное лечение.

03.02.93 г. Группа крови больной перепроверена на областной СПК. Установлена группа крови А(II) Rh+. Иммуных антител не обнаружено. Естественные β-антитела в титре 1 : 8.

Приведенный случай массивной трансфузии иногруппных эритроцитов и плазмы с благополучным исходом еще раз убеждает в том, что только благодаря случайному стечению обстоятельств не произошло тяжелое посттрансфузионное осложнение, которое могло оказаться летальным.

Каковы, на наш взгляд, эти обстоятельства?

1. У больной О., имевшей группу крови А(II), относительно невысокий титр β-изогемагглютининов – 1 : 8. Следует отметить, что титрование производилось более чем через 3 месяца после осложне-

ния. Титр β -антител до иногруппной трансфузии мог быть более низким. На тот момент исследования не проводили.

На фоне низкого титра антител переливание огромной массы антигена: 4 740 мл осадка эритроцитов В(III) (почти в 2 раза превышающего массу собственных эритроцитов) и 1 890 мл плазмы В(III) способствовало тому, что перелитые эритроциты оказались недостаточно нагружены антителами для того, чтобы начался их быстрый внутрисосудистый гемолиз и далее возникла острая почечная недостаточность. Произошла блокада изогемагглютининов.

2. Водорастворимые группоспецифические субстанции В, присутствовавшие в перелитой плазме В(III), также нейтрализовали β -изогемагглютинины реципиента, сведя их титр до неактивного уровня. Уместно упомянуть, что β -антитела в серологических реакциях *in vitro* в подавляющем большинстве случаев менее активны, чем α . Эти различия, по-видимому, проявляются также *in vivo*, смягчая выраженность посттрансфузионных реакций.

3. До первого переливания иногруппной крови больная принимала гормональные препараты по поводу ревматоидного артрита. Известно, что стероидные гормоны ингибируют иммунологические реакции: связывание антитела с антигеном, фиксацию комплемента и др., что также могло профилактировать развитие иммунологической несовместимости.

4. Иммунный статус лиц, страдающих ревматоидным артритом, красной волчанкой, склеродермией и другими заболеваниями, в генезе которых присутствует аутоиммунный компонент, необычен и до сих пор представляет загадку. Не исключено, что это обстоятельство могло привести к парадоксальному эффекту, способствовавшему угнетению аллогенной иммунной реакции.

Тем не менее посттрансфузионное осложнение у больной О. имело место, хотя не потребовало специального лечения в силу блокады антител. Об этом свидетельствовали симптомы очевидного внесосудистого разрушения эритроцитов: эритропения, падение уровня гемоглобина, высокий билирубин, желтушность склер и кожных покровов.

Отсроченные гемолитические реакции

Отсроченные гемолитические реакции (ОГР) возникают спустя некоторое время после переливания эритроцитов. По мнению большинства авторов, они обусловлены иммунизацией реципиента предшествующими трансфузиями или беременностями. Образующиеся *de novo* антитела выделяются в кровяное русло постепенно. Если очередная трансфузия эритроцитов совпала с началом антителообразования, появляющиеся антитела могут вступать в реакцию с циркулирующими в кровяном русле реципиента эритроцитами донора. Реакция может начаться через 1–4 недели после гемотрансфузии. Гемолиз перелитых эритроцитов выражен слабо, визуально не диагностируется и может быть заподозрен по снижению уровня гемоглобина, отсутствию лечебного эффекта от гемотрансфузии, появлению слабоположительной прямой пробы Кумбса, напоминающей химеру, и, наконец, появлению слабых свободно циркулирующих антиэритроцитарных антител.

Антитела, обуславливающие ОГР, имеют характерную особенность, отличающую их от классических иммунных антиэритроцитарных аллоантител. Они не столь активны. Вскоре после трансфузии, инициировавшей антителогенез, эти антитела перестают вырабатываться и не выявляются серологическими методами перед очередной трансфузией. Однако в короткое время после этой трансфузии, которая в рассматриваемом случае выполняет роль буста, антитела вновь появляются в кровотоке и вызывают ОГР.

На международном форуме по гемовиджиленс – обеспечению безопасности гемотрансфузий (2006) и на международном форуме по диагностике и профилактике ОГР (2006) отмечалось, что ОГР регулярно регистрируются в лечебных учреждениях разных стран, несмотря на то что современная практика гемотрансфузий предусматривает обязательный учет антиэритроцитарных аллоантител в крови реципиента, даже если они ранее выявлялись, но отсутствуют перед очередной трансфузией. В связи с этим среди трансфузиологов и иммуносерологов обсуждается вопрос о том, как профилактировать ОГР. Следует ли проводить 2–3 повторных исследования сыворотки

каждого реципиента или родильницы спустя 2–4 недели и далее через 4–6 месяцев после трансфузии или беременности для выявления таких антител? Какова частота антител, вызывающих ОГР, а также какой из иммуносерологических методов является оптимальным для прогнозирования ОГР?

Что касается скрининга антител после каждой гемотрансфузии или беременности, мнения специалистов разделились. Одни исследователи полагают, что огромное количество образцов крови, которые необходимо исследовать, чтобы выявить прогностические признаки и предотвратить одну клинически значимую ОГР, поднимает вопрос об экономической целесообразности затрат на эту работу. Вместе с тем авторы, разделяющие эту точку зрения, не отрицают необходимость разработки национальных программ, предполагающих систему скрининга аллоантител и учета их носителей с тем, чтобы гарантировать таким пациентам качественную гемотрансфузионную помощь в какую бы больницу они ни попали.

Другие специалисты считают, что необходимы другие меры, в частности фенотипирование реципиентов по максимальному числу трансфузионно опасных антигенов и переливание эритроцитов, идентичных по этим антигенам. Речь в первую очередь идет об антигенах Rh-Hr, Kell, Duffy, Lutheran и Kidd. Такая мера позволит существенно снизить вероятность аллосенсибилизации реципиентов и предотвратить трансфузионные реакции, в том числе ОГР. Особенно это важно для больных талассемией, серповидно-клеточной анемией и другими заболеваниями, лечение которых требует регулярных трансфузий эритроцитов.

Частота ОГР

За шестилетний период (1999–2004 гг.) в Регистре трансфузионного риска Дании (DART) зарегистрировано 19 случаев ОГР. Согласно DART, под ОГР понимают гемолитические реакции, развившиеся более чем через 24 ч после трансфузии крови и сопровождающиеся положительной прямой пробой Кумбса. Посттрансфузионные реакции, не сопровождающиеся положительной прямой антиглобулино-

вой пробой, даже если они возникли после 24 ч с момента трансфузии эритроцитов, к категории отсроченных гемолитических реакций не относятся.

В Дании ежегодно переливают примерно 340 тыс. доз эритроцитов. Следовательно, частота ОГР в ЛПУ Дании составляет 1 на 18 тыс. переливаний эритроцитов. Причиной ОГР в упомянутых выше случаях послужили аллоантитела к антигенам систем Даффи, Келл, Кидд, Лютеран, резус и S. Один пациент, у которого развилась ОГР под действием антител анти-с, умер. По заключению датских специалистов, реакции часто остаются нераспознанными, поскольку антитела, вызывающие ОГР, слабые, быстро исчезают и в некоторых случаях выявляются только в результате повторных трансфузий, проводимых с целью купирования анемии.

По данным Организации Красного Креста Финляндии, регистрирующей все случаи трансфузионных осложнений, за 2002–2004 гг. в больницах Финляндии (население 5,2 млн человек) отмечено только 9 случаев ОГР. Подчеркивается, что проявления ОГР часто слабые, поэтому их малая частота может быть обусловлена тем, что не обо всех случаях было сообщено.

Распространенность ОГР в Германии (по данным Маргбургского университетского госпиталя за 2005 год) – 1 на 3 500, а частоту отсроченных серологических реакций – 1 на 2 500 трансфузий эритроцитов.

В Греции за период 1997–2004 гг. частота ОГР составила 1 : 23 000. ОГР отмечались, в основном, у больных, страдавших талассемией или серповидно-клеточной анемией. Для лечения этих больных расходуется 18–20 % всех запасов крови Греции.

В Трансфузиологическом Центре Вероны (Италия) за 5 лет на 150 тыс. трансфузий эритроцитов зафиксировано 10 случаев ОГР. Антитела, наиболее часто вызывающие ОГР, относились к системе Кидд. В 2005 г. диагностированы 2 случая ОГР: один был обусловлен аллоантителами анти- Jk^b , обнаруженными через 14 дней после трансфузии у мужчины, который в прошлом получал множественные трансфузии, другой случай был вызван антителами анти-Vel, обнару-

женными через 13 дней после трансфузии у женщины, имевшей переливание эритроцитов 4 года назад.

Schonewille и Brand (2005) провели обширный ретроспективный анализ частоты аллоиммунизации в лечебных учреждениях Лейдена (Нидерланды). За четырехлетний период, в течение которого было произведено около 495 тыс. трансфузий, частота аллоантител против клинически важных антигенов (С, с, Е, е, К, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, S и s) составляла 0,13 %. Фиксировали только ОГР с очевидными клиническими признаками гемолиза. Вследствие возрастающей частоты ауто-трансфузий актуальность ОГР постепенно утрачивается. С тех пор как в 2003 г. в Голландии была усовершенствована система гемовиджиленс, ежегодно сообщается приблизительно об 1 ОГР на 30 тыс. трансфузий эритроцитов, то есть около 20 ОГР в год.

В Норвегии регистрируемая частота ОГР менее 1 на 100 тыс. переливаний эритроцитов. Низкую частоту авторы объясняют тем фактом, что лишь немногие пациенты госпитализируются более чем на 5 дней, а большинство реакций настолько слабо выражены, что пациенты после выписки из лечебного учреждения не обращаются с какими-либо жалобами, указывающими на ОГР.

В Польше частота ОГР составила 1 на 188 тыс. реципиентов. В одном случае имел место первичный иммунный ответ на антиген Е. Билирубинемия и желтуха развились через 68 дней после трансфузии 5 доз эритроцитов, которые пришлось перелить женщине в связи с острым массивным кровотечением во время первых родов. В сыновотке женщины присутствовали анти-Е-антитела. Диагноз ОГР был обоснован тем, что имели место первая беременность, первая трансфузия, Rh-фенотип отца ребенка был DC^wсее, и антиген Е, явившийся причиной образования анти-Е-антител и ОГР, был привнесен во время трансфузии с эритроцитами доноров. У другой пациентки ОГР развилась дважды на протяжении 2 недель трансфузионного лечения. После рождения седьмого ребенка (путем кесарева сечения) родильнице были перелиты две дозы концентрата эритроцитов. Через 48 ч началась тяжелая гемолитическая реакция с почечной недостаточностью, вызванная антителами анти-s. Анемию купировали трансфузиями s-отрицательной крови. Через 10 дней после последней трансфу-

зии гематокрит снизился до 20 %, сывороточный билирубин вырос до 5,5 мг/мл, концентрация мочевины возросла до 195 мг/мл. В сыворотке крови родильницы были обнаружены анти-с-антитела, обусловившие второй эпизод ОГР. У остальных 5 больных клинические и лабораторные признаки ОГР проявились через 3–28 дней после последней трансфузии. Антитела в сыворотке и элюатах имели специфичность анти-Е, анти-С, анти-Кр^a и анти-Жк^a. У пациента, выработавшего анти-Е-антитела, появились еще и анти-К-антитела.

В Лозанне (Швейцария) за 6 лет (до 2006 г.) зарегистрировали лишь несколько ОГР, что свидетельствует либо о том, что ОГР – редкое явление, либо, что более вероятно, существующая система гемовиджиленс не в состоянии выявить это осложнение.

Частота ОГР в Англии соответствует 1 на 82 тыс. доз перелитых эритроцитов, включая случаи, когда не было клинических симптомов гемолиза, но имели место серологические признаки ОГР: положительный прямой антиглобулиновый тест и выработка серологически идентифицированных специфических антиэритроцитарных антител.

В госпитале университета Дьюка (Дархэм, США) регистрируется примерно 16 ОГР в год. При трансфузионной активности госпиталя около 37 тыс. доз эритроцитов в год частота ОГР составляет 1 на 2 300 переливаний эритроцитов.

Сроки обнаружения антител, вызывающих ОГР

Определить точный временной интервал для рутинного исследования сыворотки пациентов после трансфузии эритроцитов или беременности пока не представляется возможным, поскольку время между трансфузией и появлением антител, вызывающих ОГР, зависит от многих параметров: состояния реципиента, объема перелитых эритроцитов, специфичности антиэритроцитарных антител, медикаментозного лечения основного заболевания и др. Самостоятельный объект исследования представляет собой скрининг антител у родильниц, также имеющий свои особенности. Потребуются многочисленные кооперированные исследования, включающие дискретный скрининг антител с временными интервалами 12–36 ч с использованием

чувствительных методов, прежде чем будут разработаны оптимальные схемы детекции упомянутых антител после трансфузии и беременности.

Некоторые специалисты считают, что выявление антител следует проводить через 2–3 месяца после трансфузии эритроцитов и в те же сроки после беременности, чтобы установить или исключить иммунизацию антигенами эритроцитов.

Высказано суждение, что у постоянно получающих трансфузии пациентов, страдающих талассемическими синдромами, и пациентов с серповидно-клеточной анемией целесообразно определять аллоантитела каждые 2–3 недели. Подбор доноров по антигенам С, с, Е, е и К (помимо АВО и D) является обязательным, но более эффективная тактика предусматривает подбор и по антигенам систем Даффи, Кидд и другим, что особенно важно при проведении трансфузионной терапии в многорасовых сообществах, а также пациентам с повышенной склонностью к выработке аллоантител. Гематологических и онкологических больных целесообразно обследовать в течение 2–4 недель и затем через 3–6 месяцев после трансфузии эритроцитов. Пациентов, прошедших курс интенсивной химиотерапии, рекомендуют обследовать в шестимесячный период. Идентичность по фенотипу следует расширить для резус-отрицательных и Kell-отрицательных реципиентов. Переливание тромбоцитов должно производиться также с учетом идентичности по АВО- и резус-принадлежности донора и реципиента.

Aprili и соавт. (2006) подчеркивают, что рутинный скрининг антител через 2–3 недели, а затем через 3–6 месяцев после трансфузии несомненно может способствовать снижению риска ОГР, однако при очевидном медицинском эффекте такая система очень затратна, в особенности для учреждений, куда пациенты поступают из дальних областей. После выписки пациентов расходы на их повторное обследование существенно возрастают.

Schonewille и Brand (2005) придерживаются того же мнения. Они считают, что необходима более обширная статистика трансфузий и аллоиммунизации, чтобы рассчитать количество исследований, необходимых для предотвращения одной ОГР. То же самое относится к

оптимальному временному интервалу после трансфузии, чтобы добиться наиболее эффективного выявления антител. В настоящий момент недостаточно данных, чтобы установить наилучший временной интервал(ы) для посттрансфузионного скрининга антител. Следует различать отсроченные гемолитические посттрансфузионные реакции и отсроченные серологические посттрансфузионные реакции. Последние клинически не выражены и протекают бессимптомно. Чтобы получить данные относительно отсроченных серологических трансфузионных реакций, исследование на антитела должно быть выполнено через 7–10 дней после трансфузии. Для выявления вновь образовавшихся антител, прежде чем они станут неопределяемыми, предпочтительным может быть интервал от 3 до 6 месяцев после трансфузии.

Другие исследователи также полагают, что рутинный скрининг после последней трансфузии эритроцитов или беременности даст возможность выяснить частоту аллоиммунизаций. Скрининг, выполняемый через несколько дней после трансфузии, может выявить большинство случаев ОГР. Поэтому скрининг сыворотки надо проводить через 2–7 дней после трансфузии, далее через 14 дней и затем через 3–6 месяцев. Чтобы выявить аллоиммунизацию после беременности, первый скрининг может быть выполнен через 14 дней после родов и затем через 3–6 месяцев. По мнению указанных авторов, эта процедура, хотя и диагностически ценная, не может быть внедрена в Польше, потому что больницы не смогут оплатить расходы. Скрининг в ранний посттрансфузионный период возможен у госпитализированных пациентов. Другие пациенты, в том числе покинувшие больницу, не смогут или не согласятся на периодическую донацию крови для исследования.

По данным Redman и соавт. (1996), антитела появляются в сроки от нескольких дней до 24 дней. Большинство реципиентов, у кого развилась ОГР, не страдали от каких-либо болезненных ощущений. Из 255 зарегистрированных за 8 лет случаев ОГР в 28 случаях были тяжелые реакции с поражением почек, 8 больных умерли (в 6 случаях трансфузия была безусловной причиной смерти, в 2 случаях – отягчающим обстоятельством). Анализ данных показал, что ОГР могли

быть предотвращены при лучшей организации трансфузиологического процесса. В ряде этих случаев вызвавшие реакцию антитела были заблаговременно идентифицированы, но эта информация не сопровождала реципиента в то время, когда потребовалась трансфузия.

В противоположность предыдущим авторам Solheim и Flesland (2006), а также Milkins и соавт. (2006), считают, что нет достаточных оснований вводить обязательный скрининг антител у реципиентов после трансфузии эритроцитов и у женщин после родов. Достаточно проводить это исследование перед трансфузией и по показаниям в течение беременности. Приведенное суждение разделяют и другие авторы.

Согласно наблюдениям Combs и соавт. (2005) в клинике университета Дьюка подавляющее большинство отсроченных посттрансфузионных реакций фактически являлись отсроченными серологическими реакциями, то есть они чаще всего обнаруживались через 7–14 дней после трансфузии, когда в очередной пробе крови обнаруживались новые антитела. Эти реакции, как правило, выпадают из поля зрения клиницистов, поскольку внимание последних сосредоточено исключительно на наблюдении клинических признаков гемолиза. Крайне редко клиницисты сообщают в регистрационно-статистическую службу, что у пациента подозрение на отсроченную гемолитическую трансфузионную реакцию. Из этого авторы делают вывод, что большинство отсроченных трансфузионных реакций не вызывают у пациента явных нарушений, и поэтому рутинный скрининг антител у всех реципиентов после трансфузии не является логически показанным и экономически оправданным. Исключение составляют больные серповидно-клеточной анемией. Отсроченные гемолитические посттрансфузионные реакции у этих больных могут быть тяжелыми и опасны для жизни. У таких пациентов периодический скрининг антител после трансфузии следует проводить.

По данным Tissot (2006), 213 реципиентов после 37 554 трансфузий эритроцитов выработали антиэритроцитарные антитела различной специфичности (табл. 9), которые вполне могли вызвать ОГР. Однако авторы провели этот анализ ретроспективно и не смогли установить ни сроки появления антител, ни какие-либо другие сопут-

ствующие их появлению особенности. Вместе с тем обращает на себя внимание тот факт, что почти все антитела образовались к трансфузионно опасным минорным антигенам: E, K, c, Lu^a, Jk^a и другим. Автор делает вывод о том, что этих антител могло не быть, если бы применялась тактика переливания эритроцитов, идентичных по Rh- и K-фенотипу. Более 50 % образцов антител анти-E относились к категории энзимзависимых антител, что указывает на важность того, какие методы скрининга антител применяются.

Таблица 9

Антитела, появившиеся после трансфузий

Специфичность антител	Количество образцов, выявленных за год			Всего
	2003	2004	2005	
анти-E	20	31	21	72
анти-K	10	7	14	31
анти-c	6	4	5	15
анти-Lu ^a	6	4	5	15
анти-Jk ^a	5	4	6	15
анти-C	5	6	2	13
анти-Fy ^a	4	3	5	12
анти-Kp ^a	3	3	1	7
анти-D	2	3	2	7
анти-Bg ^a (HLA)	4	0	1	5
анти-Jk ^b	3	0	0	3
не установлена	10	5	3	18
Всего:	78 ¹	70 ²	65 ³	213
Количество перелитых доз эритроцитов	12649	12511	12394	37554

¹ 78 антител выявлено у 66 пациентов, ² 70 антител выявлено у 56 пациентов, ³ 65 антител выявлено у 59 пациентов.

По мнению большинства исследователей, принявших участие в форуме по гемовиджиленс (2006), для скрининга антител с целью профилактики ОГР более всего подходит антиглобулиновая проба в комбинации с полиэтиленгликолем и раствором низкой ионной силы, прямая проба Кумбса в гелевой модификации, твердофазный и фер-

ментный методы. Наилучший эффект дает комбинация 2 разных методов.

Профилактика ОГР

Предупреждение ОГР, по заключению специалистов, требует следующих мер:

- установление групп крови АВО, Rh(D), Rh- и К-фенотипа для всех реципиентов и трансфузий донорской крови, по возможности, идентичного фенотипа;
- автоматизированный скрининг антител перед трансфузией с использованием непрямого антиглобулинового теста с раствором низкой ионной силы в микроколонках с панелью из 3 образцов стандартных эритроцитов; скрининг проводится перед каждой трансфузией, и его результаты считаются действительными в течение 3 дней, если в этот срок проводится повторная трансфузия;
- назначение отрицательной по соответствующему антигену крови всем пациентам с антителами и тем, у кого в прошлом обнаруживались антитела;
- проба на совместимость с каждым образцом донорских эритроцитов в микроколонках с раствором низкой ионной силы;
- регистрация носителей антител в автоматизированной информационной системе с уведомлением обо всех положительных результатах и пациента, и его лечащего врача;
- скрининг антител у Rh-отрицательных женщин в период 4–6 месяцев после родов.
- национальная информационная база данных об антителах, выявленных в разных лабораториях.

Кровяные химеры

Кровяными химерами называют одновременное пребывание в кровяном русле 2 популяций эритроцитов, отличающихся по группе крови и другим антигенам. Например, в крови циркулируют 20 % эритроцитов O(I) группы и 80 % эритроцитов A(II) группы.

Кровяные химеры бывают *трансфузионные* и *истинные*. Трансфузионные возникают в результате переливания разногруппных совместимых эритроцитов, например эритроцитов группы O(I) реципиентам, имеющим группу крови A(II), B(III) или AB(IV). Трансфузионные химеры носят транзиторный характер. Через некоторое время после прекращения переливаний крови, по мере элиминации перелитых эритроцитов, трансфузионные химеры исчезают. Истинные химеры прослеживаются в течение всей жизни. Они встречаются у гетерозиготных разногруппных близнецов, у которых в период внутриутробного развития благодаря межплацентарным анастомозам происходит обмен стволовыми кроветворными клетками. Истинный химеризм наблюдается у реципиентов после трансплантации костного мозга, отличающегося по группе крови, резус-фактору и другим антигенам (*трансплантационные* химеры).

Выделяют 6 причин, приводящих к химеризму:

- обмен гемопоэтическими клетками между dizиготными близнецами, имеющими плацентарные анастомозы;
- трисомия или полисомия – наличие 3 или более гомологичных хромосом вместо 2. Третья хромосома обуславливает появление эритроцитов с антигенами иной группы, чем две первые;
- ложный химеризм – этот тип химеризма обусловлен снижением экспрессии антигенов на эритроцитах при некоторых заболеваниях (апластическая анемия, лейкозы). Например, антиген A на части популяции эритроцитов выражен настолько слабо, что они не агглютинируются сыворотками анти-A, создавая видимость группы O(I). Соотношение разногруппных эритроцитов колеблется в значительных пределах. При выздоровлении химеризм исчезает;
- переливание эритроцитов с иными, чем у реципиента, антигенами (трансфузионные химеры). Такие химеры относят к категории транзиторных.
- трансплантация костного мозга (трансплантационные химеры).
- спонтанный химеризм, возникающий в результате соматических мутаций или других неизвестных причин.

Трансплантационные химеры

Трансплантационные химеры возникают в результате приживления пересаженного костного мозга, который продуцирует эритроциты донорского фенотипа. Постепенная замена группы крови реципиента на группу крови донора (клеточный химеризм) сопровождается появлением в сыворотке реципиента групповых изогемагглютининов донора (сывороточный химеризм).

Трансплантационные химеры отличаются от трансфузионных большей продолжительностью, вариабельностью и многообразием форм.

В зависимости от количества химеричных эритроцитов, сроков их появления и продолжительности циркуляции в кровотоке реципиента химеры разделяют на типы, подтипы, варианты, подварианты и группы.

Полный тип характеризуется полной заменой антигенов эритроцитов реципиента на антигены эритроцитов донора костного мозга. *Неполный* (смешанный) тип подразделяется на 2 подтипа: *клеточный* (характеризующийся заменой антигенов эритроцитов) и *клеточно-гуморальный* (характеризующийся заменой антигенов эритроцитов и антител сыворотки реципиента на составляющие донорского фенотипа). Варианты, подварианты и группы характеризуются различным соотношением химеричных эритроцитов, естественных и иммунных антител, появляющихся вследствие взаимодействия организма хозяина и трансплантата.

Определение кровяных химер проводят методом дифференциальной агглютинации эритроцитов. В исследуемую взвесь добавляют сыворотки, избирательно агглютинирующие эритроциты донора или эритроциты реципиента, после чего подсчитывают количество свободных, неагглютинированных, эритроцитов.

Трансфузионная тактика при кровяных химерах

Установление группы крови и резус-фактора при кровяных химерах затруднено, поскольку в некоторых случаях половина эритро-

цитов, циркулирующих в кровяном русле, имеет одну группу крови, а вторая половина – другую. Перекрестная проба при этом не информативна, так как в сыворотке крови отсутствуют соответствующие изогемагглютинины, например при химере АО могут отсутствовать изогемагглютинины α , которые обычно имеются у лиц O(I) группы.

Трансфузионная терапия больных в случае эритроцитарных химер имеет свои особенности. В связи с большой вариабельностью эритроцитарного химеризма программу трансфузионного лечения подбирают индивидуально для каждого больного.

При наличии у реципиента антител против эритроцитов донора проводят плазмаферез с целью удаления антител. Реципиенту, имеющему кровяную химеру, переливают эритроциты, не содержащие антигены, по отношению к которым у реципиента могут быть антитела. Эритроцитсодержащие и плазмосодержащие среды подбирают с таким расчетом, чтобы не исказить антигенные маркеры, по которым прослеживают химеру.

Гемолитическая болезнь новорожденных

Гемолитическая болезнь новорожденных (ГБН) – заболевание, в основе которого лежит гемолиз эритроцитов плода и новорожденного, вызванный иммунологической несовместимостью крови матери и плода по эритроцитарным антигенам.

Частота ГБН составляет 3–5 случаев на 1 000 родов. В структуре перинатальной смертности доля ГБН – 2,6–7,1 %.

Этиология

Наиболее частой причиной гемолитической болезни новорожденных является несовместимость крови матери и плода по антигенам системы резус, в основном по антигену D (81–95 % случаев). ГБН может развиваться вследствие несовместимости по другим антигенным системам эритроцитов – ABO (3 %), Kell, Kidd, MNSs и др. (1 %).

ГБН обусловлена иммунизацией матери эритроцитами плода, которые проникают в материнский кровоток при родах (реже в про-

цессе беременности). Антигены системы Rh-Hr формируются у плода рано, в 8–12 недель, и обладают такой же иммуногенной активностью, как у взрослых. При беременности резус-отрицательной женщины резус-положительным плодом антиген D плода, попадая с фетальными эритроцитами в организм матери, вызывает выработку анти-D-антител класса IgG, реже IgM. Одновременно возможна аллоиммунизация другими антигенами системы резус (при иммунизации резус-отрицательных женщин антигеном D в 30 % случаев антитела анти-D сочетаются с антителами анти-C, в 5 % случаев – с антителами анти-E). Антитела класса IgG способны проходить через плацентарный барьер в кровотоки плода и вызвать разрушение его эритроцитов и, возможно, кроветворных тканей.

Тяжелую ГБН вызывают также антитела анти-c(hr') системы резус.

При нормально функционирующем плацентарном барьере фетоплацентарной геморрагии обычно не возникает или объем ее крайне мал и не стимулирует антителообразование. При первой беременности резус-отрицательных женщин резус-положительным плодом выработка анти-D-антител отмечается менее чем в 1 % случаев. При повторных беременностях вероятность аллоиммунизации достигает 6 %. Наибольшая опасность сенсбилизации возникает в период родов, так как родовая деятельность способствует трансплацентарному кровотечению. Именно при родах происходит максимальное проникновение крови плода в кровяное русло матери, а крови матери в кровяное русло плода. Объем фетоплацентарной геморрагии достигает 50 мл и более. Риск поражения плода и новорожденного возрастает при второй и последующих беременностях. Особенно усиливается прохождение фетальных эритроцитов через плаценту при осложненных родах (операции на матке, ручное отделение последа).

При снижении барьерной функции плаценты вследствие предшествующих инфекций, воспалительных заболеваний половых путей, проникновение фетальных эритроцитов в кровотоки матери в количестве, достаточном для аллоиммунизации, возможно на ранних сроках беременности.

Фактором риска сенсибилизации женщины и последующего развития ГБН являются переливания эритроцитсодержащих компонентов крови. При несовместимых по тем или иным антигенам трансфузиях у женщины могут выработаться соответствующие антиэритроцитарные антитела, которые при беременности приведут к поражению плода. В других случаях результатом трансфузии может стать первичный иммунный ответ (первичная иммунизация), когда серологически выявляемые антитела в крови матери отсутствуют, но иммунная система стимулирована и содержит сенсибилизированные В-лимфоциты. При таких условиях незначительная плодово-материнская геморрагия в течение беременности, сама по себе неспособная вызывать первичную иммунизацию, может вызвать вторичный иммунный ответ, приводящий к выработке клинически значимых антител.

В настоящее время получены данные, позволяющие полагать, что через плацентарный барьер из крови матери в кровь плода могут переходить не только антитела, но и антителпродуцирующие клетки, которые при условии высокой степени гистосовместимости между матерью и плодом способны приживать в лимфоидных органах ребенка и таким образом создавать колонию антителпродуцентов. Указанное обстоятельство может усугублять течение болезни.

ГБН чаще развивается, если несовместимость крови матери и плода по резус-фактору сочетается с их совместимостью по системе АВО. Это связано с тем, что при несовместимости по системе АВО фетальные эритроциты, попавшие в кровотоки матери, относительно быстро элиминируются естественными агглютинаинами, поэтому аллоиммунизация к резус-фактору не наступает (но при этом может развиваться иммунизация к антигенам системы АВО).

Изоиммунизация матери эритроцитами плода возникает не во всех случаях несоответствия по резус-фактору и другим антигенным системам. По данным статистики, неодинаковые по резус-фенотипу пары составляют 8–24 %, однако частота ГБН значительно ниже – 0,1–0,3 %. Причины этого не вполне ясны. Вероятно, на иммунизацию влияют различные факторы. К таким факторам относятся трансфузионный и акушерский анамнез (предшествующие гемотрансфузии и беременности повышают вероятность иммунизации), состояние

иммунной системы женщины, состояние плацентарного барьера и т. д. Играет роль также резус-фенотип ребенка, унаследованный от отца. Изоиммунизация эритроцитами плода встречается реже у резус-отрицательных женщин, имеющих резус-положительных матерей. Возможно, у этих женщин в период внутриутробного развития формируется иммунологическая толерантность к антигенам системы Rh-Hg, которая сохраняется на всю жизнь.

Патогенез

В результате агглютинации эритроцитов и последующего внутрисосудистого гемолиза у плода (и новорожденного) накапливается непрямой билирубин и другие продукты распада эритроцитов и развивается анемия. При выраженном гемолизе уровень свободного билирубина превышает функциональные возможности печени перерабатывать его в прямой билирубин. Поступающие в печень продукты гемолиза эритроцитов оказывают гепатотоксическое действие. Эти факторы приводят к нарастанию желтухи. При повышении концентрации непрямого билирубина в сыворотке до 300–350 мкмоль/л билирубин начинает проходить гематоэнцефалический барьер и поражает головной мозг, прежде всего подкорковые ядра (ядерная желтуха). Развивается билирубиновая энцефалопатия.

Продукты распада эритроцитов откладываются в печени, почках, поджелудочной железе и других органах, вызывая их функциональную недостаточность. Развивается гепатоспленомегалия. В желчных путях возникает холестаз, выделение желчи нарушается. Функциональная недостаточность печени приводит к снижению синтеза альбуминов и развитию отеков, в тяжелых случаях вплоть до развития водянки плода. Нарушается обмен липидов, углеводов и солей.

Анемия приводит к нарушению обменных процессов и усугубляет функциональную недостаточность органов и систем. Вместе с тем анемия стимулирует костномозговое кроветворение и вызывает появление очагов экстрамедуллярного кроветворения. В результате в крови возрастает число юных форм эритроцитов (эритробластов), т.е. возникает эритробластоз.

Клинические формы ГБН

Различают 3 клинические формы гемолитической болезни новорожденных: отечную, желтушную и анемическую.

Отечная форма (по современной терминологии, гемолитическая анемия с желтухой и водянкой) встречается в 2 % случаев ГБН. Она развивается при раннем иммунологическом конфликте и является наиболее тяжелой формой ГБН. Отмечается массивный гемолиз эритроцитов плода, который ведет к тяжелой анемии и выраженным обменным нарушениям с развитием гипоксии и отека тканей. Нередко имеет место внутриутробная гибель плода. У новорожденных наблюдается отек тканей, жидкость в полостях тела, сердечно-легочная недостаточность, увеличение печени и селезенки, снижение рефлексов.

Желтушная форма (гемолитическая анемия с желтухой) – наиболее распространенная (88 % случаев), характеризуется прежде всего развитием анемии, гемолитической желтухи и гепатоспленомегалии, которые прогрессируют. В связи с продолжающимся гемолизом нарастает билирубиновая интоксикация, развивается энцефалопатия. Билирубинемия постепенно достигает уровня, за которым начинается проникновение билирубина через гематоэнцефалический барьер. Появляется ядерная желтуха (основные клинические симптомы – ригидность мышц затылка, судороги и др.). При развитии холестаза к гемолитической добавляется холестатическая желтуха.

Анемическая форма, или гемолитическая анемия без желтухи и водянки, составляет 10 % случаев ГБН и является относительно доброкачественной формой. Основным симптом – постепенно усиливающаяся анемия (появляется либо сразу после рождения, либо, в легких случаях, в течение 1-й недели жизни). Уровень гемоглобина может падать до низких цифр. Желтуха выражена слабо. Иногда наблюдается гепатоспленомегалия. Общее состояние новорожденного в целом ухудшается незначительно.

Лабораторная диагностика

Для ранней диагностики и оценки тяжести ГБН применяют различные методы пренатального тестирования:

1. Определение иммунных антител. Исследуют сыворотку крови матери посредством непрямой пробы Кумбса и реакции агглютинации в солевой среде. С помощью этих методов в крови матери обнаруживают неполные (часто в высоком титре) и реже полные антитела антирезус. При ГБН, обусловленной несовместимостью по системе АВО, в крови матери выявляют иммунные групповые антитела анти-А и анти-В классов IgG и IgM.

Определенное значение имеет динамика титра антител в течение беременности. Этот показатель используют для прогнозирования ГБН и ее тяжести, хотя титр материнских антител и его возрастание к концу беременности не всегда коррелируют с клинической выраженностью болезни.

2. Амниоцентез. Исследование околоплодных вод весьма информативно для оценки состояния плода, поскольку амниоцентез дает возможность провести целый ряд диагностических тестов, в том числе иммунологическое исследование (присутствие антител в околоплодных водах является одним из критериев тяжести ГБН), исследование содержания билирубина и т. д. В то же время амниоцентез, как инвазивная процедура, представляет опасность для плода. Возможно повреждение плаценты и провокация плодo-материнской геморрагии вследствие повреждения кровеносных сосудов и др. Поэтому для проведения амниоцентеза необходимы соответствующие показания.

3. Ультразвуковое исследование. Его применяют как диагностическую процедуру, позволяющую оценить размеры плаценты и печени плода. Увеличение плаценты – один из ранних признаков ГБН, увеличение печени свидетельствует о сильном гемолизе.

4. Пункция пупочной вены. Определяют фенотип плода по антигенам АВО, Rh-Нг и др. систем, концентрацию желчных пигментов и другие показатели, свидетельствующие о разрушении эритроцитов и анемии. Для иммунологического исследования фетальных эритроцитов применяют прямую пробу Кумбса, которая нередко бывает положительной вследствие фиксации на эритроцитах неполных антител. Анемия, гипербилирубинемия и положительная антиглобулиновая проба свидетельствуют о тяжелой гемолитической болезни плода.

Отрицательная прямая проба Кумбса при исследовании эритроцитов плода в большинстве случаев исключает ГБН.

Прогноз

При анемической форме ГБН прогноз относительно благоприятный при условии своевременно начатого лечения. При тяжелых формах ГБН отмечаются нарушения слуха, речи, детский церебральный паралич, задержка умственного развития и другие осложнения.

Профилактика

Существуют следующие методы профилактики ГБН:

1. Специфическая профилактика – формирование у женщины пассивного иммунитета к резус-фактору путем введения антител антирезус в виде иммуноглобулина антирезус. Иммуноглобулин антирезус получают из крови лиц, иммунизированных резус-антигеном. Антитела антирезус способствуют быстрой элиминации фетальных резус-положительных эритроцитов из кровотока матери и тем самым препятствуют аллоиммунизации. Предполагается, что иммуноглобулин влияет на иммунологическую систему матери, а именно блокирует антителообразующую способность иммунокомпетентных клеток, ответственных за выработку специфических антител. Для предупреждения сенсibilизации иммуноглобулин вводят внутримышечно или внутривенно всем резус-отрицательным женщинам не позднее 72 часов после родов в дозе 200–250 мкг. В некоторых случаях для предотвращения первичной иммунизации иммуноглобулин антирезус вводят во время беременности.

2. Неспецифическая профилактика ГБН сводится к ограничению гемотрансфузий у женщин детородного возраста, предупреждению нежелательных беременностей и как следствие – аборт.

3. Профилактика ГБН при наличии антител у беременной женщины включает неспецифическую десенсибилизацию (введение раствора глюкозы, кокарбоксылазы, аскорбиновой кислоты, витаминов и

др. для улучшения обменных процессов) и специфическую десенсибилизацию (пересадка кожного лоскута от мужа, что ведет к нейтрализации антител).

3. Введение внутривенных иммуноглобулинов. Введенный иммуноглобулин повышает общий уровень иммуноглобулинов в сыворотке крови матери и тормозят выработку антител в организме матери по механизму отрицательной обратной связи.

Лечение

Применяют следующие методы лечения ГБН:

1. Заменная гемотрансфузия. В тяжелых случаях ГБН проводят заменное переливание крови новорожденному. При ГБН, обусловленной конфликтом по системе Rhesus, ребенку переливают одногруппную резус-отрицательную кровь, замещая 70 % его крови. Некоторые специалисты рекомендуют переливать резус-положительную кровь. Считается, что антитела в этом случае элиминируются быстрее за счет взаимодействия с донорскими эритроцитами, однако при этом не исключено усиление гемолиза и билирубинемии. Если ГБН связана с несовместимостью по системе АВО, то переливают эритроциты группы 0(I).

В тех случаях, когда гемолитическая болезнь развивается у плода, проводят заменную гемотрансфузию плоду, пунктируя пупочную вену. Для заменного переливания используют эритроциты группы 0(I).

2. Фототерапия. Сеансы фототерапии проводятся новорожденным со слабыми и умеренными проявлениями ГБН. Метод заключается в том, что на тело новорожденного воздействуют светом в диапазоне 420-480 нм в течение 2-х часов с интервалом в 2 часа (есть и другие режимы облучения). При такой экспозиции непрямой билирубин превращается в нетоксичный пигмент биливердин.

3. Досрочное родоразрешение. В тех случаях, когда тяжелая ГБН развивается в поздние сроки (35–36 недель), прибегают к досрочному родоразрешению. Для снижения концентрации билирубина в крови новорожденного применяют гемосорбцию (при прохождении крови

через сорбент билирубин осаждается на нем). С целью уменьшения гипоксии тканей применяют гипербарическую оксигенацию. Проводят симптоматическое лечение: устранение холестаза (желчегонные средства), введение кортикостероидов с заместительной целью при токсическом поражении надпочечников.

ГБН, обусловленная антителами анти-А и анти-В

Антитела анти-А и анти-В IgG-класса способны преодолевать плацентарный барьер и вызывать гемолитическую болезнь новорожденных.

Механизм развития ГБН при несовместимости по АВО-системе также обусловлен иммунизацией матери эритроцитами плода, которые попадают в кровотоки женщины во время родов. Чаще ГБН наблюдается у новорожденных А(II) и В(III), родившихся у женщин О(I). У лиц О(I) присутствуют иммунные групповые антитела класса IgG, в то время как у лиц А(II) и В(III) преобладают иммунные групповые антитела класса IgM, неспособные проходить плацентарный барьер. У лиц О(I), в отличие от лиц А(II) и В(III), имеются перекрестно реагирующие антитела анти-А,В ($\alpha\beta$), относящиеся к γ G-глобулинам, которые легко проходят через плаценту. Наиболее агрессивными являются антитела субклассов IgG₁ и IgG₃.

Неонатальная тромбоцитопеническая пурпура

Неонатальная аллоиммунная тромбоцитопеническая пурпура (НАТП) обусловлена несовместимостью матери и плода по антигенам HPA, HLA и групповыми факторами АВО, отсутствующим у матери и унаследованными ребенком от отца. Частота возникновения НАТП составляет 1 случай на 1 000–2 000 новорожденных, хотя антигенные различия между матерью и ребенком более частые – 1 случай на 100–200 новорожденных.

Патогенез НАТП, как и ГБН при резус-несовместимости, складывается из 3 этапов:

- аллоиммунизация роженицы антигенами плода или донора,
- трансплацентарный заброс материнских антител в кровотоки новорожденного при повторной беременности,
- деструкция тромбоцитопоеза новорожденного.

Клиническим проявлением тромбоцитопении являются кожные геморрагии, появляющиеся в первые часы после рождения. Тяжелым осложнением тромбоцитопении являются внутрочерепные кровоизлияния или кровотечения, приводящие в 10 % случаев к гибели ребенка. Количество тромбоцитов в периферической крови колеблется от $120 \times 10^9/\text{л}$ до нулевых значений. Период тромбоцитопении длится от 1 до 3 недель. После выведения материнских антител из организма ребенка показатели тромбоцитов восстанавливаются.

У европеоидов НАТП в 70–80 % случаев обусловлена несовместимостью по антигенам HPA-1. Наиболее часто происходит иммунизация матери, гомозиготной по более редкому аллоантигену HPA-1b, антигеном HPA-1a, присутствующим на тромбоцитах плода. Риск аллоиммунизации повышается при наличии у матери антигена гистосовместимости DRB3*0101 (HLA-DRw52a). На втором месте по частоте аллоиммунизации, приводящей к НАТП, располагается антиген HPA-5b, ассоциированный с HLA-DR6, на третьем месте HPA-3a.

Описаны редкие случаи НАТП вследствие различия матери и плода по антигенам HPA-3b, -2a, -5a и др.

У монголоидов, в отличие от европеоидов, частой причиной НАТП являются различия по антигену HPA-4b (80 % случаев), поскольку для лиц этой расовой принадлежности характерен антигенный полиморфизм в локусе HPA-4.

Описаны случаи НАТП, обусловленные антилейкоцитарными антителами анти-HLA-A2 и HLA-B7. Однако, как полагают некоторые авторы, анти-HLA-антитела не столь значимы в патогенезе тромбоцитопений, как специфические антитромбоцитарные, поскольку они адсорбируются плацентой и другими тканями плода, содержащими HLA-антигены. Вместе с тем HLA-антигены на тромбоцитах плода имеют слабую экспрессию, недостаточную для деструкции HLA-антителами матери.

Антитромбоцитарные аутоантитела беременной, страдающей аутоиммунной тромбоцитопенией, не вызывают неонатальной тромбоцитопении.

Для лечения НАТП применяют внутривенное введение иммуноглобулина и трансфузии донорских тромбоцитов с известным фенотипом по HPA и HLA. При отсутствии совместимых тромбоцитов ребенку переливают тромбоциты матери, освобожденные от плазмы, содержащей иммунные антитела. Трансфузии тромбоцитов нежелательны при наличии у ребенка аутоиммунных антител матери.

Система обеспечения иммунологической безопасности переливания эритроцитов (организационная структура, методология)

Система обеспечения иммунологической безопасности переливания эритроцитов имеет две составляющие – производственную и клиническую иммуносерологию. Структура производственной иммуносерологии представлена профильными лабораториями и техническими группами коммерческих организаций, станций и отделений переливания крови и контролирующими организациями Министерства здравоохранения и социального развития РФ. Их функция – производство и контроль качества иммуносерологических реактивов. Клиническая иммуносерология представляет собой сферу применения иммуносерологических реактивов для определения группы крови, резус-фактора и других антигенов эритроцитов, проведения проб на индивидуальную совместимость крови донора и реципиента непосредственно в клинике.

Ошибки, обусловленные некачественными тестовыми реактивами, при существующей системе производства практически исключены. Источником ошибок является сфера клинической иммуносерологии. До недавнего времени переливание крови относили к простым процедурам, которые может выполнять любой врач. Однако, как показала практика, у врача, переливающего кровь от случая к случаю, не закрепляются необходимые для трансфузиолога и иммуносеролога профессиональные навыки. В связи с этим первый принцип обеспечения безопасности гемотрансфузии: иммуносерологические исследования и

переливание эритроцитов должны выполнять профессионально подготовленные специалисты.

Принципы обеспечения иммунологической безопасности переливания эритроцитов

Следует выделить 2 организационных принципа обеспечения иммунологической безопасности переливания эритроцитов:

- подбор донора, идентичного реципиенту по 10 трансфузионно опасным антигенам: A, B, D, c, E, C, e, C^w, K и k;
- определение предрасполагающих антиэритроцитарных антител у всех больных и доноров независимо от их групповой и резус-принадлежности.

Под идентичностью в рассматриваемом случае понимают не только полное соответствие (тождество) донора и реципиента по указанным антигенам, но и другие, нетождественные, комбинации, при которых донор не имеет антигенов, отсутствующих у реципиента (табл. 10).

Таблица 10

Подбор доноров, идентичных с реципиентами по системе Rh, для трансфузии эритроцитов

Реципиент		Донор					
		идентичный		2-й очереди		3-й очереди	
фенотип	частота, %	фенотип	частота, %	фенотип	частота, %	фенотип	частота, %
CcDee	31,93	CcDee	31,9	CcDEe ccDEe CCDEe	13,7 11,8 0,1		
		CCDee	16,8				
		ccddee	12,7				
		ccDee	2,2				
		Ccddee	1,5				
CCDee	16,81	CCDee	16,8	CcDee	31,9	CcDEe	13,7
		CCddee	0,03	Ccddee	1,5	CcddEe	0,4
CcDEe	13,69	любой фенотип кроме C ^w +					
ccddee	12,71	ccddee	12,7	Ccddee	1,5	ccddEe	0,1

ccDEe	11,82	ccddee ccDEe ccDee ccDEE ccddEe	12,7 11,8 2,2 2,5 0,1	CcDee CcDEe Ccddee CcddEe	31,9 13,7 1,5 0,4		
C ^w CDEe	2,6	C ^w CDEe	2,6	CCDee	16,8	C ^w cDee	2,4
ccDEE	2,49	ccDEE ccddEE	2,5	ccDEe CcDEE	11,8 0,04	CcDEe	13,7
C ^w cDee	2,38	C ^w cDee	2,4	CcDee CCDee C ^w Cdee	31,9 16,8 2,6		
ccDee	2,21	CcDee ccddee	2,2 12,7	CcDee Ccddee	31,9 1,5	ccDEe CcddEe	11,82 0,4
Ccddee	1,54	Ccddee ccdde CCddee	1,5 12,7 0,03	ccddEe	0,1	CcddEe	0,4
C ^w cDEe	1,23	C ^w cDEe ccDEe ccddee	1,2 11,8 12,7	CcDee CcDEe	31,9 13,7		
ccD ^u ee	<1	ccD ^u ee ccddee	<1 12,7	Ccddee	1,5	ccddEe	0,07
CcddEe	0,4	ccddee Ccddee CcddEe ccddEe CCddee	12,7 1,5 0,4 0,1 0,03				
CCDEe	0,1	CCDEe CCDee CCddee	0,1 16,8 0,03	CcDee CcDEe	31,9 13,7		
ccddEe	0,1	ccddEe ccddEE ccddee	0,07 12,7	Ccddee CcddEe	1,5 0,4		
CcDEE	0,04	CcDEE ccDEE ccddEE	0,04 2,5	CcDEe CcddEe ccddEe	13,7 0,3 0,1		
C ^w cddee	0,04	C ^w cddee ccddee	0,04 12,7	Ccddee	1,54	ccddEe	0,07
CCddee	0,03	CCddee	0,03	Ccddee	1,5	CcddEe	0,4
CCDEE	0,00	CCDEE	0,00	CCDEe CCDee	0,1 16,8	Ccddee	1,5
CCddEe	0,00	CcddEe CCddee	0,35 0,03	Ccddee	1,5	ccddee	12,7
CcddEE	0,00	CcddEE ccddEE	0,00 0,00	CcddEe ccddEe	0,4 0,1		
ccddEE	0,00	ccddEE	0,00	ccddEe	0,1	CcddEe	0,4

CCD ^u ee		CCD ^u ee CCddee	0,03	CcD ^u ee CcDee Ccddee	31,9 1,5	ccddee	12,7
CcD ^u ee		CcD ^u ee CCD ^u ee ccD ^u ee		Ccddee ccddee	1,5 12,7		
ccD ^u Ee		ccddee ccddEe ccD ^u Ee	12,7 0,4	Ccddee CcddEe	1,5 0,4		
ccD ^u EE		ccD ^u EE ccddEe ccddEE	0,4	CcddEe	0,4		
C ^w ccdEe		ccddee ccddEe C ^w ccdEe	12,7 0,1	Ccddee CcddEe	1,5 0,4		
C ^w cDEE		C ^w cDEE ccDEE ccddEE	2,5	CcDEE	13,7	CcddEe	0,4

Прежде чем приступать к иммуносерологическому исследованию донора и реципиента (определению группы крови, резус-фактора и других трансфузионно опасных антигенов эритроцитов), необходимо знать индекс аллоиммунизации населения в регионе.

Чрезвычайно важен сбор анамнестических сведений о реципиенте, особенно если это женщина: имелись ли беременности, гемотрансфузии, их количество, как закончились (с осложнениями или без таковых), выявлялись ли ранее антиэритроцитарные антитела, в том числе у членов семьи и близких родственников, общие сведения о семье. Нередко ценную информацию дают сопровождающие больного родственники. Указанные сведения помогают не только уточнить степень риска посттрансфузионного осложнения, но и фактически избежать его. Недоучет, игнорирование анамнестических сведений о реципиенте, является ошибкой трансфузиолога.

Шкала приоритета трансфузионно опасных антигенов

В отличие от индекса аллоиммунизации – частоты антиэритроцитарных антител в популяции, шкала приоритета трансфузионно опасных антигенов характеризует иммуногенность того или

иногo антигена и выражается частотой соответствующих антител: анти-D, анти-K, анти-Fy^a и т. д. (сводка 1).

Антитела против																								
антигенов:	D	>	K	>	E	>	c	>	C ^w	>	C	>	e	>	Fy	>	Le	>	Jk	>	P ₁	>	k	
Частота антител																								
в %:	80		6		4		3		2		0,5		0,4			>						0,04

Сводка 1. Шкала приоритета трансфузионно опасных антигенов и антител.

Антитела к антигену D встречаются в 13 раз чаще, чем антитела к антигену Kell, в 26 раз чаще, чем антител к антигену hr'(c), в 110 раз чаще, чем антитела к антигену Fy^a, что свидетельствует о существенно более выраженной иммуногенной активности антигена D по сравнению с антигенами Kell, hr'(c) и Fy^a.

Шкала иммуногенности, или приоритета, трансфузионно опасных антигенов одновременно является шкалой приоритета трансфузионно опасных антител.

Для клинической практики шкала приоритета трансфузионно опасных антигенов важна, поскольку подчеркивает значение антигенов эритроцитов, в особенности D, K, c, E, C^w, как источника аллоиммунизации населения и наиболее частой причины посттрансфузионных осложнений.

Профилактика посттрансфузионных осложнений по антигенам Kell и hr'(c)

Наиболее выраженными иммуногенными свойствами среди минорных* антигенов эритроцитов обладают факторы Kell (K) и hr'(c). Фактор K стоит на втором месте после антигена D в шкале трансфузионно опасных антигенов эритроцитов. Третье место занимает фактор hr'(c).

Индекс аллоиммунизации, а также риск посттрансфузионного осложнения к обоим указанным факторам высокий.

* антигены A, B и D относят к мажорным, поскольку они обладают сильными иммуногенными свойствами, антигены K, Fy, Jk, Le и др. называют минорными (они по сравнению с факторами A, B и D более слабые иммуногены).

Фактор К встречается примерно у 7–9 % людей, поэтому почти каждая десятая гемотрансфузия – это трансфузия К-положительной крови К-отрицательному реципиенту, каждая десятая беременность – это беременность К-отрицательной женщины К-положительным плодом.

Для того чтобы избежать посттрансфузионных осложнений по фактору К, необходимо выдавать в лечебные учреждения, в которых отсутствует фенотипирование реципиентов, К-отрицательные эритроциты. В отделениях и станциях переливания крови следует производить определение фактора К у всех доноров в обязательном порядке наряду с определением групповой и резус-принадлежности крови, после чего отбирать К-положительные образцы, не допуская их выдачи для переливания К-отрицательным больным. Если фенотипирование реципиентов в лечебных учреждениях производится, эритроцитосодержащие компоненты крови переливают с учетом соответствия донора и реципиента по фактору К: К-отрицательным реципиентам переливают К-отрицательные эритроциты, К-положительным реципиентам переливают К-положительные эритроциты (приказ МЗ РФ от 25.11.2002 г. № 363).

Определение антигена К в эритроцитах производят с помощью поли- или моноклональных антител на плоскости или другими методами.

Частота аллоиммунизации фактором $hr'(c)$ составляет 2–4 %. Около 20 % людей не содержат антигена $hr'(c)$ в эритроцитах. Именно эти люди представляют группу повышенного риска развития посттрансфузионного осложнения, поскольку им в 80 % случаев переливают эритроциты, содержащие фактор $hr'(c)$. Число переливаний $hr'(c)$ -положительных эритроцитов $hr'(c)$ -отрицательным реципиентам составляет 16 на 100 гемотрансфузий. Число беременностей $hr'(c)$ -положительным плодом $hr'(c)$ -отрицательных женщин составляет также 16 на 100.

С тем чтобы уменьшить индекс аллоиммунизации и избежать посттрансфузионных осложнений, обусловленных несовместимостью по этому фактору, у каждого резус-положительного реципиента определяют $hr'(c)$ -антиген и при его отсутствии переливают реципиенту

кровь hr'(c)-отрицательных доноров. На станциях и в отделениях переливания крови необходимо иметь резервную группу таких доноров или запас hr'(c)-отрицательной эритроцитной массы.

Антиген hr'(c) определяют теми же методами, что и антиген К [14].

Профилактику посттрансфузионных осложнений по антигенам hr"(e), C^W и другим минорным антигенам эритроцитов осуществляют так же, как по антигенам К и hr'(c).

Тактика трансфузиолога

Перед переливанием эритроцитов трансфузиолог устанавливает по имеющимся документам фенотип реципиента по 10 трансфузионно опасным антигенам эритроцитов, и если таковые отсутствуют, организует или выполняет самостоятельно фенотипирование реципиента. Далее трансфузиолог устанавливает, к какой из 4 условных категорий относится реципиент (рис. 4). Если в анамнезе реципиента нет указаний на имевшиеся беременности и переливания эритроцитов, реципиента относят к категории 1. Эта категория реципиентов имеет наименьший риск посттрансфузионных осложнений.

У реципиентов, относящихся к категории 2 и 3, риск посттрансфузионного осложнения возрастает. В этом случае необходимо предварительно исследовать кровь реципиента на наличие антиэритроцитарных антител. Это исследование должно выполняться специалистом иммуносерологом в специализированной лаборатории. Подбор эритроцитов реципиентам, в крови которых обнаружены антитела (реципиентам категории 4), производится только специалистом иммуносерологом в лабораторных условиях.

Подбор доноров реципиентам всех указанных категорий производится с учетом идентичности по 10 трансфузионно опасным антигенам эритроцитов, однако последнее обстоятельство не освобождает трансфузиолога от необходимости выполнения обязательных иммуносерологических исследований непосредственно перед трансфузией: определения группы крови у донора и реципиента, выполнения проб на индивидуальную совместимость и биологической пробы.

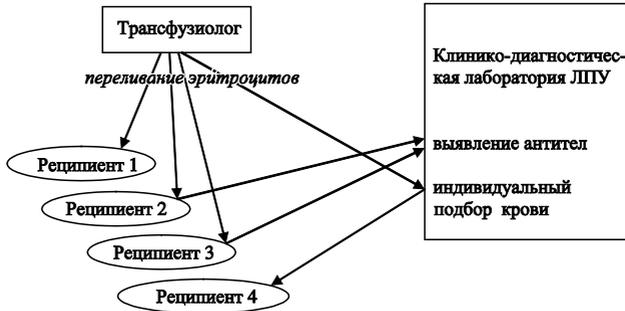


Рис. 4. Обеспечение иммунологической безопасности переливания эритроцитов (тактика трансфузиолога).

Условные обозначения:

Реципиент 1 - нет беременностей/трансфузий,

Реципиент 2 - есть беременности/трансфузии (без реакций, антител нет),

Реципиент 3 - есть беременности/трансфузии (с реакциями, антител нет),

Реципиент 4 - есть беременности/трансфузии (без реакций/с реакциями, антитела есть).

Выполнение перечисленных правил гарантирует иммунологическую безопасность трансфузии эритроцитов.

Антигены эритроцитов системы ABO и Hh

Система ABO

Основными антигенами системы ABO являются 2 – A и B. В качестве отдельных специфичностей в ней выделяют еще 2 антигена: так называемый A₂B и A₁. Отсутствие на эритроцитах указанных 4 антигенов обозначают буквой O (до 2008 г. обозначался цифрой 0). Антитела анти-A и анти-B имеют естественное происхождение. Их обозначают греческими буквами α и β .

Различают 4 группы крови, образуемые сочетаниями антигенов A и B, а также сочетаниями изогемагглютининов α и β . На эритроцитах лиц первой группы, O(I), антигены A и B отсутствуют, в плазме крови присутствуют антитела α и β . У людей со второй группой крови, A(II), на эритроцитах имеется антиген A, в плазме присутствуют антитела β . Индивиды с третьей группой, B(III), имеют на эритроци-

тах антиген В, в плазме присутствуют антитела α . У лиц с четвертой группой, АВ(IV), эритроциты несут антигены А и В, изогемагглютинины α и β в сыворотке крови отсутствуют. В нашей стране для обозначения групп крови АВО применяется буквенно-цифровая номенклатура.

Определение группы крови АВО производят путем исследования эритроцитов в прямой агглютинационной пробе на наличие антигенов А и В с использованием антител анти-А и анти-В (прямая реакция). Использование реагента анти-АВ при рутинном определении группы крови необязательно. Одновременно можно исследовать сыворотку крови со стандартными эритроцитами группы О(I), А(II) и В(III) на наличие изогемагглютининов α и β (перекрестная реакция). При исследовании крови новорожденных пробу с сывороткой не проводят, поскольку изогемагглютинины у детей, в особенности первого года жизни, могут отсутствовать.

Помимо естественных агглютининов α и β , относящихся к IgM, в сыворотке крови могут присутствовать агглютинины анти-А и анти-В, относящиеся к IgG. И те, и другие обладают комплементсвязывающей активностью, поэтому вызывают не только прямую агглютинацию эритроцитов, но и их гемолиз. Чаще всего таким свойством обладают сыворотки крови лиц группы О(I), содержащие наряду с агглютининовыми α и β перекрестно реагирующие $\alpha\beta$ -антитела. Антитела анти-А и анти-В класса IgG определяют в сыворотке после ее предварительной обработки 2-меркаптоэтанолом, дитиотрейтолом или унитиолом, которые разрушают иммуноглобулины класса IgM. Способность сывороток агглютинировать эритроциты А(II) и В(III) после обработки указанными редуцентами свидетельствует о наличии в них анти-А- и анти-В-антител IgG-класса в дополнение к естественным антителам α и β .

Аутоиммунные антитела к антигенам системы АВО встречаются редко. Описаны аутоантитела, реагировавшие с эритроцитами А и В взрослых лиц, но не реагировавшие с эритроцитами новорожденных. Эти антитела имели специфичность анти-АI и анти-ВI. В некоторых случаях аутоанти-А- и аутоанти-В-антитела вызывали внутрисосудистый гемолиз.

Подгруппы крови

Антиген А, реже В, может быть представлен в эритроцитах слабыми вариантами, в связи с чем в группах А(II) и АВ(IV) выделяют подгруппы А₁, А₂ и А₁В, А₂В соответственно. Эритроциты подгруппы А₂ обладают пониженными агглютинабельными свойствами. Слабо выраженная агглютинация может остаться незамеченной, и лица подгруппы А₂ могут быть ошибочно отнесены к группе О(I), а лица с подгруппой А₂В могут быть причислены к группе В(III).

В сыворотке крови 1–8 % лиц, имеющих подгруппу А₂, и 25 – 36 % лиц, имеющих подгруппу А₂В, содержатся экстраагглютинины α₁, специфически взаимодействующие с эритроцитами А₁ и А₁В, но не А₂, А₂В и О. Экстраагглютинины α₁ вызывают агглютинацию эритроцитов А₁ *in vitro*, однако клинического значения не имеют, поскольку *in vivo* не вызывают гемолитических реакций. При 37 °С экстраагглютинины не активны.

Существуют более слабые, чем А₂, варианты антигена А: А₃, А₄, А_х, А_м, А_{end}, А_{finn}, А_{bantu}, А_{el}, А_у и А_{pac}. Они встречаются редко – 1 на 10 000 обследованных и реже.

Описаны аналогичные, также очень редкие, варианты слабого антигена В: В₃, В_х, В_м, В_{el} и В_w. Антигены В₃ и В_х выявляются только с помощью метода адсорбции – элюции.

Известны фенотипические сочетания А_хВ, А₂В₃, А₃В₂ и др.

Описан так называемый приобретенный антиген В, который выявляется на эритроцитах лиц группы А(II). Указанный феномен наблюдается у больных некоторыми онкологическими и инфекционными заболеваниями. Он обусловлен временным переключением А-фукозилтрансфераз на синтез полисахаридов В под действием инфекционных или каких-либо других агентов. Присутствие приобретенного антигена носит транзиторный характер.

Отсутствие изогемагглютининов

Изогемагглютинины анти-А и анти-В отсутствуют в крайне редких случаях: у больных врожденной гипо- и агаммаглобулинемией, а

также при X-ассоциированном синдроме Вискотта – Олдриджа. Такие лица не способны синтезировать антитела к полисахаридным, но не белковым антигенам.

Изогемагглютинины отсутствуют при истинном химеризме, наблюдаемом у дизиготных близнецов. В период внутриутробного развития между близнецами может происходить обмен кроветворными клетками, в результате чего после рождения у каждого из близнецов в кровотоке присутствуют 2 популяции эритроцитов с различными фенотипами. Описаны химеры, когда 90 % циркулирующих эритроцитов имели группу О, а остальные 10 % – группу А. У таких индивидов в плазме крови обнаруживали только анти-В-антитела, анти-А отсутствовали (см. *Кровяные химеры*).

В очень редких случаях изогемагглютинины отсутствовали у здоровых лиц без признаков гипогаммаглобулинемии или какой-либо другой патологии. По данным Dobson и Ikin, изогемагглютинины отсутствовали у 0,01 % здоровых лиц. Авторы связывали это с соматическими мутациями, приводящими к инактивации клонов В-клеток, запрограммированных на синтез соответствующих антител. Интересно, что родители, братья и сестры пробандов содержали изогемагглютинины, характерные для соответствующей группы крови. Возможно, синтез АВО-антител контролируется широко встречающимся доминантным геном и его редко встречающимся рецессивным молчащим аллелем. Лица без изогемагглютининов являются гомозиготными по указанному рецессивному аллелю.

Антиген С

У лиц, имеющих группу крови А(II) или В(III), вырабатываются изогемагглютинины IgM, в то время как у людей группы О(I) вырабатываются дополнительно IgG. Люди О(I), помимо α - и β -агглютининов, содержат также $\alpha\beta$ -агглютинины, которые не разделяются посредством дифференциальной адсорбции. Существование детерминанты А,В (антигена С по Винеру) удалось показать с помощью моноклональных антител. В отличие от анти-А-антител, анти-А,В-антитела способны распознавать слабые варианты антигена А.

Особенность антител анти-А,В заключается в том, что они не являются смесью антител анти-А и анти-В. Если сенсибилизировать эритроциты А или В антителами анти-А,В и далее выделить связавшиеся антитела методом элюции, то оказывается, что элюаты реагируют с клетками обеих групп. Как уже указывалось, антитела анти-А,В выявляются только в сыворотках крови лиц О.

Показано, что именно $\alpha\beta$ -антитела проникают через плаценту при АВО-несовместимой беременности и играет основную роль в развитии гемолитической желтухи новорожденных.

Активность анти-А,В-антител существенно повышается у доноров добровольцев, искусственно иммунизированных группоспецифическими субстанциями А и В.

Для того чтобы отличить антитела IgM и IgG, применяют 2-меркаптоэтанол, дитиотрейтол (унитиол), которые разрывают дисульфидные связи в молекулах IgM и тем самым инактивируют их. Иммуноглобулины класса IgG устойчивы к действию редуцентов дисульфидных связей. Способность редуцированных сывороток к агглютинации эритроцитов указывает на присутствие в них антител анти-А и анти-В класса IgG

Цис-AB

Групповую принадлежность членов семьи учитывают при проведении судебно-медицинской экспертизы в случаях спорного отцовства или замены детей. В соответствии с законом наследования, у родителей AA \times AA не может быть детей с группой крови В(III) или О(I). Группа О(I) у ребенка невозможна, если один из родителей имеет группу крови АВ(IV).

Однако встречаются редкие исключения. В 1964 г. Seyfried и соавт. описали польскую семью, в которой родители $A_2B \times O$ имели детей A_2B и О, что противоречило правилу наследования групп крови: дети в данной семье должны были иметь группу крови А или В. Полученные данные позволили предположить, что, как редкое исключение, гены А и В могут располагаться на одной хромосоме в позиции

цис и передаваться в таком виде потомству. Указанная группа крови получила наименование *цис-AB*.

При обследовании 1 млн японских доноров группа AB выявлена у 112 710, из них 14 индивидов унаследовали *цис-AB*. Подобный тип наследования группы крови был обнаружен у израильтян, корейцев и представителей других национальностей.

Частота распределения

Частота распределения антигенов системы ABO существенно различается среди представителей различных рас и этнических групп. Так, среди лиц белой расы преобладают группы O(I) и A(II), в то время как среди монголоидов чаще встречается группа B(III) и AB(IV). В русской популяции группы O(I), A(II), B(III) и AB(IV) имеют частоту 33,5 %; 37,8 %; 20,5 % и 8,1 % соответственно.

Система Hh

Система Hh представлена одним антигеном – H, имеющим очень высокую частоту среди представителей всех без исключения рас и этнических групп. Вещество H является предшественником групповых субстанций A и B. Антитела анти-H имеют естественное происхождение. Они иногда присутствуют в сыворотке крови лиц A₁ и A₁B и имеют низкий температурный оптимум реагирования. Лица, у которых отсутствует H-антиген (фенотип O_h, или Бомбей), имеют в сыворотке крови помимо анти-A- и анти-B-антител, агглютинирующих эритроциты A и B, также и анти-H-антитела, агглютинирующие эритроциты O.

Помимо фенотипа Бомбей обнаружены другие разновидности H-дефицитных фенотипов – O_h (Reunion) и H_m, объединенных в коллекцию пара-Бомбей. Они отличаются от истинного типа O_h наличием в эритроцитах следов вещества H.

Химическая природа антигенов А, В и Н

Групповые вещества АВО и Н относятся к полисахаридам. Они связаны на мембране эритроцитов с белками и гликофинголипидами. Обработка эритроцитов 16% этиловым спиртом способствуют переходу нерастворимых субстанций А и В в растворимое состояние. Групповые полисахариды содержатся в строме эритроцитов в небольшом количестве. Для химического анализа их выделяют из слюны, содержимого кист яичника, желудочного сока и других жидкостей организма, в которых они содержатся в существенно большем количестве, чем в эритроцитах. Выделение осуществляют путем растворения субстрата в водных растворах и осаждения активного вещества фенолом. Очищенные групповые вещества содержат около 85 % углеводов. В состав антигенов А, В, Н и Le^a входят одинаковые углеводные компоненты: фукоза, галактоза, N-ацетил-D-глюкозамин, N-ацетил-D-галактозамин и др.

Специфические антигенные свойства полисахарида А обусловлены N-ацетил-D-галактозамином, присоединенным к терминальной группе полисахаридной цепи (рис. 5). Антигенной детерминантой полисахарида В является галактоза, антигенной детерминантой полисахаридов Н – фукоза на боковом участке.

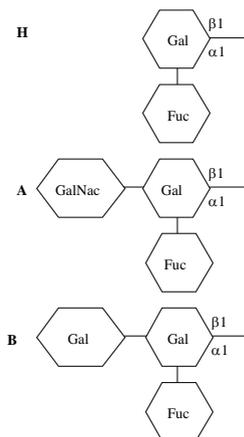


Рис. 5. Химическая структура антигенных детерминант Н, А и В.

У выделителей группоспецифические вещества дополнительно адсорбируются эритроцитами из плазмы.

На первом этапе биосинтеза групповых антигенов к веществу-предшественнику под действием фукозилтрансферазы присоединяются остатки фукозы, в результате чего образуется вещество Н. Известно 6 типов вещества Н, которые распределяются в разных соотношениях на эритроцитах детей и взрослых. Последующее гликозилирование субстанции Н под действием А- и В-трансфераз приводит к образованию группоспецифических субстанций А и В соответственно.

Посредством обработки эритроцитов А и В ферментами, расщепляющими сахара, можно получить эритроциты, лишенные групповых свойств, и использовать их как универсальную трансфузионную среду.

Групповые антигены в тканях

На мембране эритроцита взрослого человека присутствует от 1 млн до 2 млн антигенных эпитопов А и/или В. Их количество существенно ниже на клетках новорожденных и лиц со слабыми вариантами антигенов А и В.

Антигенные вещества А, В и Н присутствуют на лейкоцитах, тромбоцитах, клетках эпителия и эндотелия. Растворимые субстанции А, В и Н имеются в различных жидкостях организма. У выделителей групповых субстанций антигены А, В и Н присутствуют в большем количестве, чем у невыделителей.

Групповых антигенов А и В много в слюне и желудочном соке. Связываясь с элементами пищи, они, по-видимому, участвуют в детоксикации веществ, поступающих *per os*, и, наряду с амилазой слюны и ферментами желудочного сока, участвуют в пищеварении.

Наиболее богаты групповыми антигенами и антителами ткани генеративных органов: яичники, семенная жидкость, амниотическая жидкость.

Амниотическая жидкость содержит групповые антигены плода, которые могут нейтрализовать агглютинины матери, когда они туда проникают. Групповые антигены семенной жидкости нейтрализуют антитела слизи цервикального канала, что способствует оплодотворению. Таким образом, несоответствие группы крови не отражается на слиянии гамет и развитии эмбриона, обеспечивая потомству большее разнообразие.

Четвертое место по содержанию групповых антигенов и антител занимает кровь – эритроциты и плазма. Иногруппные субстанции, которые не нейтрализовались в пищеварительной системе, инактивируются антителами плазмы.

Выделительство

Вещества А, В и Н, как указывалось выше, присутствуют не только в тканях, но и в жидкостях организма: плазме крови, желудочном соке, слюне, семенной жидкости, молоке, амниотической жидкости и других секретах. О наличии растворимых антигенов судят по способности жидкого субстрата нейтрализовать изогемагглютинины.

Количество растворимых групповых субстанций в жидкостях организма варьирует в широких пределах. В зависимости от их концентрации (тестирование проводят по слюне) людей делят на выделителей и невыделителей. У невыделителей количество растворимых групповых субстанций крайне мало, однако полностью они не отсутствуют и могут быть выявлены методом адсорбции – элюции. В строгом понимании все люди являются выделителями.

Примерно 80 % людей относят к выделителям, 20 % – к невыделителям.

В жидкостях групповые антигены А, В и Н представлены водорастворимой формой, в эритроцитах и других клетках – спирторастворимой. Наличие водорастворимых групповых субстанций в жидкостях организма контролирует ген секреции *Se*, или *FUT2* (фукозилтрансфераза-2), а наличие спирторастворимых форм в мембранах клеток – гены *A*, *B* и *H*.

Генные локусы *ABO*, *Hh* и *FUT2* являются независимыми, но тесно взаимодействуют в процессе синтеза группоспецифических полисахаридов.

Парадоксальное выделительство

Описаны случаи парадоксального выделительства, когда группа крови лиц, установленная по слюне и молоку, не совпадает с групповой принадлежностью, установленной при исследовании эритроцитов.

Данное явление породило сомнение среди судебных медиков относительно достоверности экспертиз с целью идентификации виновника по пятнам выделений, оставленных на месте противоправных действий.

Парадоксальное выделительство зарегистрировано у 0,02–4 % людей.

Последующие исследования показали, что парадоксальное выделительство часто оказывалось артефактом, обусловленным бактериальным загрязнением исследуемого материала, неспецифическим взаимодействием с тестовыми сыворотками и перекрестными реакциями.

Вместе с тем встречается и истинное парадоксальное выделительство, механизм которого, по-видимому, связан со своеобразным дискордантным гликозилированием водорастворимых и водонерастворимых групповых субстанций в выделениях организма и эритроцитах.

Использование высокоавидных узкоспецифических моноклональных реактивов и стандартных методов исследования позволяет избежать ошибок, связанных с указанным феноменом, тем не менее о нем следует всегда помнить при экспертизе выделений и других жидкостей организма.

Молекулярно-генетическая основа антигенов А, В, Н и их наследование

Синтез антигенов АВО и Hh находится под контролем 2 независимых друг от друга локусов: *ABO*, расположенного на хромосоме 9 (9q34.1-q34.2), и *Hh*, расположенного на хромосоме 19 (19q13). Непосредственным продуктом гена *Hh*, или *FUT1*, является фермент фукозилтрансфераза. У выделителей группоспецифических субстанций имеется активный ген *Se*, или *FUT2*, кодирующий синтез фукозилтрансферазы, обеспечивающей образование растворимых форм вещества Н. Локус *Se(FUT2)* генетически независим от *ABO* и *H*. Аллель *Se* (ген выделительства) доминирует над *se* (ген невыделительства). Выделителями являются лица с генотипами *Se/Se* или *Se/se*, невыделителями – люди генотипа *se/se*.

Гены *A* и *B* контролируют синтез гликозилтрансфераз: α 1,3-N-ацетил-D-галактозаминтрансферазы и α 1,3-D-галактозилтрансферазы. Эти ферменты обеспечивают гликозилирование вещества Н. В результате образуются иммунодоминантные группы, специфически распознаваемые антителами анти-А и анти-В как соответствующие антигены.

Генный комплекс *AB(H)*

Выделяют 3 основных аллеля *ABO*: *A*, *B* и *O*. Последний не кодирует какого-либо антигена. Один из 3 аллелей наследуется от отца, другой – от матери. Лица, имеющие группу крови А(II) и В(III) могут быть как гомозиготными (*A/A*, *B/B*), так и гетерозиготными (*A/O*, *B/O*); люди, имеющие группу крови О(I), всегда гомозиготны (*O/O*), а лица группы АВ(IV) всегда гетерозиготны (*A/B*). Серологические методы не позволяют достоверно дифференцировать лиц с генотипом *A/A* и *A/O*, *B/B* и *B/O*.

Полиморфизм генов *A*, *B*, *O* и *H* обусловлен аминокислотными заменами в различных позициях кодона указанных генов. В результате таких замен появляются А-, В- и Н-трансферазы, обладающие неодинаковой способностью к гликозилированию цепей-предшественников. На фенотипическом уровне это проявляется не

только разной выраженностью антигенов, но и их качественными отличиями. Например, сцепленный ген, *цис-AB*, кодирует синтез фермента одновременно с А- и В-трансферазной активностью. Аллель *O* в некоторых случаях является следствием точковых «нонсенс-мутаций» с образованием стоп-кодона, в результате чего синтез А- и В-трансфераз не происходит. В настоящее время с помощью молекулярно-генетических методов исследования идентифицировано более 100 вариантов аллелей *ABO*.

Значение антигенов АВО в клинической практике Гемолитические трансфузионные реакции

Трансфузии несовместимых по системе АВО эритроцитов приводят к развитию тяжелых осложнений, сопровождающихся массивным внутрисосудистым гемолизом. Переливание АВО-несовместимых эритроцитов в дозе от 100 мл взрослому реципиенту может привести к летальному исходу и рассматривается в лечебно-профилактическом учреждении как чрезвычайное происшествие. Посттрансфузионные осложнения могут быть вызваны переливанием иногруппной совместимой крови, например от донора *O(I)* реципиенту *A(II)*, *B(III)* или *AB(IV)*. В этом случае антитела плазмы донора вызывают гемолиз эритроцитов реципиента. Осложнения наблюдаются после переливания плазмы или сыворотки группы *O(I)* реципиентам другой группы. Лиц группы *O(I)*, имеющих высокий титр агглютининов, в том числе иммунных, относят к опасным универсальным донорам. Трансфузии эритроцитной массы, отмытых или размороженных эритроцитов группы *O(I)* реципиентам других групп допустимы и не сопряжены с опасностью гемолиза, поскольку эти трансфузионные среды не содержат изогемагглютининов и являются безопасной универсальной трансфузионной средой.

Правила подбора совместимой крови по системе АВО

Трансфузии крови и ее компонентов осуществляют только при условии идентичности группы крови донора и реципиента. В исклю-

чительных случаях допускается переливание совместимых по АВО компонентов крови. Совместимыми считаются комбинации, при которых исключена возможность как агглютинации эритроцитов донора антителами реципиента, так и агглютинация эритроцитов больного антителами донора. Эритроциты доноров группы O(I) могут быть перелиты реципиенту, имеющему другую группу крови. Эритроциты любой группы являются совместимыми для реципиента, имеющего группу крови АВ(IV). Плазма доноров группы АВ(IV) может быть перелита реципиентам с любой группой. Больным, имеющим группу O(I), переливают только одногруппные эритроциты, а переливаемая плазма может иметь любую группу.

Влияние на реципиента растворимых группоспецифических веществ А и В, содержащихся в переливаемой иногруппной плазме, не исследовано. Какие-либо данные на этот счет в литературе отсутствуют. Можно полагать, что реакция нейтрализации упомянутых группоспецифических веществ изогемагглютинидами, наблюдаемая *in vitro*, *in vivo* себя не проявляет, иными словами, растворимые группоспецифические субстанции А и В в гемотрансфузиологии значения не имеют.

Антитела, не имеющие клинического значения Экстраагглютинины α_1 и α_2

Как упоминалось выше, у 1–8 % лиц A_2 и 25–36 % лиц A_2B в сыворотках крови присутствуют экстраагглютинины α_1 , способные агглютинировать эритроциты A_1 и A_1B . У людей A_1 и A_1B крайне редко, менее чем в 0,01 % случаев, встречаются экстраагглютинины α_2 , агглютинирующие эритроциты A_2 . Экстраагглютинины – холодовые антитела, при температуре 37 °С мало активны, гемолитических реакций *in vivo* не вызывают. Клинического значения экстраагглютинины не имеют, поэтому в дифференциации доноров и реципиентов по подгруппам крови A_1 и A_2 нет необходимости.

Анти-Н

Антитела анти-Н иногда присутствуют в сыворотке крови лиц A_1 и A_1B . Они представляют собой IgM, имеют низкий температурный оптимум и, как правило, невысокий титр. В противоположность изогемагглютиниnam α и β антитела анти-Н не способны вызвать гемолиз эритроцитов *in vivo*.

Клинически значимые анти-Н-антитела продуцируют лишь лица чрезвычайно редкого фенотипа O_h (Bombay), лишенные групповых антигенов А, В и О.

Антитела анти-Н реагируют с эритроцитами A_2 , поэтому в прежние годы их иногда идентифицировали как α_2 , или анти- A_2 . Такое обозначение неточно, поскольку антитела, специфически взаимодействующие только с эритроцитами A_2 , неизвестны. Символом A_2 обозначают фенотип, но не самостоятельный антиген.

Система Rh

Значение в медицине и биологии

Около 50 % случаев посттрансфузионных осложнений и примерно 80 % случаев гемолитической болезни новорожденных обусловлены антигеном $Rh_0(D)$ системы резус.

Аллоиммунизация антигеном D происходит не только при переливании эритроцитов. Концентраты тромбоцитов и свежезамороженная плазма из крови доноров Rh^+ также могут стимулировать продукцию анти-D-антител у реципиентов с фенотипом Rh^- за счет примеси эритроцитов в этих трансфузионных средах.

Риск аллоиммунизации D-антигеном при многократном переливании тромбоцитов от резус-положительных доноров резус-отрицательным реципиентам чрезвычайно высок и может достигать 100 %. Даже предварительное введение иммуноглобулина антирезус не всегда предотвращает сенсбилизацию.

Строгой зависимости между частотой появления анти-D-антител и объемом введенного иммуногена нет. Повторные инъекции небольших количеств (по 0,1 мл) эритроцитов D+ добровольцам D- в

большинстве случаев стимулировали образование анти-D-антител так же эффективно, как трансфузия дозы Rh-положительной крови.

Аллоиммунизация антигеном D в течение беременности происходит реже, чем в результате гемотрансфузий. В основном она наступает после родов, во время которых в кровоток роженицы попадает значительное количество эритроцитов плода – до 50 мл и более.

Продукция анти-D-антител наблюдается при пересадке почки, костей, костного мозга и других тканей, если последние недостаточно отмыты от эритроцитов.

Появление анти-D-антител может явиться следствием трансплантационного переноса антителпродуцирующих клеток от матери плоду, а также результатом трансплантации костного мозга, полученного от донора, сенсibilизированного к резус-фактору.

Посттрансфузионные осложнения могут возникать не только при переливании Rh-положительных эритроцитов лицам, имеющим антитела анти-D, но и при переливании препаратов и сред, содержащих такие антитела, Rh-положительным реципиентам. Описаны случаи гемолитической реакции у новорожденных, которым ошибочно был введен иммуноглобулин анти-Rh₀(D), предназначавшийся матери, а также казуистические случаи посттрансфузионных осложнений, когда Rh-положительным реципиентам переливали кровь доноров, среди которых были лица группы Rh– с высоким титром анти-D-антител.

Высокая иммуногенность фактора D обусловлена его строением. Полипептид, кодируемый геном *RHD*, отличается от кодируемого геном *RHce* по 36 аминокислотам. Такое различие существенно для иммунной системы реципиента. При делеции гена *RHD* кодируемое им вещество Rh не производится, поэтому вводимый при гемотрансфузии антиген практически не имеет у реципиента эквивалента. Иммунный ответ особенно сильно проявляется у лиц с необычными фенотипами –D– и Rh_{null}, у которых часть или все антигены системы Rh отсутствуют. В этом случае антигенные различия реципиента и донора, даже если последний является Rh-отрицательным, очень велики. По степени иммуногенности антигены Rh располагаются в следующей последовательности D > c > E > C^w > e > C.

Трактовка резус-принадлежности

Кого считать резус-положительным, а кого резус-отрицательным?

Разделение людей (потенциальных реципиентов) на Rh-положительных и Rh-отрицательных производится по наличию в их эритроцитах D-антигена. Тех, у кого антиген D присутствует, относят к Rh-положительным, а тех, у кого он отсутствует, – к Rh-отрицательным. Это общий, единый для всех лиц принцип.

Однако в учреждениях службы крови для оценки Rh-принадлежности доноров до 2011 г. использовали иной подход. В том случае, если донор содержал 1 из 3 разновидностей резус-антигена: Rh₀(D), rh'(C) или rh"(E) – его причисляли к Rh-положительным. К Rh-отрицательным донорам относили только тех лиц, на эритроцитах которых нет ни одной из перечисленных разновидностей. Такое разделение доноров на Rh-положительных и Rh-отрицательных было оправдано – позволяло исключить сенсбилизацию резус-отрицательных реципиентов при переливании им компонентов крови от резус-отрицательных лиц, содержащих антиген C или E, и тем самым уменьшало риск посттрансфузионных осложнений.

В настоящее время указанное противоречие в оценке резус-принадлежности доноров и реципиентов исключено постановлением Правительства (см. далее), а именно: и те, и другие являются резус-положительными (Rh⁺), если имеют D-антиген, или резус-отрицательными (Rh⁻), если D-антиген у них отсутствует. Антигены rh'(C) и rh"(E) при этом во внимание не принимают.

В постановлении Правительства РФ от 31 декабря 2010 г. № 1230 прямо указано:

«... резус-принадлежность определяется наличием или отсутствием антигена D, выявляемого при исследовании образца донорской крови, взятого во время донации;

резус-принадлежность устанавливается как положительная при наличии антигена D и как отрицательная при отсутствии антигена D».

Возникшая среди практических работников службы крови дискуссия о том, как маркировать кровь, содержащую антигены С и Е – «Rh+» или «Rh–», вскоре разрешилась.

Следует отметить, что разновидности $rh'(C)$ и $rh''(E)$ редко присутствуют в эритроцитах по отдельности. Совокупная частота фенотипов $Ccdee$, $CCdee$, $ccddEe$, $ccddEE$ и $CcddEe$ у европеоидов составляет 2,5 %. В подавляющем большинстве случаев (97,5 %) антигены С и Е представлены в комбинации с D-антигеном, поэтому при переливании эритроцитов резус-положительным реципиентам эти антигены до последнего времени не принимали во внимание.

Современная концепция совместимой крови, декларирующая идентичность донора и реципиента по 10 трансфузионно опасным антигенам, включая С и Е, лишила почвы возникшую дискуссию, поскольку вопрос о том, кого считать резус-положительным, а кого резус-отрицательным и учитывать ли при этом антигены С и Е, утратил актуальность. Донор и реципиент должны быть идентичными по 10 антигенам, включая перечисленные.

Биологическая роль антигенов резус

Роль Rh-антигенов в биологии человека неясна. Вещество Rh присутствует только в эритроцитах и, по-видимому, выполняет определенную функцию, специфичную именно для этих клеток. У лиц с фенотипом Rh_{null} эритроциты имеют эллипсоидную форму. Концентрация анионов в мембране снижена. Эритроциты часто дегидратированы из-за нарушения проницаемости мембраны для ионов воды. Срок их приживания *in vivo* снижен. Предполагается связь системы Rh с газотранспортной функцией эритроцитов: трансмембранные домены Rh-полипептида и ассоциированные с ними домены Rh-гликопротеина образуют каналы, по которым осуществляется переход CO_2 в клетку и из нее.

У людей с Rh-отрицательной кровью чаще встречаются антитела против антигенов гистосовместимости системы HLA-антитела, чем у Rh-положительных. Отмечено, что лица генотипа CDe/CDe обладают большей устойчивостью к тифоидной лихорадке, вызываемой саль-

монеллами, в то время как лица с генотипом *cDE/cDE*, и, особенно, *cDE/cde*, наоборот, предрасположены к этому заболеванию.

Классификация

Система Rh насчитывает более 50 антигенов (табл. 11). Выраженность антигенов Rh на эритроцитах варьирует в широком диапазоне. Выделяют сильные и слабые формы. Эритроциты, несущие их, обычно не имеют качественных различий и отличаются от образца к образцу степенью агглютинабельности. Выраженность агглютинации (агглютинабельность) определяется количеством антигена, представленного на поверхности эритроцитов. Например, агглютинабельность антигена D на эритроцитах людей с генотипом *cDE/cDE* выражена сильнее, чем на клетках лиц с генотипом *CDe/CDe*, поскольку количество антигенных эпитопов D на эритроцитах фенотипа *cDE* больше, чем на клетках группы *CDe*. Редкий фенотип –D–, при котором отсутствуют антигены C, E, c и e одновременно, отличается наиболее высоким содержанием субстанции D по сравнению с эритроцитами обычных D-положительных фенотипов. Слабее всего антиген D выражен на эритроцитах с фенотипом D^u.

Варианты агглютинабельности могут быть обусловлены также качественными различиями парциальных антигенов, которые содержат неполный набор D-эпитопов.

Таблица 11

Антигены Rh

Антиген	№ ISBT	Частота %	Антиген	№ ISBT	Частота %
D (Rh ₀)	RH1	85		RH32	<0,1
C (rh')	RH2	70		RH33	<0,1
E (rh'')	RH3	30	Hr ^B (Bastiaan)	RH34	>99
c (hr')	RH4	80	Be ^a (Berrens)	RH36	<0,1
e (hr'')	RH5	98	Evans	RH37	<0,1
f (ce, hr)	RH6	64	C-like (аутоантитела)	RH39	>99

Ce (rh _i)	RH7	71	Tar (Target)	RH40	<1
C ^w (rh ^{w1})	RH8	2	Ce (rh _i)-like	RH41	70
C ^x (rh ^x)	RH9	<0,1	Ce ^s	RH42	<1
V (hr ^v , ce ^s)	RH10	<1, 30 *	Craw (Crawford)	RH43	<1
E ^w (rh ^{w2})	RH11	<0,1	Nou	RH44	>99
G (rh ^G)	RH12	86	Riv	RH 45	<0,1
Hr _o	RH17	>99	Sec	RH46	>99
Hr (Hr ^s)	RH18	>99	Dav	RH47	>99
hr ^s	RH19	98	JAL	RH48	<0,1
VS (e ^s)	RH20	<1, 30 *	STEM	RH49	<0,1
C ^G	RH21	69	FPTT	RH50	<0,1
CE	RH22	<1	MAR	RH51	>99
D ^w (Wiel)	RH23	<0,1	BARC	RH52	<1
c-like	RH26	80	JANK	RH53	<0,1
cE	RH27	30	DAK	RH54	4 *
hr ^H (Hernandez)	RH28	<1	LOCR	RH55	<0,1
RH (rh _m , Rh-total)	RH29	>99	CENR	RH56	<0,1
Go ^a (Gonsales, D ^{Cor})	RH30	<0,1			
hr ^B	RH31	98			

* у негров

В столбце 1 приведены синонимы антигенов разных номенклатур: Фишера-Рейса, в скобках номенклатура Винера или оригинальные названия.

Номенклатура, фенотипы и генотипы

Существует 3 номенклатуры антигенов резус: Винера (Rh-Hr), Фишера-Рейса (CDE) и Розенфельда (Rh1–Rh53). Последняя положена в основу универсальной номенклатуры ISBT (RH1–RH53). В учреждениях службы крови применяют номенклатуру Фишера-Рейса. В печатных изданиях параллельно используется номенклатура Винера и ISBT.

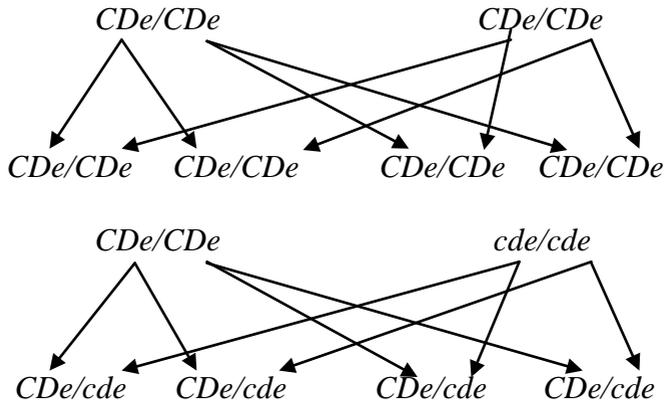


Рис. 6. Варианты наследования антигенов Rh-Hr.

У супругов $CDe/CDe \times CDe/CDe$ все дети будут гомозиготы CDe/CDe . В семье, где один из родителей CDe/CDe , а другой – cde/cde , все дети будут гетерозиготы CDe/cde . Когда родители гетерозиготы $CDe/cde \times CDe/cde$, 75 % детей будут резус-положительными, 25 % – резус-отрицательными; из всех детей 25 % будут гомозиготы CDe/CDe , 50 % – гетерозиготы CDe/cde и 25 % – гомозиготы cde/cde .

Генотип, как правило, устанавливают априори, исходя из частоты встречаемости того или иного фенотипа. В большинстве случаев данные совпадают. Например, генотип человека cde будет cde/cde ; генотип человека Cde будет соответствовать Cde/cde , человек с фенотипом cDe чаще имеет генотип cDe/cde , а не cDe/cDe , поскольку гаплотип cde встречается значительно чаще, чем гаплотип cDe . С высокой точностью генотип может быть установлен при использовании набора сывороток: анти- ce , анти- Ce , анти- cE и анти- CE . Например, человек с фенотипом $CcDEe$ может иметь генотип cDE/Cde или CDE/cde . При обоих генотипах эритроциты будут реагировать одинаково с сыворотками анти- D , анти- C , анти- E , анти- c и анти- E . Однако с сыворотками анти- ce , анти- Ce , анти- cE и анти- CE указанные эритроциты будут реагировать по-разному.

Генетические теории

Известны 3 генетические теории наследственной передачи антигенов Rh. Первая предложена в начале 50-х годов прошлого столетия Александром Винером. Согласно теории Винера, разнообразие факторов резус и их сочетаний в наблюдаемых фенотипах людей обусловлено одним геном, который встречается в виде 8 аллеломорфных вариантов: $R^0, R^1, R^2, R^Z, r^0, r^1, r^2, r^Z$.

Вторая теория (трех генов: C, D и E) принадлежит Рональду Фишеру и Роберту Рейсу. В отличие от Винера, Фишер и Рейс полагали, что существуют 3 сцепленных локуса, которые наследуются одновременно. В этих локусах в линейном порядке расположены гены D, C и E , кодирующие антигены D, C и E . В этих же локусах располагаются соответствующие им 3 аллельных гена: d, c и e , кодирующие антигенные антигены d, c и e . В каждом локусе может присутствовать один ген: D или d, C или c, E или e . Таким образом, каждый индивид получает с хромосомой матери и отца от 3 до 5 антигенных признаков, определяющих его Rh-фенотип.

Фишер сформулировал понятие об антигенных антигенах и предсказал существование антигенов E и e , которое вскоре подтвердилось. Теория трех генов позволила объяснить происхождение редких фенотипов резус: dCe, dcE, DCE, dCE , которые возникают в результате кроссинговера частых генных комбинаций: DCE, DcE, dce . При повторном кроссинговере (DCE и dce) образуется еще более редкий гаплотип – dCE .

Третья теория (двух генов: RHD и $RHCE$) предложена в 90-х годах прошлого столетия Патрицией Типпетт. Концепция Типпетт получила экспериментальное подтверждение: выделены только 2 протеина, один из которых несет антигены D , другой – антигены C, c, E , и e .

В настоящее время установлено, что система Rh контролируется двумя тесно сцепленными структурными генами, расположенными на коротком плече хромосомы 1 в локусе RH между 1p34.3 и 1p36.13. Один ген кодирует D -антиген, другой – антигены C, c, E и e . Первый

ген включает 2 аллеля: аллель *D*, получивший название *RHD*, и аллель *не-D* (отсутствие кодирующего субстрата); второй ген представлен 4 аллелями: *се*, *Се*, *сЕ* и *СЕ*. Продукты второго гена, получившего название *RHCE*, идентифицируются с помощью 5 специфических сывороток: анти-*D*, анти-*се*, анти-*Се*, анти-*сЕ* и анти-*СЕ*. Эпитопы *C*, *с*, *E* и *е* более иммуногенны, чем *се*, *Се*, *сЕ* и *СЕ*, в связи с чем антитела анти-*с*, анти-*C*, анти-*E* и анти-*е* встречаются чаще, чем антитела анти-*се*, анти-*Се*, анти-*сЕ* и анти-*СЕ*.

Необычные, в том числе редкие, фенотипы Rh возникают в результате мутаций и делеций генетического вещества. На это указывают фенотипы с ослабленными антигенами (*C*)(*e*) или (*c*)(*e*), которые ассоциированы с редкими антигенами – Rh32, Rh35, Rh48, Rh36. Мутации и другие воздействия на генный локус *RH* нарушают продукцию нормального антигена, создают новые необычные формы антигенов.

Эффекты *транс* и *цис*

Гаплотип одной хромосомы может влиять на экспрессию антигенов, кодируемых гаплотипом другой хромосомы (*транс*). Наиболее выраженный эффект позиции *транс* отмечен у лиц с генотипами *Cde/cDe* и *Cde/CDe*, при которых ген *C*, находящийся в положении *транс* по отношению к гену *D*, приводит к продукции слабого D-антигена (см. Фенотип D^u), в то время как ген *D* кодирует нормальную экспрессию D-антигена, когда в положении *транс* находится ген *с*.

Гены *C* и *E* в позиции *цис* и *транс* влияют на экспрессию одноименных антигенов. Ген *E* в позиции *цис* угнетает продукцию антигена *C*, а ген *C* в позиции *транс* угнетает продукцию антигена *E*.

Ген *D* и *E* в положении *транс* оказывает подавляющее действие на синтез антигена *C*. У лиц *CDe/cDE* антиген *C* вырабатывается в меньшем количестве, чем у людей *Cde/cde*.

Предполагается существование генов супрессоров, *X^{or}* и *X^o*, не связанных с локусом *RH*, которые, однако, влияют на экспрессию ан-

тигенов Rh, в частности инициируют появление слабо выраженных форм CDe-комплекса: (C)D(e), (c)D(e).

Экспрессия антигенов Rh

Выраженность антигенов Rh на эритроцитах не является постоянной величиной и меняется в широких пределах, от 500 до 200 000 антигенных эпитопов на один эритроцит. Больше всего антигена D присутствует на эритроцитах лиц с генотипами $-D-/-D-$, (C)D(e), cDE/cDE , меньше всего – на эритроцитах фенотипов D^u , R^N , R^{oHar} , а также на клетках группы D_{el} (elution), на которых антиген D выявляется только с помощью метода адсорбции – элюции при использовании высокоактивных сывороток анти-D.

Количество антигена связано с эффектом дозы. Эритроциты лиц cDE/cDE несут больше антигенных сайтов с, D и E, чем эритроциты лиц Cde/cDE , поскольку люди с генотипом cDE/cDE имеют 2 гаплотипа, кодирующих продукцию этих антигенов, а лица генотипа Cde/cDE – только один.

Количество антигена не определяет степень его иммуногенности. Антиген с (hr'), имеющий максимальное число антигенных участков на один эритроцит – от 37 000 до 85 000, занимает четвертое место в шкале трансфузионно опасных антигенов после антигенов D (Rh_o), K (KEL1) и E (rh"), имеющих значительно меньше антигенных эпитопов – от 3 000 до 33 000.

Структура полипептидов Rh

Полипептид Rh представляет собой цепь из 12 связанных с мембраной доменов (рис. 7). Он состоит из 417 аминокислот, имеет молекулярную массу 30–32 кДа. Основная часть полипептида размещена в фосфолипидном бислое. На внешней стороне эритроцита домены соединены 6 петлями, на которых располагаются серологически выявляемые Rh-антигены.

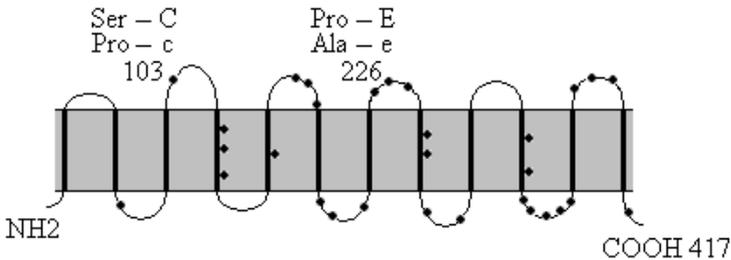


Рис. 7. Топология мембранных доменов Rh-Hr

Антитетичные антигены С и с отличаются аминокислотной заменой: серин на пролин в позиции 103 второй внеклеточной петли. Антитетичные антигены Е и е отличаются аминокислотной заменой: пролин на аланин в позиции 226 четвертой внеклеточной петли. Антиген D детерминирован 36 аминокислотами, расположенными в разных участках полипептида.

Rh-протеины связаны в мембране с гликофорином В, антигенами LW, гликопротеином Duffy, CD47, Rh-ассоциированным гликопротеином.

Rh-антигены устойчивы к воздействию протеолитических ферментов, однако разрушаются под воздействием N-этилмалеинимида, хлормеркурибензоната и 2-нитробензойной кислоты. Серологическая активность D-антигена утрачивается под действием цистеиновых реагентов. Обработка эритроцитов фосфолипазой, расщепляющей жирные кислоты, ингибирует активность антигенов с, D и е.

Антиген Rh₀(D)

Антиген Rh₀(D) является основным в системе Rh-Hr, поскольку обладает исключительно высокими иммуногенными свойствами. В повседневной практике под термином Rh-принадлежность подразумевают наличие или отсутствие в эритроцитах человека антигена D.

Аллоиммунизация антигеном Rh₀(D) приводит к наиболее тяжелым формам посттрансфузионных осложнений и ГБН нередко с летальным исходом. Анти-Rh₀(D)-антитела могут образоваться даже после однократного подкожного или внутримышечного введения малых

доз Rh-положительной крови. Описаны случаи аллоиммунизации у наркоманов после инъекций с использованием шприцев, загрязненных кровью других лиц, и членов религиозных сект, практикующих ритуал кровного братства.

Для профилактики аллоиммунизации у Rh-отрицательных родильниц применяют внутримышечное введение иммуноглобулина анти-Rh₀(D), полученного из плазмы крови лиц, содержащих анти-Rh₀(D)-антитела. Однократное введение этого препарата в дозе 150 мкг в течение первых 48 часов после родов позволяет предотвратить развитие сенсбилизации к D-антигену почти у 100 % женщин. Использование иммуноглобулина рекомендуется также после искусственного прерывания беременности, если мать является D-отрицательной, а плод D-положительным.

При развившейся аллоиммунизации иммуноглобулин анти-Rh₀(D) неэффективен и, более того, противопоказан. Его введение в этом случае приводит к усиленному синтезу антител с повышением их титра на несколько ступеней разведения. Механизм протективного действия иммуноглобулина окончательно не установлен.

Парциальные D-антигены

Антиген D представлен на эритроцитах многими эпитопами, которые могут выступать в качестве самостоятельных иммуногенов. Обычно эпитопы присутствуют на эритроцитах людей D⁺ в полном составе, и лишь относительно редко встречающиеся люди, имеющие неполный комплект эпитопов, способны вырабатывать антитела к отсутствующим у них компонентам. Фенотип таких людей получил название частичного, или парциального, D. Неполный набор эпитопов D связан с мутациями генов *RH*, а также гибридными генами *D-CE*, когда часть экзонов гена *D* заменена эквивалентным участком из локуса *CE*.

Антитела анти-D, присутствующие у лиц с парциальным D-антигеном, имеют более узкий диапазон реагирования, чем анти-D-антитела у D-отрицательных лиц, поскольку в них нет фракций к не-

которым эпитопам D. Таким образом, антитела, продуцируемые людьми с парциальным D, также являются парциальными.

Описано около 30 серологически различимых эпитопов антигена D, которые идентифицируются с помощью поли- и моноклональных сывороток анти-D с узкой, эпитоп-специфической направленностью.

Парциальные D-антигены ранее были разделены на категории D^{II} – D^{VII} . Некоторые из них в дальнейшем были подразделены на субкатегории: D^{IIIa} , D^{IIIb} , D^{IIIc} , D^{IVa} , D^{IVb} и т. д. Вместе с тем многие, особенно недавно описанные категории, уже не получили нумерации в этой номенклатуре и были обозначены символами DBS, DFR, DBT, R_o^{Har} и др.

Отсутствие на эритроцитах отдельных эпитопов D нередко сопровождается присутствием других антигенов, не встречающихся среди лиц обычного D-фенотипа. Лица, имеющие парциальный антиген категории D^{IV} , содержат антиген Go^a . У людей с парциальным антигеном категории $D^{\text{IVb}}Go(a-)$, имеется антиген Evans (Rh37). Лица фенотипа $D^{\text{VI}+}$ имеют антиген BARC (Rh52), а люди D^{VII} являются носителями антигена Tar (Rh40). Антиген Riv (Rh45) обнаруживается только у лиц с фенотипом $D^{\text{IV}}(C)-$.

Присутствие редких антигенов Go^a , Evans, BARC, Tar, Riv и др. часто служит признаком того, что исследуемые эритроциты несут парциальный D-антиген.

Парциальные D-антигены так же иммуногенны для Rh-отрицательных реципиентов, как эритроциты, имеющие полный набор эпитопов D. Для реципиентов D^+ , содержащих парциальный D-антиген, эритроциты обычного D-типа также иммуногенны. Описаны случаи тяжелых посттрансфузионных осложнений у лиц D^+ , содержащих парциальные анти-D-антитела.

Частота парциальных D-антигенов у европеоидов составляет около 0,6 %. Описаны также парциальные антигены с, E, e.

Слабые формы антигена D (фенотип D^u)

Слабо выраженные D-фенотипы, к которым относятся эритроциты группы D^u , характеризуются тремя отличительными признаками.

Они не реагируют в реакции солевой агглютинации с анти-D-антителами класса IgM, но дают положительные реакции с анти-D-антителами класса IgG в тестах с использованием коллоидов, поликаатионов и/или в непрямой антиглобулиновой пробе. В методах с использованием ферментов они реагируют слабее. В отдельных случаях, при очень слабой выраженности антигена D, реакция наблюдается только в непрямой антиглобулиновой пробе. Третьим элементом, отличающим фенотип D^u от D, является почти неизменное присутствие на таких эритроцитах антигена C.

Возможны 3 варианта слабого фенотипа D. Первый обусловлен позицией *транс* генов C и D (см. эффекты *транс* и *цис*). Второй вариант слабого D, серологически неотличимого о формы D^u, обусловлен отсутствием на полипептиде Rh некоторых эпитопов D. Третий вариант формирования слабого D связан с функцией редкого, с частотой менее 0,1 %, аллеля *RHD*, который кодирует продукцию всех эпитопов D, но в меньшем количестве, чем обычно должно быть представлено на D-положительных эритроцитах.

Эритроциты со слабым D после трансфузии реципиенту D- могут вызвать у него продукцию анти-D-антител, а реципиенты со слабым D-антигеном после переливания им резус-положительной крови с нормально выраженным антигеном D могут вырабатывать Rh-антитела.

Людей со слабым D-антигеном принято относить к D-, если они являются реципиентами. Если люди со слабо выраженным D-антигеном (D^u) являются донорами, их причисляют к Rh-положительным и их эритроциты переливают только Rh-положительным больным.

Антигены rh'(C), hr'(c), rh''(E), hr''(e) и ассоциированные с ними факторы системы Rh

Антигены C и c, E и e находятся между собой в антитетических взаимоотношениях. Так, эритроциты, не содержащие антигена rh'(C), неизменно оказываются hr'(c)-положительными, а эритроциты, на которых нет антигена rh''(E), всегда несут антиген hr''(e).

Частота антигенов С, с, Е и е составляет 70 %, 80 %, 30 % и 98 % соответственно. Они существенно уступают по своей иммуногенности антигену Rh₀(D), однако также способны вызывать аллоиммунизацию после гемотрансфузии и беременности. В практике переливания компонентов крови расхождение между Rh-положительными донором и реципиентом по этим антигенам не учитывается. Это может приводить к иммунизации любым из этих антигенов реципиентов, у которых они отсутствуют. Описаны многочисленные случаи ГБН и тяжелых гемолитических посттрансфузионных реакций, обусловленных антителами к указанным факторам, особенно фактору hr'(с). При переливании компонентов крови необходимо, чтобы донор и реципиент были совместимы по этому антигену. Идентичность (совместимость) донора и реципиента требуется и по другим разновидностям резус-антигена.

Большинство антител против антигенов С, с, Е и е, так же как и анти-Rh₀(D), относятся к классу IgG, однако некоторые сыворотки содержат помимо антител класса IgG антитела IgM. Существуют антитела т.н. «естественного» происхождения [чаще анти-rh''(Е)], обнаруживаемые в сыворотках крови здоровых лиц, не имевших беременностей и гемотрансфузий. Поскольку такие антитела не были описаны как причина посттрансфузионных осложнений, их значение в гемотрансфузиологии не установлено.

Наряду с антигеном rh'(С) в системе Rh идентифицировано несколько С-подобных антигенов (C^w, C^G, Rh39), а также с-подобные (с^v, с-like) и Ее-подобные (V, VS). Точную специфичность антител против них устанавливают посредством адсорбции – элюции с использованием панели стандартных эритроцитов разных фенотипов. Наиболее иммуногенным из группы С-антигенов является фактор C^w. Он встречается с частотой около 6 %, а антитела к нему – с частотой до 2 %. Существуют антитела анти-C^w естественного происхождения, однако чаще причиной их возникновения являются гемотрансфузии. Переливание эритроцитов C^w+ реципиентам C^w- не рекомендуется.

Антиген hr''(е) представлен сложной мозаикой компонентов hr^S, hr^B, hr^H и др., в том числе парциальных е-антигенов. Отдельные разновидности е-антигена встречаются только у негров. Лица с парци-

альными е-антигенами могут выработать антитела к недостающим эпитопам. Среди лиц черной расы часто, в 30–40 %, встречаются антигены V(Rh10) и VS(Rh20), практически отсутствующие среди представителей других рас. Их присутствие также ассоциировано с парциальными антигенами е. Появление этих качественно новых антигенов связывают с мутациями, делециями, транслокациями и гибридизацией отдельных участков генов *RH*.

Антигены $f(ce)$, $rh_i(Ce)$, Rh27(cE), Rh22(CE), $V(ce^S)$ и $VS(Ce^S)$

Гены *RH*, расположенные в позиции *цис*, могут экспрессировать, помимо свойственных им антигенов, третий, комплексный, антиген. Сочетание генов *c* и *e*, помимо антигенов *c* и *e*, суммарно приводит к появлению качественно нового антигена $f(ce)$; одновременное присутствие на одной и той же хромосоме аллелей *C* и *e*, помимо антигенов *C* и *e*, кодирует новый антиген системы $rh_i(Ce)$. Сочетание генов *c* и *E* в позиции *цис* образует еще один новый антиген системы – Rh27(cE). То же самое относится к антигену Rh22(CE), когда гены *C* и *E* находятся в позиции *цис* на одной хромосоме.

Генотип *CDe/cDE* кодирует не 5 (*C*, *c*, *D*, *E* и *e*), а 7 (*C*, *c*, *D*, *E*, *e*, *Ce* и *cE*) антигенов, генотип *cde/cde* – не 2 (*c* и *e*), а 3 (*c*, *e* и *ce*) антигена и т. д.

Аналогичным образом, по-видимому, формируются антигены $V(ce^S)$ и $VS(Ce^S)$, свойственные лицам черной расы.

Точно так же, как рассматриваемые антигены не являются простой смесью 2 других антигенов, антитела, которые определяют их, не являются простой смесью 2 антител разной специфичности. Анти- $f(ce)$ -антитела реагируют с эритроцитами лиц *cDe/CDe*, *cde/cde* и другими вариантами генотипов, при которых *c* и *e* находятся в положении *цис*, но не реагируют с клетками лиц *Cde/cDE*, *CDe/cDE* и другими, когда гены *c* и *e* тоже присутствуют, но в положении *транс*. Иными словами, сыворотки анти- $f(ce)$ не реагируют с эритроцитами, содержащими антигены *c* и *e* по отдельности, а только когда эти антигены составляют качественно новый комплекс.

Моноспецифические антитела анти-с и анти-е не реагируют с антигеном f(се). Однако это сложно показать в серологических реакциях, так как антиген f присутствует на эритроцитах, содержащих антигены с и е, за исключением редкого фенотипа D+c+e-f+.

Антитела анти-f(се) обнаруживали после множественных переливаний крови у лиц с генотипом *CDe/cDE*, которые не могут вырабатывать аллоиммунные антитела анти-с и анти-е. Это еще раз указывает на качественные различия в отношении специфичности антигенов, открываемых антителами анти-f, анти-с и анти-е. Подобным образом ведут себя антитела против антигенов Ce, сЕ, и СЕ.

Клиническое значение антител против *цис*-антигенов точно такое же, как и других антител системы Rh, с той лишь разницей, что они чаще маскируются антителами другой Rh-специфичности, выступающими не на первый план. Точную специфичность антител к антигенам се, Ce, сЕ труднее идентифицировать, поэтому они, вероятно, чаще всего определяются как анти-с, -С и анти-Е соответственно.

Редко и часто встречающиеся антигены Rh

В целом, к редко встречающимся относят антигены, частота которых в популяции составляет менее одного процента. Таких факторов в системе Rh насчитывается 24: C^x, V, E^w, VS, CE, D^w, hr^H, Go^a, R^N, R₀^{Har}, Be^a, Evans, Tar, Ce^s, Craw, Riv, JAL, STEM, FPTT, BARC, JANK, HOFM, LOCR и CENR.

Семнадцать из них являются маркерами парциальных D-антигенов, вариантами или сателлитами антигенов C, E и *цис*-антигенов. Отдельные кодируются гибридными генами: *D-CE-D* (D^w), *D-CE-D-CE-D* (Go^a), *CE-D-CE* (R^N), *D-CE* (Evans) и *D-CE-D* (Ce^s). Антигены V, VS и DAK в большей мере присущи негроидам.

К часто встречающимся относят антигены Rh, частота которых составляет более 99 %. Таких факторов насчитывается 9: Hr₀, Hr, Rh-total, Hr^B, C-like, Nou, Sec, Dav и MAR. Эти антигены присутствуют в эритроцитах всех людей независимо от их Rh-принадлежности, в том числе лиц с редкими фенотипами, обусловленными делецией генов

RH: –D–, сD– и др. Исключение составляют лица Rh_{null}, которые не содержат указанных антигенов.

Антитела против частых антигенов Rh находят у лиц, их не имеющих и относящихся к фенотипам Rh: –D–, Dс–, DC^w–, D^{IV}(C)– и Rh_{null}.

Антитела против редких антигенов описаны в единичных случаях. Они имели как правило естественное происхождение и обнаруживались у лиц, не имевших гемотрансфузий и/или беременностей. Вместе с тем в некоторых случаях такие антитела вызывали тяжелые формы гемолитического заболевания у новорожденных.

Фенотипы делеций

Встречаются люди, эритроциты которых не содержат одного, нескольких или всех антигенов Rh или содержат их в редуцированном количестве. Ранее отсутствие антигенов объясняли выпадением (делецией) соответствующего генетического материала и относили к группе аномалий, получивших название *фенотипы делеций*. Молекулярные исследования последних лет показали, что генетический материал у таких людей нередко присутствует, но не активен.

Отсутствие или слабая выраженность антигенов Rh связана с особенностями функционирования гибридных генов, в которых часть экзонов гена *D* заменена экзонами гена *CE* и наоборот.

Известны следующие фенотипы делеций: –D–, D^{**}, DC^w–, Dс– или Dс(e), D^{IV}(C)– и Rh_{null}. Скобками выделяют слабовыраженные антигены: (e), (C) и т. д. Знак минус означает отсутствие в эритроцитах антигенов C, с, E, e, но не других Rh-антигенов как часто, так и редко встречающихся, которые могут присутствовать в этих эритроцитах.

Выпадение антигенов обнаруживается, как правило, при выяснении причины ПТО или ГБН. Лица с фенотипом делеций легко вырабатывают антитела к недостающим у них Rh-антигенам, что и служит причиной осложнений.

Антитела у лиц с Rh-делециями отличаются от антител, обнаруживаемых у Rh-отрицательных людей, своей необычностью. Именно в сыворотках этих людей найдены антитела анти-Hr₀, анти-Hr, анти-

Hr^B, анти-Nou, анти-Dav и другие, позволившие открыть одноименные антигены. Обычные люди (без Rh-делеций), как правило, содержат все перечисленные часто встречающиеся антигены и не могут вырабатывать к ним антитела.

Многие образцы эритроцитов, относящиеся к фенотипам делеций, за исключением Rh_{null}, содержат антигены D, G, RH-total и Rh39.

Фенотипы Rh_{null} и Rh_{mod}

Среди фенотипов делеций, при которых наблюдается выпадение 2 и более антигенов, фенотип Rh_{null} занимает особое место. Он отличается отсутствием всех антигенов системы Rh-Hr, а также антигенов системы LW и некоторых факторов других групповых систем.

Описано более 30 лиц Rh_{null}, выявленных среди представителей различных рас.

Различают 2 типа формирования фенотипа Rh_{null}: регуляторный (супрессорный) и аморфный (отсутствие генетического материала).

Регуляторный тип формируется в результате взаимодействия генов *RH*, производящих соответствующие полипептиды, и генов $X^I r$, $X^O r$, которые управляют функцией локуса *RH*. Ген $X^I r$ (доминантный) запускает нормальную продукцию Rh-полипептидов, в то время как его редкий аллель $X^O r$ (рецессивный) блокирует их синтез.

Ген $X^I r$ широко распространен, поэтому большинство людей являются гомозиготами – $X^I r/X^I r$. При таком генотипе унаследованные от родителей гены *RH* функционируют нормально. При гетерозиготном варианте, $X^I r/X^O r$, экспрессия антигенов Rh нарушается.

Аморфный тип Rh_{null} обусловлен отсутствием генетического материала, кодирующего продукцию Rh-полипептидов вследствие полной делеции.

Примерно 30 % носителей фенотипа Rh_{null} содержат антиэритроцитарные антитела, что свидетельствует о весьма высокой частоте аллоиммунизации лиц, лишенных антигенов Rh. Антитела имеют аллоиммунный характер (беременности, трансфузии) за исключением редких случаев спонтанного происхождения.

Искусственная иммунизация добровольцев эритроцитами Rh_{null} не привела к получению специфических антител к веществу Rh_{null} .

В отличие от фенотипа Rh_{null} , при котором все антигены Rh отсутствуют, фенотип Rh_{mod} (модифицированный) содержит небольшое, иногда следовое количество Rh-антигенов.

Клинические проявления в виде умеренной компенсированной гемолитической анемии с характерными лабораторными показателями у лиц групп Rh_{null} и Rh_{mod} получили название синдрома дефицита Rh-антигенов или синдрома Rh_{null} .

При синдроме Rh_{null} эритроциты имеют чашкообразную форму, наблюдается ретикулоцитоз, сниженный уровень гемоглобина, низкий гематокрит, увеличение концентрации сывороточного билирубина. Продолжительность жизни эритроцитов Rh_{null} *in vivo* сокращена. Степень анемии варьирует от низкой до средней. Тип наследования, регуляторный или аморфный, не сказывается на особенностях клинических проявлений.

Чаще всего дефицит Rh-антигенов ничем себя не проявляет, и его носители чувствуют себя здоровыми людьми. Клинически выраженные формы гемолитической анемии, обусловленные дефицитом Rh-антигенов, полностью излечивались посредством спленэктомии.

Онтогенез и филогенез антигенов Rh

Rh-антигены формируются у человека с 6–9 недель внутриутробного развития – как только в тканях эмбриона появляются эритроидные клетки. Экспрессия вещества Rh увеличивается по мере дифференцировки эритроидных предшественников в зрелые эритроциты. В начале нормобластной фазы эритропоэза появляются Rh-гликопротеины, затем Rh-полипептиды, не несущие еще Rh-специфичности. К концу нормобластной фазы, на полипептидах обнаруживаются антигены D и C.

В других органах и тканях, а также жидкостях организма Rh-антигены отсутствуют. Антигены Rh обнаружены в клетках раковых опухолей и в метастазах у Rh-положительных больных. У Rh-

отрицательных больных опухолевые клетки не содержат антигенов Rh.

Rh-антигены находят в эритроцитах некоторых видов человекообразных обезьян, в основном горилл и шимпанзе, которые содержат одинаковые с человеком эпитопы: ерD1, ерD2, ерD3 и ерD4.

Обработка эритроцитов шимпанзе папаином усиливает реакцию с IgG анти-D-антителами, а обработка этим ферментом эритроцитов горилл угнетает реакцию вследствие разрушения D-подобных эпитопов, которые содержат клетки этих обезьян.

Отдельные эпитопы D человека присутствуют в эритроцитах макака, бабуинов, зеленых мартышек

Число антигенных сайтов D на эритроцитах человека и шимпанзе приблизительно одинаково. У горилл оно отличается большой вариабельностью – от 48 тыс. до 230 тысяч на один эритроцит. Авидность анти-D-антител по отношению к эритроцитам шимпанзе и горилл несколько ниже, чем по отношению к эритроцитам человека.

Хромосомное картирование RH-подобного локуса шимпанзе показало, что этот локус располагается на хромосоме 1 в области 1р36.1-р34.2, то есть практически в той же области генома, что и у человека.

Распределение антигенов Rh при опухолях и анемиях

Коррелятивные связи Rh-принадлежности и предрасположенности к опухолевым заболеваниям квалифицируются как слабые ассоциативные. У больных опухолями желудка, толстого кишечника, легких и бронхов чаще встречаются фенотипы CcDee (31,85 %), ccDee (2,92 %) и Ccddee (1,39 %), гаплотипы *cDe* (4,16 %) и *Cde* (2,68 %). По сравнению со здоровыми людьми больные опухолями реже имеют фенотип ccDEE (2,99 % при норме 4,35 %).

Среди больных опухолями толстого кишечника, кожи, щитовидной железы, гемобластозами чаще (до 25 %) встречаются Rh-отрицательные лица.

При лейкозе, полицитемии, гемолитической анемии иногда обнаруживаются две популяции эритроцитов, несущих разные антигены

Rh, например: CDe и cde. Один клон эритроцитпродуцирующих клеток производит эритроциты, на которых экспрессированы продукты одного гаплотипа *RH* пациента, а другой клон производит эритроциты, на которых экспрессированы продукты другого гаплотипа *RH*. В некоторых случаях, особенно при лейкозе, выявляется подавление экспрессии антигена D.

Двойные популяции эритроцитов, D+ и D-, а также снижение экспрессии антигена D, может создавать видимость повышенной частоты резус-отрицательных лиц в группе больных с данным заболеванием. Так, частота Rh-отрицательных лиц при врожденной гемолитической анемии составляет более 36 %, при гипо- и апластической анемии и болезни Маркиафава-Микели – соответственно 24,77 % и 59 %. Среди лиц, страдающих болезнью Верльгофа, частота распределения антигена D такая же, как среди здоровых.

Системы Kell и Kx

Система Келл представлена 34 антигенами, среди которых K и k; Kp^a, Kp^c и Kp^b; Js^a и Js^b; Wk^a и Cote; Cls и Santini являются антигенными. В систему Kell входят также редкие антигены: Ul^a (K10), K23, VLAN (K25), VONG (K28), KYO (K31) и частые антигены: K12, K13, K18, K19, K22, KALT (K29), KTIM (K30), KUCI (K32), KANT (33) и KASH (34), обозначаемые как пара-Kell.

Антитела к антигену VONG вызвали ГБН. Антитела против 3 часто встречающихся антигенов – KUCI, KANT и KASH – обнаружены у женщин, имевших фенотип K_{mod}.

Антигены Kell обнаруживаются у эмбрионов, начиная с 6–7 недель развития. Они содержатся на эритроцитах, в других тканях и жидкостях отсутствуют.

Гликопротеины, несущие антигены Kell, состоят из 732 аминокислот с общей молекулярной массой 93 кДа. Количество антигенных участков на один эритроцит составляет 3 300–6 000. Антигены Kell разрушаются 2-аминоэтилизотиоуранин бромидом, дитиотрейтолом. Обработка эритроцитов одновременно трипсином и α-химотрипсином также разрушает большинство Kell- и пара-Kell-антигенов. Другие

протеолитические ферменты (фицин, папаин, бромелин) усиливают выраженность антигена К на эритроцитах. Последние после обработки этими ферментами агглютинируются неполными анти-К-антителами в солевой среде.

Гликопротеины Kell близки к цинксодержащим металлопротеинам, влияющим на активность эндопептидаз. Они имеют также некоторое сходство с так называемым общим антигеном острого лимфобластного лейкоза.

Наибольшее клиническое значение имеет антиген К (частота около 9 %). Этот фактор обладает выраженной иммуногенностью, в связи с чем его определение у доноров регламентировано как обязательное приказами МЗ РФ от 09.01.1998 г. № 2, от 25.11.2002 г. № 363 и от 02.04.2013 г. № 183н. Этот фактор обуславливает около 6 % случаев посттрансфузионных осложнений и ГБН. Даже однократная трансфузия эритроцитов К⁺ реципиентам К⁻ может привести к образованию анти-К-антител. К-положительные эритроциты не рекомендуется использовать для трансфузий, если К-принадлежность реципиента не установлена. Антитетичный антиген k (Cellano) такого большого значения в трансфузиологии и акушерстве не имеет, он менее иммуногенен и встречается с частотой более 99 %. Тем не менее для полноты исследования и соблюдения норм качественного гемотрансфузионного пособия его следует учитывать при переливании эритроцитов как антиген, антитетичный антигену К. Другие антигены системы Kell также имеют меньшее клиническое значение, чем фактор К, однако антитела против них могут явиться причиной ГБН и посттрансфузионных реакций.

Серологические различия антигенов К и k обусловлены аминокислотной заменой метионина (К) на треонин (k) в позиции 193 гликопротеина Kell.

Антитела анти-Kell имеют аллоиммунное происхождение – появляются в результате беременности или трансфузий эритроцитов. Естественные анти-Kell-антитела встречаются редко. Предполагают, что естественные анти-Kell-антитела также являются иммунными и вырабатываются в результате контакта с парциальными антигенами Kell бактерий.

Описано несколько редких фенотипов, отнесенных к группе Kell-дефицитных: McLeod, K_o, Allen, Leach и K_{mod}. Отсутствие антигенов Kell (синдром-McLeod) сопровождается акантоцитозом, анизоцитозом, укороченной выживаемостью эритроцитов *in vivo*, повышенной концентрацией креатининфосфокиназы. У таких больных отмечена предрасположенность к гемолитическим кризам, часты гранулемы, возвратные пиогенные инфекции бактериального и грибкового генеза, нередко заканчивающиеся летальным исходом. Фенотип McLeod формируется в результате делеции части X-хромосомы или мутаций в XK локусе. Все носители фенотипа McLeod – мужчины, что указывает на сцепленность заболевания с X-хромосомой.

Распределение антигенов Kell среди различных популяций неодинаково. У европеоидов частота антигена K составляет 3–12 %. У африканских негров, аборигенов Австралии и монголоидов (индейцев Северной Америки и Венесуэлы, эскимосов, народностей Сибири и Дальнего Востока) антиген K встречается редко, а у китайцев, японцев практически отсутствует. У монголов частота антигена K составляет 0,4 % (для сравнения, у жителей Москвы – 7,9 %). Частота встречаемости антигена Саттер (Js^a) у представителей белой расы меньше 0,01 %, антигена Js^b – более 99,9 %, у негров – 20 % и 100 % соответственно.

В России по мере продвижения с Запада на Восток, из Европы в Азию, по оси Москва-Токио частота фактора K постепенно убывает: русские (Смоленск) – 8,85 %; русские (Нижегородская область) – 8,7 %; русские (Москва) – 8,1 %, русские (Сургут) – 6,21 %; русские (Первоуральск) – 6,0 %; коми – 6,04 %, манси – 1,06 %, ханты лесные – 0,32 %, буряты – 0,22 %, монголы – 0,4 %, китайцы, корейцы и японцы – 0 %.

Зарегистрировано изменение частоты антигена K при онкологических заболеваниях. У больных опухолями костей, хрящей и суставов частота фактора K наиболее высока – 22,6 %, у больных раком толстого кишечника самая низкая – 1,5 %.

Парциальные K-антигены и парциальные анти-K-антитела

Описано несколько лиц, имеющих парциальные антигены К. Особенностью этих лиц являлось то, что будучи К+, они, так же как лица К-, вырабатывают анти-К-антитела, реагирующие со всеми образцами эритроцитов К+, за исключением собственных.

Известно также, что большинство сывороток анти-К содержат парциальные анти-К-антитела, не реагирующие с некоторыми эпитопами антигена К.

Skradski и соавт. (1994) обследовали мужчину, эритроциты которого К+k+ реагировали только с 8 из 72 использованных анти-К-реагентов. Три сестры обследуемого также имели парциальный антиген К, их эритроциты реагировали не со всеми анти-К-реагентами.

Из 8 образцов анти-К-антител, реагировавших с эритроцитами обследуемого, 3 были поликлональные IgG, 4 – моноклональные IgM.

При исследовании эритроцитов более 50 000 человек одной из 8 реагирующих сывороток не было обнаружено ни одного образца, который подобно эритроцитам пробанда и трех его сестер реагировал с упомянутой сывороткой, но при этом не реагировал с другими сыворотками анти-К.

McDowell и соавт. (1978) описали женщину с фенотипом К+k+, у которой имелись антитела, охарактеризованные авторами как К-подобные. Антитела не агглютинировали ни собственные эритроциты, ни эритроциты К+k+ ее дочери, но реагировали с эритроцитами К+k+ ее сына и мужа. Элюат, снятый с эритроцитов сына после адсорбции ими сыворотки матери, содержал анти-К-антитела, которые по-прежнему не реагировали с эритроцитами самой женщины и эритроцитами дочери. Выраженность антигена К на эритроцитах матери и дочери была существенно слабее, чем сына и мужа.

Парциальные антигены К, не выявляющиеся обычными сыворотками анти-К, крайне редки. Напротив, парциальные анти-К-антитела встречаются достаточно часто. Примерно 88 % сывороток анти-К не содержат фракции антител, направленных к определенным эпитомам К-антигена. В то же время практически все поли- и моноклональные анти-К-реагенты содержат антитела к иммуногенному, трансфузионно опасному эпитопу К, который содержится, за редчайшим исключени-

ем, во всех эритроцитах K^+ и выявляется даже при слабой экспрессии.

Носителей парциальных K -антигенов следует рассматривать как K -отрицательных реципиентов, но как K -положительных доноров.

Ослабленные варианты K

Некоторые варианты антигена K не являются парциальными, а рассматриваются как переходные формы от K -фенотипов с уменьшенным количеством антигена Kell к нормальным Kell-фенотипам.

Hawley и соавт. (1975) выявили донора, эритроциты которого не агглютинировались сыворотками анти- K , но адсорбировали K -антитела, содержащиеся в этих сыворотках. Исследование элюатов подтвердило, что адсорбированные антитела имели специфичность анти- K .

Kline и соавт. (1984) описали ослабленную экспрессию антигена K , ассоциированную с нормальной экспрессией других антигенов Kell, у представителей 4 поколений одной семьи. Авторы выявили женщину, на эритроцитах которой антиген K был выражен очень слабо. Другие антигены (k , Kp^b , Js^b и Kx) имели нормальную выраженность. У матери упомянутой женщины, дочери и внука также обнаруживали слабый K . Их эритроциты адсорбировали анти- K -антитела из всех использованных анти- K -сывороток. Адсорбированные антитела обнаруживались в элюатах.

Uchikawa и соавт. (2000) обследовали 4 человек с фенотипом K_{mod} , у которых антиген K выявлялся только с помощью метода адсорбции – элюции. Другие часто встречающиеся антигены Kell были слабо выражены, k -антиген отсутствовал. Все 4 были гомозиготны по мутации Thr 193 Arg.

Слабая экспрессия антигена K характерна для лиц с фенотипом McLeod, а также для лиц, не имеющих антигена Gerbich, $Ge:-2,-3$. Экспрессия антигенов k и Kp^a у лиц $Ge:-2,-3$ также снижена.

Слабая экспрессия антигена k обусловлена мутацией С 1388 Т в экзоне 11 гена *KEL*, которая кодирует замену Ala 423 Val.

Описано транзиторное ослабление антигена К и других Kell-антигенов у некоторых больных (чаще инфекционных), у которых в период ослабления Kell-антигенов появлялись свободно циркулирующие и фиксированные на эритроцитах аутоиммунные анти-К-антитела, выявляемые соответственно с помощью непрямой и прямой антиглобулиновой пробы.

Трансформация К⁻ в К⁺, К⁺ в К⁻

McGinniss и соавт. (1984) описали пациента, эритроциты которого К⁻к⁺ вследствие сепсиса приобрели К-подобный антиген и идентифицировались как К⁺к⁺. Перелитые ему эритроциты К⁻ также становились К⁺. Сепсис был вызван грамположительными бактериями *Streptococcus faecium*. Авторы обнаружили, что эритроциты К⁻, инкубированные *in vitro* с лизатом *Streptococcus faecium*, преобразовывались в К⁺.

При аутоиммунной гемолитической анемии, вызванной анти-К-аутоантителами, последние блокируют К-антигенные участки на эритроцитах, делая их недоступными для тестовых реактивов. Одновременно с продукцией аутоантител снижается экспрессия антигена К на поверхности клеток. Оба фактора в совокупности приводят к тому, что пациента К⁺ типизируют как К⁻. В период ремиссии, когда аутоантитела исчезают и экспрессия антигена К восстанавливается, пациента вновь типизируют как К⁺.

Система Кх

Система Кх пока представлена всего лишь одним антигеном – Кх, который встречается практически у всех людей. Фенотипически система Кх связана с Kell, однако генетически независима от нее. Генный локус *Kell* расположен на хромосоме 7, локус *Кх* находится на X-хромосоме. На мембране эритроцитов присутствует комплексный полипептид Kell/Кх. Антигены Kell без вещества Кх не формируются. Фенотип, при котором эритроциты не содержат Кх-антигена,

получил название McLeod – по имени мальчика, больного наследственным гранулематозом.

Кх-протеин выражен на эритроцитах лиц с фенотипом K_0 сильнее, чем на эритроцитах с обычным Kell-фенотипом. Однако указанная особенность обусловлена не столько количеством Кх-протеина на этих клетках, сколько тем, что в эритроцитах обычного Kell-фенотипа Кх-протеин связан с белком Kell, что мешает ему с той же силой участвовать в реакции агглютинации с сывороткой анти-Кх.

В противоположность антигенам Kell антиген Кх не денатурируется дитиотрейтолом (ДТТ) и 2-аминоэтилизоотиоурониумбромидом (АЕТ), которые разрушают дисульфидные связи. Эритроциты, обработанные ДТТ и АЕТ, приобретают серологические свойства эритроцитов K_0 с высокой степенью экспрессии Кх-антигена

Специфические анти-Кх-антитела выделяют из сывороток лиц K_{null} , содержащих смешанные анти-Kell-антитела, путем дифференциальной адсорбции.

Система MNS

Система MNS (до 1982 г. MN или MNSs) была открыта второй по счету, в 1927 г., почти 3 десятилетия спустя после открытия системы ABO. Примечательно, что в открытии этой системы участвовал первооткрыватель групп крови человека Карл Ландштейнер. Он и его ученик Филипп Левин, иммунизируя кроликов, впервые получили геммагглютинирующие сыворотки, открывавшие 2 новых, ранее неизвестных антигена эритроцитов крови человека. Вновь открытые факторы авторы обозначили буквами M и N.

В системе MNS выделяют 4 основных антигена: M (частота 75–78 %), N (частота 72–75 %), S (частота 30–57 %) и s (частота 88–93 %). Они находятся между собой в реципрокных взаимоотношениях, образуя пары. Эритроциты, не содержащие антигена M, всегда несут антиген N. В то же время практически все N-негативные клетки содержат антиген M (фенотипы MM, MN и NN). Другую пару образуют антигены S и s, также реципрокные по отношению друг другу (фенотипы SS, Ss и ss). Все S- и s-положительные лица содержат антиген U.

Он отсутствует у 0,5–1,0 % лиц черной расы, при этом у них одновременно не выявляются антигены S и s.

К настоящему времени в систему MNS включено 46 антигенов. Помимо факторов M, N, S, s и U выделены антигены высокой частоты: Eп^a, ENEN, ENAP, ENDA и ENEV, а также многочисленные редко встречающиеся факторы: He, M^g, M^c, Vw, Vr, Mur, M^e, Mt^a, St^a, Ri^a, Cl^a, Ny^a, Hut, Hil, M^v, Far, Hop, Nob, Dantu, Os^a, DANE, SAT, TSEN, ERIK, MARS, HAG и MNTD. Последние имеют частоту менее 0,01 % и распространены, главным образом, среди монголоидов. Редкие антигены фенотипически связаны с антигенами M, N, S, s и образуют подсистему Мильтенбергер, насчитывающую 11 классов антигенов (MiI-XI).

Антигены MN располагаются на гликофоре A (CD235A), антигены Ss – на гликофоре B (CD235B). Они представлены исключительно на эритроцитах гликозилированными полипептидными цепями с высоким содержанием сиаловых кислот. На одном эритроците имеется 0,5 млн–1 млн молекул гликофорина A и 0,2 млн–0,3 млн молекул гликофорина B. Полагают, что главной физиологической функцией этих структур является обеспечение отрицательного заряда мембраны эритроцитов, что предотвращает их агрегацию. Гены *GYP A*, *GYP B* и *GYP E*, контролирующие синтез гликофоринов, картированы на четвертой хромосоме в позиции 4q28–34. Посемейными исследованиями показана передача по наследству гаплотипов *Ms*, *MS*, *Ns* и *NS*.

Появление различных редких антигенов системы MN обусловлено точковыми мутациями, а также различными вариантами гибридизации генов *GYP A*, *GYP B* и *GYP E*, приводящими к возникновению новых аминокислотных последовательностей, распознаваемых специфическими антителами в качестве антигенов низкой частоты.

Антитела против большинства антигенов системы MN чаще имеют естественное происхождение и выявляются у лиц, не имевших беременностей и гемотрансфузий. Антитела анти-M иногда обнаруживают в сыворотке крови детей с различными инфекционными заболеваниями, анти-N – у больных, получавших сеансы гемодиализа. Антитела анти-S и анти-s имеют аллоиммунное происхождение.

Большинство образцов антител анти-М, анти-Н и анти-S активны в реакции прямой агглютинации, анти-s и анти-U реагируют преимущественно в непрямом антиглобулиновом методе.

В клинической трансфузиологии антигены М и N не имеют столь большого значения, как АВО. Анти-М- и анти-Н-антитела, как правило, не вызывают серьезных посттрансфузионных осложнений. При разногруппной по антигенам MN беременности аллоиммунизация происходит редко, ГБН протекает в легкой форме или совсем не развивается.

Клиническое значение имеют антитела против антигенов S, s и U, активные в непрямом антиглобулиновом тесте, однако аллоиммунизация этими антигенами происходит редко.

Большинство образцов антител анти-М и анти-Н, используемых в рутинной практике, получено путем иммунизации кроликов. В последние годы получены также моноклональные антитела против некоторых антигенов системы MNS.

В эволюционном аспекте гликофорины, несущие антигены MN, являются более поздними структурами, чем другие белки. Помимо эритроцитов крови человека, гликофорины обнаружены только у приматов. Имеются данные, что антигены MN на гликофоре А являются рецепторами, через которые малярийный плазмодий *P. falciparum* проникает внутрь эритроцитов.

Системы P, GLOB и коллекция 209 GLOB

Система P включает 1 антиген – P₁. Синтез P-ассоциированных антигенов: P, P^k и LKE, ранее относимых к данной системе, контролируется генными локусами, независимыми от локуса P^l. В последние годы был картирован ген, контролирующий синтез антигена P, поэтому он получил статус самостоятельной групповой системы GLOB. В коллекции 209 GLOB оставлены антигены P^k и LKE.

Антитела, выявляющие указанные антигены, чаще относятся к классу IgM и имеют низкий температурный оптимум.

Основные фенотипы: P₁(P+P₁+P^k+) и P₂ (P+P₁-) встречаются среди лиц белой расы с частотой 80 % и 20 % соответственно, среди

негроидов 90 % и 10 %, среди монголоидов 30 % и 70 %. Другие фенотипы: P_1^k ($P-P_1+P^k+$) и P_2^k ($P-P_1-P^k+$) встречаются редко. Фенотип p ($P-P_1-P^k-$) среди европейцев обнаружен у 1 из 172 тыс. обследованных. При обследовании более 1 млн китайцев Гонконга он не найден ни разу, однако присутствовал среди японцев. Из 40149 обследованных шведов 8 имели фенотип p .

Посемейными исследованиями, в том числе в изолятах, показан рецессивный характер наследования гена p . Родители лиц с фенотипом p часто оказывались кровными родственниками.

Клиническое значение имеют антитела анти- P , анти- P_1 и анти- Tj^a (анти- P +анти- P^1 +анти- P^k), которые содержат фракции IgG, вызывающие постротрансфузионные реакции и ГБН.

У всех без исключения лиц с фенотипом p присутствуют антитела, вызывающие агглютинацию и гемолиз всех образцов эритроцитов, за исключением группы p , в связи с чем указанные лица относятся к группе высокого риска постротрансфузионных осложнений.

Аутоантитела анти- P практически всегда присутствуют в сыворотке крови больных пароксизмальной холодовой гемоглобинурией.

Специфические анти- p -антитела не найдены и, возможно, как и анти- d -антитела, не существуют в природе.

Фенотип p был впервые выявлен у женщины с карциномой желудка. В отличие от эритроцитов большой клетки ее опухоли экспрессировали антигены P и P_1 , что позволило сформировать концепцию «запретных антигенов», появляющихся в опухолях вопреки генотипу индивида. По появлению этих антигенов можно судить о глубине трансформации нормальных клеток в процессе малигнизации.

Субстанцию, подобную антигену P_1 человека, содержат дождевые черви (*Lubricus terrestris*), аскариды (*Ascaris suum*), эхинококк (*Echinococcus granulosus*), гонококки (*Neisseria gonorrhoeae*). Лица, имеющие антиген P_1 , в большей степени подвержены инфекциям мочевыводящих путей, что объясняют P_1 -антигенной мимикрией отдельных микроорганизмов.

Антиген P (глобозид) является клеточным рецептором для парвовируса B19, проявляющего высокую тропность к костномозговым клеткам, особенно к эритроидным предшественникам, в которых

он реплицируется и вызывает цитотоксический эффект. Лица, имевшие фенотип p , оказались невосприимчивы к парвовирусной инфекции В19. В то же время у женщин с фенотипом p существенно чаще наблюдали привычные выкидыши, обусловленные анти- P -антителами. Выкидыши происходили в 1 триместре беременности, что совпадало с формированием антигена $P1$ у плодов.

Система Lutheran

Система Лютеран представлена 19 антигенами (LU1 – LU21), среди которых Lu^a и Lu^b , $Lu6$ и $Lu9$, $Lu8$ и $Lu14$ находятся в антигенных отношениях. Антигены Lu^a и $Lu9$ относительно редки: их частота составляет 0,1–8 %. Антигены Lu^b , $Lu6$, $Lu8$ и $Lu14$ имеют высокую частоту и присутствуют на эритроцитах практически всех людей за исключением лиц с фенотипом Lu_{null} . По аналогии с системой Kell, в систему Lutheran включено несколько часто встречающихся пара-Лютеран-антигенов, которые отсутствуют лишь на эритроцитах Lu_{null} . К системе отнесены также антигены Auberger, Au^a и Au^b , встречающиеся с частотой соответственно 80–90 % и 51 % и считавшиеся ранее самостоятельной системой, а затем коллекцией Auberger. Последний антиген системы, LU21, описан в 2004 г. Его специфичность обусловлена заменой аспарагиновой кислоты на глютаминовую в положении 94 первого домена Lu -гликопротеина.

Антигены Lutheran располагаются на белках мембраны эритроцитов, обеспечивающих клеточную адгезию и участвующих в межклеточных взаимодействиях.

Количество антигенных участков Lu^b на эритроцитах невелико: при фенотипе $Lu(a-b+)$ на 1 эритроците размещено 1 640–4 070 антигенных участков; при фенотипе $Lu(a+b+)$ – 850–1 820. У детей антигены LU выражены слабее, чем у взрослых.

Антиген Lu^a обнаруживали у 12-недельных плодов, Lu^b – у 10-недельных. К 15 годам экспрессия антигенов LU достигает уровня взрослых.

Гликопротеины Lutheran представлены в тканях организма человека. Они обнаруживаются в плаценте, печени, стенках артерий

различных органов, включая язык, миндалины, трахею, пищевод, желудок, желчный пузырь, слепую и толстую кишки, кожу. Антиген Lu^b отсутствует на лимфоцитах, гранулоцитах и тромбоцитах.

Клиническое значение системы Lutheran не столь велика, как других систем. Антитела, образующиеся к антигенам Lutheran, относятся к классу IgM и часто имеют естественное происхождение. Описаны единичные случаи легких форм ГБН, вызванной антителами анти- Lu^a и анти- Lu^b . Посттрансфузионных гемолитических реакций указанные антитела не вызывают.

Описаны случаи отсутствия антигенов LU на эритроцитах – фенотип Lu_{null} . Последний чаще встречается у афроамериканцев и китайцев.

Система Lewis

В отличие от антигенов других групповых систем антигены системы Левис синтезируются в плазме и затем фиксируются к мембране эритроцитов в виде гликофинголипидов. В слюне они присутствуют в виде гликопротеинов. Антигены Левис присутствуют также в желудочном соке, сыворотке крови, содержимом кист, молоке, моче, семенной жидкости и других жидкостях, секретируемых и экскретируемых организмом.

Синтез антигенов Левис контролируется генами *Lele* (*FUT3*), *Sese* (*FUT2*), частично *Hh* (*FUT1*), регулирующими синтез фукозилтрансфераз (FUT).

Выделяют 3 основных фенотипа: $\text{Le}(a+b-)$, $\text{Le}(a-b+)$ и $\text{Le}(a-b-)$. Лица группы $\text{Le}(a+b-)$ гомозиготны по рецессивному аллелю *se* (генотип *se/se*) и являются невыделителями групповых субстанций A, B и H, в то время как у людей группы $\text{Le}(a-b+)$ (генотип *Se/Se* или *Se/se*) эти вещества имеются в плазме крови и других секретах, т. е. они являются выделителями групповых субстанций. Лица группы $\text{Le}(a-b-)$ гомозиготны по рецессивному гену *le* и могут быть как выделителями, так и невыделителями.

Встречается фенотип $\text{Le}(a+b+)$, характерный в большей мере для лиц желтой расы и негроидов: полинезийцев, жителей Индонезии,

аборигенов Австралии. Эти лица по своему секреторному статусу занимают промежуточное положение между выделителями и невыделителями.

На эритроцитах лиц Le(a-b-) присутствуют антигены Le^c и Le^d, однако они не являются составной частью системы Левис и контролируются генами, независимыми от локуса *Lele*. В настоящее время эти антигены включены в коллекцию H-ассоциированных антигенов под номером 210.

Помимо эритроцитов и плазмы крови антигенные вещества Левис имеются на тромбоцитах (располагаются в том же типе полисахаридных цепей что и антигены A и B). На гранулоцитах и моноцитах они отсутствуют.

Антитела против антигенов Левис имеют, как правило, естественное происхождение, но их выработка может стимулироваться гемотрансфузиями и беременностями. Они относятся к классу IgM, обладают комплементсвязывающей активностью и проявляют себя не только как агглютинины, но и как гемолизины. Их температурный оптимум соответствует уровню холодových антител (ниже комнатной температуры 20–22 °C). Лишь некоторые образцы анти-Le^a-антител подобно аллоиммунным противозэритроцитарным антителам вызывают умеренные трансфузионные реакции. Случаев ГБН, обусловленных антителами системы Левис, не описано.

Эритроциты Le(a-b-) могут преобразовываться в Le(a+) или Le(b+) после инкубации их в плазме лиц соответственно Le(a+) и Le(b+). В то же время эритроциты Le^a и Le^b могут утрачивать эти антигены, если их поместить в плазму лиц Le(a-b-). Утрата антигенов Lewis происходит не только *in vitro*, но и *in vivo*. Эритроциты Le(b+), перелитые реципиенту Le(a-b-), через 1–2 недели после трансфузии не выявляются по антигенам Левис, но хорошо выявляются по антигенам ABO, Rh и других систем.

Отмечено транзиторное ослабление антигенов Левис при беременности и других состояниях. Лица Le(a+b-), временно утратившие антиген Le(a+) и ставшие Le(a-b-), могут вырабатывать анти-Le^a-антитела, которые исчезают по мере восстановления истинного фенотипа.

Установлена связь антигенов Lewis с секрецией группоспецифических субстанций:

лица Le(a+b⁻) не секретируют АВН-вещества,
лица Le(a-b⁺), наоборот, секретируют АВН-вещества,
лица Le(a-b⁻) могут быть как секреторами (≈ 80 %), так и несекреторами (≈ 20 %).

В то же время секреция антигенов Lewis не зависит от секреции АВН-субстанций.

Антигены Le^x, Le^y (в меньшей степени Le^a, Le^b и Le^d) обнаружены в грамотрицательных бактериях *Helicobacter pylori*, вызывающих хронический гастрит, язву желудка и двенадцатиперстной кишки, лимфому и аденокарциному желудка.

По мнению Appelmelk и соавт. (1996), патогенез *Helicobacter*-индуцированного гастрита включает аутоиммунный компонент и сводится к следующему. Антигенная мимикрия по Le^x позволяет *Helicobacter pylori*, оставаясь незамеченными, нарабатывать большое количество антигена Le^x, к которому в итоге вырабатываются нейтрализующие его антитела анти-Le^x. Последние, будучи перекрестно реагирующими, взаимодействуют не только с *Helicobacter*, но и с эпителием желудка, вызывая его деструкцию.

Фенотип Le(a+b⁺) среди европеоидов практически не встречается (0 %), в то время как у монголоидов и негроидов (австралоидов) обнаруживается с частотой 10–40 %.

Антитела Lewis (анти-Le^a, анти-Le^b, анти-Le^x и другие) встречаются, как правило, у людей с фенотипом Le(a-b⁻) и чаще имеют естественное происхождение. Находят антитела и аллоиммунного происхождения, в том числе появившиеся в результате трансфузий и беременностей.

Некоторые анти-Le^a- и анти-Le^b-антитела реагируют не одинаково, если эритроциты, несущие Lewis-антигены, относятся к разной группе по системе АВО. В связи с этим в системе выделяют помимо анти-Le^a и анти-Le^b также антитела анти-Le^{bH}, анти-A₁Le^b и анти-BLe^b, выявляющие одноименные антигены Le^{bH} (LE4), A₁Le^b (LE5) и BLe^b (LE6).

Тестовые анти-Le⁻-антитела получают путем иммунизации животных эритроцитами и слюной выделителей. Активные анти-Le^a-

антитела, пригодные для фенотипирования эритроцитов, находят также и у людей.

Особенности антигенов Lewis у детей

М.А. Бронникова (1964) обнаружила особенности возрастной трансформации антигенов Lewis у новорожденных и детей:

- в сыворотке крови новорожденных присутствуют оба вещества (Le^a и Le^b), а на эритроцитах они отсутствуют. Большинство новорожденных имеют фенотип $Le(a-b-)$,
- у детей определяются антигены, отсутствующие у обоих родителей. Большинство детей до года имеют фенотип $Le(a+b+)$. Антиген Le^a присутствует чаще, чем Le^b ,
- фенотип $Le(a+b-)$ и отсутствие секреции АВН в первые годы жизни часто не связаны. Фенотип $Le(a+b-)$ чаще сочетается с группой O(I).
- фенотип $Le(a-b+)$ формируется за счет постепенного уменьшения синтеза Le^a в группе $Le(a+b+)$.
- антигены Lewis окончательно формируются к 5 годам жизни, но возрастная трансформация по годам весьма индивидуальна. Фенотип $Le(a+b-)$ формируется раньше, чем $Le(a-b+)$.
- агглютинабельность эритроцитов новорожденных при воздействии на них сыворотками анти- Le^a и анти- Le^b выражена в меньшей степени, чем у взрослых, и не усиливается после обработки трипсином, а с 3-летнего возраста усиливается, как и у взрослых.

В эмбриональном и раннем постнатальном периоде, как полагает М.А. Бронникова, синтезируются не Lewis-антигены, а их предшественник, который затем трансформируется в Le^a или Le^b , или утрачивает серологическую активность. Редкие случаи фенотипа $Le(a+b+)$ следует рассматривать как нарушение нормального процесса синтеза антигенов Lewis.

Система Duffy

Система Даффи представлена 6 антигенами: Fy^a , Fy^b , Fy^{ab} ($Fy3$), $Fy4$, $Fy5$ и $Fy6$, Наибольшее значение в трансфузиологии имеют Fy^a и Fy^b . Среди лиц белой расы они встречаются с частотой 66–72 % и 83 % соответственно. Антигены $Fy3$, $Fy4$, $Fy5$ и $Fy6$ встречаются очень часто и отсутствуют только на эритроцитах фенотипа $Fy(a-b-)$, крайне редкого для европеоидов и свойственного лицам черной расы. Распространены 3 основных фенотипа: $Fy(a-b+)$, $Fy(a+b+)$ и $Fy(a-b+)$.

По своей природе антигены Fy^a и Fy^b являются гликопротеинами и выполняют на клетке функцию хемокиновых рецепторов, обеспечивающих связывание цитокинов – регуляторов клеточного взаимодействия, определяющих выживаемость клеток, стимуляцию или ингибирование их роста, дифференцировку, функциональную активацию и апоптоз клеток.

Антигены Fy^a и Fy^b появляются на 6–7-й неделе эмбрионального развития, выраженность их такая же, как на эритроцитах взрослых.

Эритроциты $Fy(a+b-)$ и $Fy(a-b+)$ несут по 13000–14000 антигенных участков Fy^a и Fy^b на одну клетку. Количество антигенных участков Fy^a и Fy^b на эритроцитах $Fy(a+b+)$ вдвое меньше – по 6 000–7 000. Уровень экспрессии антигена Fy^b на 50 % выше на ретикулоцитах, чем на зрелых эритроцитах. Помимо эритроцитов антиген Fy^b выявлен на клетках эндотелия посткапиллярных венул во всех органах, за исключением печени, а также на волокнах Пуркинье нейронов.

Антигены Fy^a и Fy^b разрушаются под действием многих протеолитических ферментов, в то время как остальные факторы этой системы проявляют устойчивость к ним.

На лимфоцитах, моноцитах, нейтрофилах и тромбоцитах антигены Fy^a и Fy^b отсутствуют.

Генный локус *DARC* (Duffy antigen receptor chemokine), контролирующий синтез антигенов Duffy, находится на длинном плече хромосомы 1.

Антитела системы Duffy имеют аллоиммунное происхождение и нередко выступают в качестве причины тяжелых посттрансфузионных реакций и осложнений. Чаще они сочетаются с антителами против антигенов других эритроцитарных систем: анти-Rh, анти-MN, анти-K, анти-Jk и др. По своей иммуногенности антигены Duffy уступают только факторам систем ABO, Rh и Kell. Адекватным методом обнаружения антител и подбора совместимых эритроцитов для sensibilizированных больных является непрямой антиглобулиновый тест. Практически все образцы антител представлены IgG и активны при 37 °C. В развитии ГБН антитела этой системы играют существенно меньшую роль: описаны лишь единичные случаи ГБН с легким те-

чением. Антитела анти-Fy^a встречаются значительно чаще, чем анти-Fy^b.

Антигены Fy^a и Fy^b являются рецепторами, по которым малярийный плазмодий *P. knowlesi* проникает внутрь эритроцита. Лица с нулевым фенотипом, Fy(a-b-), инвазии указанным плазмодием не подвержены. В силу этих причин частота фенотипа Fy(a-b-) очень высока (70–90 %) среди негроидов, а в отдельных регионах Африки, эндемичных по малярии, она достигает 100 %. Среди представителей других рас и этнических групп фенотип Fy(a-b-) встречается редко.

Система Kidd

Система Кидд представлена антигенами Jk^a и Jk^b, имеющими среди лиц белой расы частоту 76,9 % и 72,5 % соответственно. Основными в данной системе являются фенотипические сочетания Jk(a+b-) (частота 27,5 %), Jk(a+b+) (частота 49,4 %) и Jk(a-b+) (частота 23,1 %). Известен также нулевой фенотип, Jk(a-b-), встречающийся менее чем в 0,1 % случаев. Лица этой группы образуют антитела анти-Jk^a+анти-Jk^b, не разделяемые путем адсорбции эритроцитами Jk(a+b-) и Jk(a-b+). Эти антитела выявляют третий антиген системы – Jk^{ab}, или Jk3.

Антигены Jk^a и Jk^b обнаруживаются на эритроцитах 8–11 нед плода, к моменту рождения они хорошо выражены. Распределение их у новорожденных не отличалось от такового среди взрослых.

Антиген Jk3 появляется в эритроцитах на более поздних этапах эритропоэза.

Гликопротеин Jk, помимо эритроцитов, представлен на эндотелии кровеносных сосудов прямой кишки и эндотелии мозгового слоя почек, за исключением почечных канальцев

Задолго до выделения гликопротеина Kidd, картирования и клонирования гена *JK* было известно, что эритроциты Jk(a-b-), лишённые антигенов Kidd, не лизируются в 2М растворе мочевины, а эритроциты, содержащие антигены Kidd, лизируются указанным раствором. Уже тогда возникло предположение, что антигены Kidd участвуют в транспорте мочевины. С помощью гидрофобных соединений

ртути, ингибирующих транспорт мочевины, показано, что количество участков, транспортирующих мочевины, соответствует количеству участков, несущих антигены Jk, и составляет около 32 тыс. на 1 эритроцит.

Антитела этой системы имеют клиническое значение, поскольку являются причиной ГБН, а также отсроченных гемолитических трансфузионных реакций. До 30 % таких реакций связаны именно с антителами рассматриваемой системы. Антитела анти-Jk^a встречаются чаще, анти-Jk^b – реже. И те, и другие обладают выраженным эффектом дозы и нередко реагируют только с клетками гомозигот Jk^a/Jk^a и Jk^b/Jk^b, показывая отрицательные реакции с эритроцитами фенотипа Jk(a+b+). Антитела относительно быстро исчезают из кровяного русла, в связи с чем сенсбилизация к антигенам Кидд при последующих исследованиях остается невыявленной. Дальнейшие трансфузии в таких случаях приводят к отсроченным гемолитическим реакциям.

Аллоиммунные антитела анти-Jk хорошо выявляются в непрямой пробе Кумбса и полибрененом тесте, активно связывают комплемент, в связи с чем лучше реагируют с антиглобулиновыми сыворотками, содержащими антитела к факторам комплемента.

Помимо аллоиммунных, найдены аутоиммунные антитела Kidd, которые в ряде случаев вызвали аутоиммунную гемолитическую анемию. Известны случаи острого гемолиза у лиц Jk(a+b+), принимавших хлорпропамид с целью лечения сахарного диабета. В сыворотке крови таких лиц присутствовали аутоантитела анти-Jk^a, которые реагировали с эритроцитами Jk(a+b+) в присутствии хлорпропамида или его аналогов. Гемолиз прекращался после отмены хлорпропамида. Не исключено, что субстанция Kidd, являясь транспортером азотистых шлаков, может иметь родство к хлорпропамиду, структура которого напоминает мочевины.

Обработка эритроцитов протеолитическими ферментами (папаин, фицин, трипсин, химотрипсин, проназа) усиливает реакцию антител анти-Jk^a, анти-Jk^b и анти-Jk3 с соответствующим антигеном. При фенотипировании лиц по системе Kidd нередко прибегают к предва-

рительной обработке эритроцитов бромелином. Антигены Jk^a , Jk^b и $Jk3$ не разрушаются сиалидазой и сульфгидрильными редуцентами.

При использовании эритроцитов $Jk(a+b+)$, несущих только 1 дозу антигена Jk^a , слабые антитела указанной специфичности могут остаться не выявленными, что сопряжено с угрозой гемолитических посттрансфузионных реакций. В связи с этим панели для скрининга антиэритроцитарных антител комплектуют эритроцитами $Jk(a+b-)$ и $Jk(a-b+)$, но не $Jk(a+b+)$, поскольку эффект дозы свойственен также и анти- Jk^b -антителам.

Получены моноклональные агглютинирующие антитела анти- Jk^a и анти- Jk^b класса IgM путем гибридизации иммунных лимфоцитов с клетками мышинной миеломы.

Система Diego

Система Диего до недавнего времени была представлена всего двумя антигенами Di^a и Di^b . Первый из них обнаружен у 36 % индейцев латинской Америки, 5 % китайцев, 8–12 % японцев. Антиген Di^a отсутствует у европеоидов и негроидов и присущ только монголоидам. В то же время антиген Di^b , являющийся продуктом аллельного гена, имеет у европеоидов частоту более 99,99 %. Единичные индивиды с фенотипом $Di(a+)$ обнаружены среди поляков, австрийцев и эстонцев, что, как полагают, обусловлено дрейфом гена Di^a с монголо-татарским нашествием в Западную Европу.

Антигены Диего представлены на протеине полосы 3, выполняющем важную функцию – транспорт анионов внутрь клетки. Лица с нулевым фенотипом, Di_{null} , не найдены, поскольку, как считается, отсутствие антигенов этой системы вследствие делеции гена *AE1* несовместимо с жизнью.

Белок полосы 3, отвечающий за транспорт анионов (AE1, или CD233), входит в структуру гликопротеинов эритроцитарной мембраны. Каждый эритроцит содержит примерно 1,2 млн молекул этого белка, который выявляют электрофорезом в полиакриламидном геле после обработки эритроцитов додецилсульфатом натрия (SDS-PAGE).

В настоящее время в систему Диего включен 21 антиген, в том числе редко встречающиеся антигены: Wright (W_r^a), Swann (Sw^a), Redelberger (Rb^a), Traversu (Tr^a), Torkidsen (To^a), Froese (Fr^a), Moen (Mo^a), VanVught (Vg^a), Waldner (Wd^a), Hg^a , Jn^a , Bp^a , Wu, BOW, WARR, SARA, NFLD и SHIN, а также часто встречающийся антиген W_r^b , синтез которого частично контролируется локусом *MN*.

Антитела к антигенам W_r^a и Sw^a часто встречаются в комбинации с анти-D-антителами у сенсibilизированных антигеном D людей, а также в комбинации с аутоантителами у больных аутоиммунной гемолитической анемией.

Антитела анти- W_r^a вызывают ГБН и гемолитические посттрансфузионные реакции.

Панели стандартных эритроцитов, используемые для рутинного скрининга иррегулярных антиэритроцитарных антител, обычно не содержат клеток $Di(a+)$ и других редких антигенов Диего, поэтому антитела против них, как правило, не выявляют. К счастью, антитела к большинству редких антигенов этой системы не вызывают посттрансфузионных осложнений и ГБН.

Против ряда антигенов системы Диего получены моноклональные тестовые реагенты.

Система Cartwright

Диаллельная система Картрайт включает антигены Yt^a и Yt^b . У европеоидов и негроидов антиген Yt^a встречается с частотой 99,8 %, антиген Yt^b – с частотой 8 %. У монголоидов антиген Yt^b не обнаружен. Носителем обоих антигенов является ацетилхолинэстераза (АХЭ), присутствующая в небольших количествах на мембране эритроцитов. Серологически выявляемые различия Yt^a и Yt^b обусловлены аминокислотной заменой: гистидин (Yt^a) на аспарагин (Yt^b), в позиции 353 белковой части ацетилхолинэстеразы. Принадлежность к Yt^a или Yt^b не сказывается на специфической активности этого фермента. Синтез обоих субстратов осуществляется независимо, хотя гены *Yt* и *АХЭ*, находится в одном локусе на хромосоме 7. Отмечен дефицит ацетилхолинэстеразы на эритроцитах больных пароксизмальной хо-

лодовой гемоглобинурией. Выраженность антигенов Yt при этом существенно не изменена.

Функция, выполняемая холинэстеразой на эритроцитах, неясна. Предполагается, что этот фермент помимо передачи нервного импульса в нейромускульных и нейронных синапсах, принимает определенное участие в регуляции кроветворной ткани. В частности, изменения в локусе АХЭ, вызванные химиотерапией, облучением или фосфорорганическими соединениями, приводят к нарушению мегакариоцитопоэза.

Уместно отметить, что движение нервного импульса посредством системы «ацетилхолин – ацетилхолинэстераза – ацетилхолин» является основой иннервации всего организма, включая периферическую (проводниковую) и центральную нервную систему. Благодаря ей нервные импульсы проникают во все ткани организма.

В связи с этим можно высказать предположение о функции антигенов Картрайт как системы своеобразной иннервации клеток крови, как в норме, так и в состоянии стресса. Стресс охватывает весь организм – и стационарные ткани, к которым подходят нервные окончания, и циркулирующие в кровотоке клетки, к которым нервные окончания, как известно, не подходят. Реакция на стресс предполагает мобилизацию всех систем организма как целостной структуры. Наличие АХЭ на эритроцитах, по-видимому, обеспечивает подведение к ним нервного импульса (доведение до эритроцитов стрессового сигнала). Организм как целостная система таким образом доводит сигнал стресса и мобилизационный импульс до всех тканей, стационарных и движущихся, обеспечивая слаженную ответную реакцию всего организма.

По химической природе антигены Yt относятся к фосфатидилинозитол-связанным гликопротеинам с молекулярной массой около 70 кДа. Они устойчивы к обработке трипсином, папаином, фицином, сиалидазой; денатурируются после воздействия химотрипсина, дитиотрейтола и меркаптоэтанола.

На одном эритроците может располагаться от 3 000 до 10 000 Yt-антигенных участков. Экспрессия антигена Yt^a снижена у новорожденных и больных сахарным диабетом. Концентрация ацетилхо-

линэстеразы на эритроцитах больных также снижена. Инъекции инсулина возвращают уровень ацетилхолинэстеразы к норме.

Анти- Yt^a -антитела (IgG) являются, как правило, следствием повторных гемотрансфузий; они проявляют низкую комплементсвязывающую активность, ускоряют клиренс эритроцитов $Yt(a+)$, меченых Cr^{51} . Посттрансфузионные осложнения и гемолитическая болезнь новорожденных, обусловленные антигенами Yt , не отмечены.

Описаны антитела со специфичностью анти- Yt^{ab} у пациента, чей фенотип, $Yt(a-b-)$, явился результатом временного подавления экспрессии антигена Yt^a . Эритроциты этого пациента не агглютинировались анти- Yt^a -антителами, но отчетливо их адсорбировали, однако не до полного истощения. Истинный фенотип Yt_{null} не обнаружен.

АХЭ играет исключительно важную роль в обеспечении работы мышечного аппарата и мозга, поэтому неудивительно, что нулевой фенотип $Yt(a-b-)$, обусловленный молчащим геном $Yt-$, и делеции в локусе *ACHE* чрезвычайно редки. Дефект гена, который может привести к недостатку столь важного для жизни фермента, по-видимому, является летальным.

Система Xg

В систему Xg включен всего 1 антиген, Xg^a , имеющий частоту 88,7 % среди женщин, 66,6 % среди мужчин. Генный локус Xg расположен на X-хромосоме и представлен геном Xg^a и молчащим аллелем Xg.

Как известно, пол человека детерминирован двумя хромосомами: XX у женщин, XY у мужчин. Ген Xg^a (*XGI*) расположен на X-хромосоме, на Y-хромосоме он отсутствует. Если на X-хромосоме мужчины присутствует аллель Xg^a , то он имеет фенотип Xg(a+). Если на X-хромосоме мужчины отсутствует аллель Xg^a , а имеется молчащий ген Xg, то формируется фенотип Xg(a-). Женщины Xg(a+) могут быть гомозиготными (Xg^a/Xg^a) или гетерозиготными (Xg^a/Xg), в то время как все мужчины Xg(a+) гетерозиготны (Xg^a/Xg). Соответственно, антиген Xg^a чаще встречается у женщин.

Анализ распределения групп крови Xg в семьях показал, что антиген Xg^a передается по наследству как X-сцепленный доминантный признак. Исключения из этого правила – передача гена Xg^a с Y-хромосомой – крайне редки.

Антиген Xg^a – гликопротеин, имеет связь с молекулами клеточной адгезии CD99, разрушается протеолитическими ферментами. Он не вполне развит к моменту рождения. Его экспрессия на эритроцитах новорожденных ниже, чем на эритроцитах взрослых. По мере взросления организма выраженность антигена Xg^a на эритроцитах возрастает.

Вещество Xg^a присутствует практически во всех тканях человека, оно легко разрушается протеолитическими ферментами, однако устойчиво к воздействию сиалидазой.

Антитела анти-Xg^a присутствуют в сыворотках обычно без примеси других антител. Они, как правило, естественного происхождения: их обнаруживают у здоровых лиц, не имевших беременностей и гемотрансфузий. Однако у мужчин, получивших гемотрансфузии, их находят чаще, поскольку этот антиген у них чаще отсутствует.

Антитела анти-Xg^a способны непосредственно агглютинировать эритроциты, несмотря на то, что представляют собой иммуноглобулины G-класса. Посттрансфузионных осложнений и ГБН они не вызывают.

Система Scianna

Система Сцианна включает 7 антигенов: 5 часто встречающихся – Sc1, Sc3, Sc5 (STAR), Sc6 (SCER) и Sc7 (SCAN) (частота более 99,9 %) – и 2 редких – Sc2 и Sc4 (Radin, Rd^a) с частотой менее 1 %.

Антигены Scianna располагаются в гликопротеинах, выполняющих функцию клеточной адгезии. Эти белки контролируются геном *ERMAP*, находящимся на коротком плече хромосомы 1. К моменту рождения антигены Scianna хорошо развиты.

Антиген Sc1 устойчив, а Sc2 разрушается после обработки эритроцитов F-эндогликозидазой. Антиген Rd^a разрушается протеолитическими ферментами животного происхождения (трипсин, химотрип-

син), к ферментам растительного происхождения (фицин, папаин) он устойчив.

Антитела к антигенам Scianna встречаются редко и большого клинического значения не имеют. Крайне редкие лица с нулевым фенотипом, Sc_{null}, продуцируют анти-Sc3-антитела, реагирующие с эритроцитами всех людей за исключением носителей нулевого фенотипа.

Антитела анти-Sc и анти-Rd^a вызывали легкие формы ГБН, не потребовавшие лечения, однако указанные антитела трудно идентифицировать, поскольку они часто комбинируются с другими противозэритроцитарными антителами.

Посттрансфузионных реакций эти антитела также не вызывают, хотя срок циркуляции радиоактивно меченных эритроцитов в организме больного, имеющего антитела анти-Sc3, существенно сокращен.

В одном из нескольких наблюдаемых случаев аутоантитела анти-Sc1 явились причиной аутоиммунной гемолитической анемии, резистентной к лечению кортикостероидов. Лечебный эффект был достигнут только после удаления селезенки.

Система Dombrock

Система Домброк включает антигены Do^a и Do^b, встречающиеся с частотой 67 % и 82 % соответственно. Они находятся между собой в антитетических отношениях и образуют 3 основных фенотипа: Do(a+b-) (частота 18 %), Do(a+b+) (частота 49 %) и Do(a-b+) (частота 33 %). Нулевой фенотип Do(a-b-) редок. К системе Домброк относят также часто встречающиеся антигены Gy^a, Hy и Jo^a, ранее составлявшие коллекцию Грегори-Холли. Последние содержатся в эритроцитах практически всех людей за исключением лиц Do(a-b-). Экспрессия антигенов Домброк снижена у больных пароксизмальной ночной гемоглобинурией. Клиническое значение системы Домброк невелико. Антитела этой системы очень редки, не вызывают ГБН, однако, могут служить причиной умеренных гемолитических посттрансфузионных реакций.

Антигенные различия Do^a/Do^b обусловлены нуклеотидной заменой А 793 G в экзоне 2 гена *DO*, которая приводит к аминокислотной замене Asn 265 Asp.

Система Colton

Система Colton состоит из антигенов Co^a , Co^b и Co^{ab} , которые контролируется 3 аллелями: Co^a , Co^b и молчащим аллелем Co , локализованными на коротком плече хромосомы 7. Они образуют фенотипы: $Co(a+b-)$ с частотой 99,8 %, $Co(a+b+)$ с частотой 8,6 % и $Co(a-b+)$ с частотой 0,2 %. Известен нулевой, $Co(a-b-)$, фенотип, встречающийся менее чем в 0,01 %.

Антигены Co^a и Co^b полностью сформированы к рождению и хорошо определяются на эритроцитах, обработанных ферментами. Содержание вещества Colton на эритроцитах достигает 160 000 антигенных участков на одну клетку.

Особенностью антигенов Colton является то, что они представляют собой структурную составляющую аквапорина-1 – белка, формирующего водообменные каналцы в мембране клеток. Специфичность Co^a обусловлена присутствием аланина в позиции 45 полипептидной цепи аквапорина. Замена аланина на валин соответствует специфичности Co^b .

Аквапорин, или каналце-формирующий интегральный протеин, присутствует в клеточных мембранах большинства органов и тканей млекопитающих. Он придает клеточной мембране способность пропускать воду в клетку и из нее. При этом мембрана остается непроницаемой для солей и мелких гидрофильных молекул.

Вододиффузионные свойства эритроцитов лиц с фенотипом $Co(a-b-)$, у которых отмечается дефицит аквапорина, снижены до 40 % от нормы. Водопроницаемость обратимо ингибируется $HgCl_2$ и р-хлоромеркурибензонатом.

Антигены Colton содержатся в эпителии каналцев почек, эндотелии венул сердечной мышцы, скелетных мышц, легких, оболочек мозга, мерцательном эпителии, эпителии хрусталика и роговицы глаза. Антигены Colton отсутствуют в клетках молочной железы, слюн-

ных и слезных желез, слизистой желудочно-кишечного тракта, которые имеют, по-видимому, иную водотранспортную систему.

Лица с фенотипом $Co(a-b-)$ могут продуцировать антитела анти- Co^{ab} , анти- Co^a (реже анти- Co^b). Все найденные образцы антител относились к IgG, были активны при 37 °C, связывали комплемент, реагировали в непрямом антиглобулиновом и ферментном методах.

Анти- Co^a -антитела вызывали тяжелые формы ГБН, острые посттрансфузионные осложнения и замедленные гемолитические реакции.

Система LW

Система LW (аббревиатура от Landsteiner – Wiener) представлена 3 антигенами: LW^a (частота более 99 %), LW^b (частота 1–6 %) и LW^{ab} (частота более 99 %). Описаны лица с нулевым фенотипом, $LW(a-b-)$, которые являются источником анти-LW-антител. Антигены системы LW не зависят от других антигенных систем, однако прослеживается некоторая связь этой системы с системой Rh. В частности все без исключения лица с фенотипом Rh_{null} являются $LW(a-b-)$, т. е. LW_{null} . Клиническое значение антигенов LW невелико. Антитела против перечисленных антигенов не описывались в качестве причины трансфузионных реакций или ГБН.

Антигены системы LW лучше выражены на эритроцитах новорожденных. Они устойчивы к действию папаина, фицина, трипсина и химотрипсина, однако разрушаются проназой. Эту особенность антигенов LW используют для дифференцировки их с антигенами системы Rh, которые, наоборот, активизируются проназой.

Экспрессия антигенов LW может снижаться при некоторых заболеваниях и возвращаться к норме по мере выздоровления. Данный феномен описан у нескольких больных лимфомой, лейкемией, саркомой и другими злокачественными опухолями.

Эритроциты большинства людей с приобретенным фенотипом $LW(a-b-)$ не реагируют с антителами анти- LW^{ab} .

Сыворотки анти- LW^a и анти- LW^{ab} реагируют сильнее, если антигены LW^a и LW^{ab} находятся на эритроцитах D+. Те же антигены на эритроцитах D- реагируют слабее.

Система Chido/Rodgers

Система Чидо/Роджерс не является эритроцитарной, так как относящиеся к ней антигены расположены на молекулах комплемента C4, некоторое количество которого в норме имеется на мембране эритроцитов. В систему входят 6 антигенов Chido (Ch1–Ch6), расположенных на C4А-компоненте комплемента, 2 антигена Rodgers (Rg1 и Rg2), расположенных на C4В-компоненте, а также антиген WH, экспрессия которого зависит от одновременного присутствия Rg1 и Ch6.

Большинство антигенов системы Чидо/Роджерс имеют высокую частоту среди лиц белой расы – 88–95 %. Генный локус, контролирующий синтез компонента C4, расположен внутри локуса *HLA* на хромосоме 6. Молчащие аллели, кодирующие в гомозиготном варианте нулевые фенотипы Ch/Rg, ассоциированы с гаплотипом *A1B8* системы *HLA*.

Антитела Чидо/Роджерс чаще представлены иммуноглобулинами субклассов IgG2 и IgG4, в связи с чем их относят к трансфузионно не опасным. Действительно, они не вызывают ГБН и гемолитических посттрансфузионных осложнений, но описаны в качестве причины анафилактических реакций. Тесты с радиоактивной меткой показали, что сроки циркуляции эритроцитов Ch⁺, введенных реципиентам, имеющим анти-Ch-антитела, не отличаются от контрольных.

Наличие в сыворотке крови антител Чидо/Роджерс, имеющих высокий титр, может маскировать присутствие других антител, имеющих клиническое значение.

Дефицит C4-компонента комплемента и сопровождающий его нулевой фенотип Ch–Rg– наблюдают при системной красной волчанке (СКВ). Одной из причин этого заболевания является неэффективная элиминация аутоиммунных комплексов из-за отсутствия компонента C4.

У больных СКВ наблюдалась делеция гена, контролирующего синтез C4А.

Симптомы СКВ существенно чаще проявлялись у лиц Rg–, чем у индивидов Rg+.

Выявлена также корреляция между гаплотипом *C4A*Q0* и другими видами аутоиммунной патологии: ревматоидным артритом, подострым склерозирующим панэнцефалитом, хроническим активным гепатитом и инсулин-зависимым диабетом.

Система Gerbich

Система Гербих состоит из 8 антигенов: 3 часто встречающихся – Ge2, Ge3, Ge4 – и 5 редко встречающихся – W^b, Ls^a, An^a, Dh^a и GEIS.

Антигены Гербих содержатся в сиалогликопротеинах, известных как гликофорины C и D. Лица, не содержащие антигенов Ge2, Ge3 и Ge4, встречаются, в основном, среди аборигенов Меланезии и Австралии. Редкие антигены обнаружены у представителей разных рас, включая европейцев.

Большинство антител этой системы относятся к IgM и имеют естественное происхождение. Некоторые из них (анти-Ge2- и анти-Ge3) относятся к IgG.

Трансфузионных реакций и ГБН антитела Гербих не вызывают.

Гликофорины C и D, несущие антигены Gerbich, прикреплены к цитоскелету и являются лигандом между протеинами мембраны и цитоплазмы. От 20 до 61 % лиц с нулевым фенотипом Gerbich (Ge:-2,-3,-4) имели эритроциты эллипсоидной формы. Мембрана эритроцитов Ge:-2,-3,-4 в связи с отсутствием в ней гликофоринов C и D имеет пониженную упругость, вследствие чего возникает эллиптоцитоз. Вместе с тем дефицит или отсутствие в эритроцитах гликофоринов C и D делает эритроциты менее распознаваемыми для плазмодия малярии, что обеспечивает аборигенам Меланезии и Австралии большую устойчивость к указанному заболеванию.

Система Cromer

Система Кромер включает 15 антигенов, расположенных на протеинах, катализирующих разрушение комплемента и известных как фуктор разрушения комплемента – DAF (decay accelerated factor),

или CD55. Фактор DAF присутствует также на лимфоцитах, гранулоцитах и тромбоцитах. В растворимой форме DAF содержится в секретах и других жидкостях организма, включая плазму крови и мочу.

Фактор DAF предохраняет эритроциты, лимфоциты, тромбоциты и соматические клетки от повреждения собственным комплементом. Он блокирует связывание компонентов C4b2a и C3bBb, ускоряет диссоциацию C3-конвертазы при активации комплемента по классическому и альтернативному пути.

Антигены Tc^b, Tc^c и WES^a, составляющие систему, встречаются редко – с частотой менее 0,1 %. Антигены Cr^a, Tc^a, Dr^a, Es^a, IFC, WES^b, UMC, GUTI, SERF, ZENA, CROV и CRAV имеют частоту более 99,9 %. В рассматриваемой системе известен нулевой фенотип – Inab phenotype.

Антигены Cromer разрушаются α-химотрипсином, но устойчивы к действию трипсина, папаина и сиалидазы. По этим признакам их дифференцируют с антигенами других групповых систем.

Антитела системы Cromer относятся к IgG, выявляются с помощью антиглобулиновой пробы, ГБН не вызывают. Трансфузионные реакции обуславливают только антитела анти-Cr^a, анти-Tc^a и анти-IFC. Клиническое значение антигенов невелико в связи с малой вероятностью аллоиммунизации.

Система Knops

Система Нопс представлена 9 антигенами: Kn^a, Kn^b, McC^a, McC^b, Sl^a (Sl1), Yk^a, Vil (Sl2), Sl3 (Kn8) и KСAM, встречающимися с частотой 53–98 %. Антиген Kn^b имеет частоту 4,2–4,8 %.

Антигены Knops локализованы на молекулах CR1, CD35 (разновидности рецепторов C3-компонента комплемента). Гены *Kn(CR1)* находятся на хромосоме 1.

Все описанные антитела системы Knops относятся к классу IgG, чаще присутствуют у лиц, имевших беременности и гемотрансфузии. Клинического значения антитела не имеют: ГБН и посттрансфузионные реакции с участием этих антител не описаны.

Основная функция рецептора CR1 комплемента – маркирование иммунных комплексов, сенсibiliзирoванных компонентами C3b/C4b комплемента, что служит сигналом для элиминации этих комплексов из кровотока ретикулоэндотелием печени или селезенки.

Система Indian

Система Индиан включает 2 антигенных антигена In^a и In^b , а также 2 фактора высокой частоты INFI и INJA. С этой системой ассоциирован антиген высокой частоты AnWj (Anton).

Антиген In^a редок среди европейских популяций (менее 1 %), несколько чаще обнаруживается у индусов в Бомбее (2,9 %), иранцев (10,6 %) и арабов (11,8 %). Антиген In^b встречается часто (более 99 %) во всех популяциях.

Антигены системы Indian расположены на белках, выполняющих функцию клеточной адгезии и известных как кластеры CD44.

Анти- In^b -антитела способны вызывать острые гемолитические посттрансфузионные реакции. В то же время случаев ГБН, вызванных антителами этой системы, не описано.

Фильтрат культуры бактерий *Haemophilis influenzae*, агглютинирующий все образцы эритроцитов независимо от их групповой принадлежности, не агглютинирует клетки фенотипа AnWj–.

Система Ok

Система Ok представлена антигеном Ok^a , имеющим частоту более 99,9 %. Лица с фенотипом $Ok(a-)$ редки. Описано лишь несколько случаев $Ok(a-)$ в 8 японских семьях. Среди представителей других монголоидных рас, а также европеоидов и негроидов (около 20 тыс. обследованных) фенотип $Ok(a-)$ не обнаружен. Ген *BSG*, кодирующий синтез антигена Ok^a , расположен на хромосоме 19pter–p13.2. Редкий фенотип $Ok(a-)$ является результатом замены Glu 92 Lys. Не исключено существование редкого антигенного антигена Ok^b .

Антиген Ok^a является структурным элементом иммуноглобулинов CD147, ответственных за клеточную адгезию. Помимо эритроци-

тов CD147 присутствует на всех лейкоцитах и лейкозных клеточных линиях человека и выявляется на всех исследованных клетках. Он не разрушается после обработки эритроцитов трипсином, химотрипсином, папаином, проназой, сиалидазой, редуцентом дисульфидных связей – 2-аминоэтилизотиоурониум бромидом.

Описан единственный случай анти-Ok^a-антител у японки, не имевшей беременностей, получившей одну гемотрансфузию. Специфические анти-Ok^a-антитела найдены в некоторых моноклональных реагентах против клеток тетракарциномы человека. Указанные антитела реагируют с эритроцитами и лейкоцитами лиц Ok(a⁺), но инертны в отношении клеток лиц Ok(a⁻).

CD147 выполняет на эритроцитах функцию транспортера монокарбоксилатов – лактатов и пируватов – к плазматической мембране. У мышей блокада CD147 F(ab')₂-фрагментами моноклональных анти-CD147-антител препятствует выходу эритроцитов из селезенки в кровяное русло, вызывает спленомегалию и анемию.

На лейкоцитах CD147 активирует циклофилин А – белок, являющийся рецептором, через который внутрь клетки проникает вирус СПИДа, HIV-1.

На опухолевых клетках CD147 инициирует продукцию коллагеназы и других экстрацеллюлярных металлопротеинов, способствующих метастазированию опухоли.

В здоровых тканях CD147 ускоряет заживлению ран, усиливая регенерацию фибробластов.

Система RAPH

Антиген RAPH1 (или MER2) – единственный антиген этой системы – обнаружен с помощью 4 аллоиммунных сывороток, 3 из которых получены от больных, находившихся на гемодиализе после отторжения пересаженной им почки. Все носители антител принадлежали к небольшой этнической группе индийских евреев.

Антиген RAPH1 устойчив к воздействию папаина и сиалидазы. После обработки эритроцитов трипсином, химотрипсином или редуцентами дисульфидных связей (АЕТ) он разрушается. Среди европей-

идов 92 % RAPH1+, 8 % – RAPH1–. На экспрессию антигена влияют гены групповой системы Lutheran: у лиц фенотипа Lu(a–b+) антиген RAPH1 экспрессирован значительно сильнее, чем у лиц Lu(a+b–). На клетках, содержащих лиганд CD34+, он также более выражен.

Анти-RAPH1-специфичностью обладают моноклональные антитела, продуцируемые спленоцитами мышей, иммунизированных переливаемыми клетками карциномы человека. Они реагируют в комплементзависимом цитотоксическом тесте и непрямой антиглобулиновой пробе с анти-мышинным IgG. Выраженность реакции с различными образцами клеток очень вариабельна, что свидетельствует о полиморфизме антигена RAPH1.

Ген *RAPH1* картирован на коротком плече хромосомы 11 рядом с геном *CD44*. Моноклональные анти-CD44-антитела сильнее реагируют с клетками RAPH1–, чем RAPH1+.

Система John Milton Hagen

Система JMН представлена 5 антигенами: JMН, JMНК, JMНL, JMНG и JMНL которые определяются на эритроцитах почти всех людей. Фенотип JMН1– нередко является приобретенным и носит транзиторный характер. Лица, фенотипированные как JMН–, через некоторое время становились JMН-положительными. Имеются данные, что ген *JMН* кодоминантно наследуется членами некоторых семей.

У многих пациентов, продуцирующих анти-JMН-антитела, наблюдается полная видимая утрата этого антигена, однако некоторое количество его можно выявить на эритроцитах с помощью адсорбции – элюции. У новорожденных антигены JMН выражены слабо и достигают уровня взрослых через несколько лет после рождения.

Антигены JMН разрушаются папаином, трипсином, химотрипсином и АЕТ, однако устойчивы к воздействию сиалидазы.

Антитела системы JMН относятся к классу IgG, часто имеют естественное происхождение и не вызывают трансфузионных реакций. Влияние анти-JMН-антител на плод не изучено.

Система I

В отличие от антигенов Lewis, присутствующих, помимо эритроцитов, в жидкостях организма, антигены I_i синтезируются в основном на поверхности эритроцитов в тех же гликопротеиновых цепях, в которых синтезируются антигены A, B и H.

До недавнего времени выделяли коллекцию 207 I_i, представленную антигенами I и i. У большинства взрослых людей определяется только I-антиген, антиген i обычно не выявляется. У новорожденных, напротив, хорошо выражен антиген i, в то время как антиген I выражен слабо. В клинической практике имеют значение холодовые анти-I-аутоантитела, присутствующие у больных с холодовой формой аутоиммунной гемолитической анемией (болезнь холодовых агглютининов). В небольшом титре холодовые анти-I-агглютинины присутствуют в сыворотке крови практически всех людей и их легко выявить в реакции агглютинации при температуре 6–8 °С. Случаи трансфузионных реакций и ГБН, вызванные анти-I-антителами, неизвестны, хотя описаны анти-I-антитела класса IgG, которые проявляли активность в непрямом антиглобулиновом тесте при температуре 37 °С.

Транзиторный фенотип «взрослый i» (наличие на эритроцитах антигена i в отсутствие I), нередко обнаруживается у беременных женщин. Отмечена ассоциация между генами Ii и врожденной катарактой.

Ген I, контролирующий синтез антигена I, расположен на коротком плече хромосомы 6. Это послужило основанием для выделения его в самостоятельную групповую систему I (ISBT 027). Антиген i, возможно представляющий еще одну групповую систему, пока оставлен в коллекции 207.

Система GIL

Система GIL представлена 1 антигеном, имеющим высокую частоту встречаемости. В настоящее время известно лишь 5 лиц (женщин), имеющих фенотип GIL–, у которых найдены антитела ан-

ти-GIL. Антигенные детерминанты GIL расположены на аквапорине-3 (AQP3); ген *GIL*, контролирующий синтез антигена GIL, независим от генных локусов других известных групповых систем. Он картирован на хромосоме 9 в позиции 9p13. Данные о клиническом значении антител анти-GIL отсутствуют.

Система RHAG

Статус самостоятельной групповой системы RHAG (ISBT 030) получили антигены Duclos, DSLK и O1^a, располагающиеся на Rh-ассоциированном гликопротеине (RhAG) рядом с антигенами резус. Ранее RhAG числился в системе резус как Rh50, но вскоре было выяснено, что синтез указанного гликопротеина находится под контролем гена, расположенного на 6-й хромосоме независимо от локуса *RH*, располагающегося на 1-й хромосоме. Система включает 3 антигена: 2 часто встречающихся – Duclos и DSLK, и 1 редко встречающийся – O1^a.

Антиген Duclos описан Habibi и соавт. в 1978 г. Вначале он был включен в систему резус под номером Rh38, однако позднее было установлено, что этот антиген является продуктом гена, независимого от локуса *RH*.

Антиген O1^a (от фамилии семьи Oldeide), обнаруженный Kornstad (1989) у норвежцев, также был отнесен к системе резус, поскольку был ассоциирован со слабой экспрессией антигенов C, c, E и e, однако было показано, что он не является частью системы Rh.

Проведено секвенирование ДНК Duclos-отрицательного, DSLK-отрицательного и O1^a-положительных лиц, получены рекомбинантные протеины: Duclos-отрицательный и DSLK-отрицательный доноры оказались гомозиготными по мутациям Gln 106 Glu и Lys 164 Gln соответственно.

Синтез антигенов Duclos, DSLK и O1^a контролируется одним и тем же геном *RHAG*, который находится на хромосоме 6 в позиции бp11-21.1.

Белок, подобный белку RHAG человека, имеется у многих животных: горилл, мартышек, коз, морских свинок, шиншилл, уток, черепах, лягушек и червей.

Система FORS

Система FORS, открытая в 2012 г. шведскими исследователями Swenson, Hult, Stamps и др., получила свое наименование от названия антигена Форсмана (Fs). Этот антиген – α 3-N-ацетилгалактозамин – чрезвычайно широко распространен в природе. Он содержится в растениях, бактериях и тканях животных разных видов, в том числе у млекопитающих. Исключение представляют только приматы, включая человека. У людей отсутствует Fs-синтаза, под действием которой вырабатывается антиген FORS. Более того, в крови людей обнаруживаются естественные анти-Fs-антитела, подобно агглютининам α и β .

Однако некоторые люди с очень редкой подгруппой крови A – A_{рае} – все же содержат Fs-антиген.

До открытия антигена FORS антиген A_{рае} входил в классификацию групп крови как редкая подгруппа A. Антиген A в эритроцитах A_{рае} обычными сыворотками не выявляется. Его можно выявить только с помощью лектина из улиток *Pomatia* методом *адсорбции – элюции* (отсюда аббревиатура A_{рае}). Однако далее выяснилось, что у лиц A_{рае}, являющихся гомозиготами по гену *O* (*O/O*), антиген A не вырабатывается. Вместо него синтезируются Fs-гликолипиды, которые и реагируют с упомянутым лектином. Таким образом, антиген A_{рае} является не чем иным, как антигеном Форсмана – FORS1. Последний не связан с другими антигенами, в силу чего выделен в отдельную систему FORS (ISBT 031).

У лиц A_{рае} ген Fs-синтазы – *GBGT1* – кодирует характерные мутации, приводящие к образованию Fs-гликолипидов.

Система JR (Junior)

В результате посемейных исследований Stroup и MacIlroy (1970)

выявили 12 лиц с редким фенотипом Jr(a-), у 5 из которых присутствовали анти-Jr^a-антитела.

Фенотип Jr(a-) описан у жителей Северной Европы, словацких цыган, арабов-бедуинов и жителей Мексики.

Лиц Jr(a-) чаще выявляли среди японцев и европейских цыган. В других популяциях такой фенотип встречается редко.

Среди представителей исследованных популяций, за исключением японцев, лица Jr(a-) были выявлены благодаря присутствию в сыворотках их крови анти-Jr^a-антител, случайно обнаруженных в связи с медицинским обследованием или проведением трансфузионного лечения. Среди японцев Jr(a-) не нашли ни одного человека, сенсibilизированного к этому антигену.

Образование анти-Jr^a-антител обусловлено как гемотрансфузиями, так и беременностями.

Daniels [2002] приводит случай выявления естественных анти-Jr^a-антител класса IgM. Они непосредственно агглютинировали эритроциты в солевой среде и были найдены у 2 братьев, которым никогда не переливали кровь.

Большинство анти-Jr^a-антител представлено комплементсвязывающими IgG1 или смесью IgG1 и IgG3. Они вызывали гипербилирубинемия у новорожденных, родившихся у женщин с наличием высокоактивных анти-Jr^a-антител.

При инъекции больному, содержащему анти-Jr^a-антитела, Jr^a-положительных эритроцитов с радиоактивной меткой отмечалось умеренно выраженное разрушение введенных клеток. Последние не обнаруживались в кровотоке через сутки после инъекции.

Получены моноклональные анти-Jr^a-антитела. Их продуцировали гетерогрибридомные клетки, созданные путем слияния мышиных миеломных клеток с мононуклеарами донора, имевшего анти-Jr^a-антитела.

Saison с соавт. (2012) и Zelinski с соавт. (2012) показали, что антиген Jr^a расположен на белке ABCG2, который, как и ABCG6 (LAN), относится к АТФ-связывающим белкам, но из подсемейства G номер 2 (*Homo sapiens*). Кодированный его ген расположен на хромосоме 4 (4q22.1). С момента установления локализации антигена Jr и независи-

мости кодирующего гена он получил статус антигенной системы JR (Junior) под номером ISBT 032.

Система LAN (Langereis)

Антиген Lan обнаружен голландскими исследователями Van der Hart и соавт. в 1961 году, однако статус самостоятельной системы LAN (ISBT 033), независимой от других антигенных систем эритроцитов человека, он получил в 2013 г., после того как Helias с соавт. (1912) и Zelinski с соавт. (1912) установили белок-носитель этого антигена – ABCB6, и затем был картирован ген, кодирующий его синтез, расположенный на хромосоме 2 (2q36).

Анти-Lan-антитела явились причиной гемолитической посттрансфузионной реакции у реципиента по фамилии Langereis, имевшего фенотип Lan⁻. Антитела такой же специфичности описаны как анти-Gn^a, анти-Dp и анти-So. Позднее было установлено, что все они открывают один и тот же часто встречающийся антиген, получивший обозначение Lan.

Обследование около 40 тыс. доноров в США, Великобритании и Нидерландах выявили 2 лиц, имевших фенотип Lan⁻, остальные были Lan⁺. Таким образом, расчетная частота гена Lan⁺ составила 0,9929. Четыре человека Lan⁻ выявлены при обследовании 6 тыс. доноров негров в ЮАР, 3 – среди 15 тыс. обследованных японцев. В настоящее время обнаружено 249 лиц Lan⁻.

Посемейными исследованиями установлено, что редкий фенотип Lan⁻ обусловлен гомозиготностью по рецессивному аллелю Lan⁻. В 5 семьях, имевших пробандов Lan⁻, родители имели фенотип Lan⁺ и, очевидно, были гетерозиготными по аллелю Lan⁻. Ни один из родителей 25 пробандов Lan⁻ не имел фенотипа Lan⁻.

Экспрессия антигена Lan в некоторых случаях снижена. В связи с этим использование с целью фенотипирования недостаточно активных тестовых реагентов может привести к получению ложноотрицательных результатов. Посемейными исследованиями показано, что ген, контролирующий слабый антиген Lan, передается по наследству. При исследовании 15 образцов эритроцитов Lan⁻ оказалось, что 5 из

них все-таки содержали указанный антиген, который удавалось выявить только с помощью высокоактивных сывороток.

Анти-Lan-антитела могут образовываться вследствие беременности, естественные анти-Lan-антитела не обнаружены.

Тяжелых форм ГБН анти-Lan-антитела не вызывают. Имеется единственное описание аутоиммунных анти-Lan-антител, вызвавших умеренную гемолитическую анемию.

Анти-Lan-антитела представлены в основном субклассами IgG1 и Ig3, хотя встречаются антитела субклассов IgG2 и IgG4. Некоторые образцы антител анти-Lan связывали комплемент, в то время как другие таким свойством не обладали.

Свое название белок ABCB6 получил от аббревиатуры ABC (аденозинтрифосфатсвязывающий комплекс) подсемейства В номер 6 (*Homo sapiens*). Этот белок регулирует внутриклеточный метаболизм, способствует удалению из клеток токсических веществ и одновременно обуславливает их лекарственную устойчивость, в том числе к химиотерапии.

Антиген Lan имеет отношение к наследственной псевдокалиемии, характеризующейся повышенной концентрацией ионов K^+ в крови. Ген, вызывающий это состояние, картирован на хромосоме 2 в позиции 2q35–q36, практически в том же локусе, что и ген *ABCB6*, кодирующий антиген Lan. У лиц Lan⁻, в том числе из семей, члены которых страдали псевдокалиемией, наблюдались характерные мутации гена *ABCB6*.

Полагают, что Lan⁻ (*ABCB6*-дефицитные) лица могут иметь повышенную чувствительность к лекарствам.

Система TF (GATA1, KLF1)

Система TF пока гипотетическая. Антигены этой системы, точнее отсутствие антигенов Lutheran [нулевой фенотип In(Lu)], могут получить в скором будущем статус самостоятельной системы и, возможно, с иным названием.

Установлено, что ген *In(Lu)*, блокирует синтез не только антигенов Lutheran (фенотип Lu_{null}), но и угнетает также экспрессию антиге-

нов других систем: Kell, Knops, Cartright, RAPH, Cost, антигенные детерминанты которых тесно связаны с факторами комплемента, ацетилхолинэстеразой, белками CD и другими регуляторными белками – эритроидным фактором транскрипции (FT), представленным GATA1 (GATA-связывающий протеин 1, Kruppel-like factor 1).

Описаны случаи сочетания некоторых заболеваний преимущественно у мужчин (аутоиммунная тромбоцитопеническая пурпура, наследственная дизэритропоэтическая анемия, гемоглобинопатия с фетальным Hb A₂), с X-сцепленным фенотипом Lu_{null} [In(Lu)].

Таким образом, имеются все основания полагать, что ген *In(Lu)*, оказывающий столь широкое влияние на другие гены, имеет отдельную от локуса *Lutheran* локализацию и кодирует еще одну групповую систему крови человека с редким фенотипом In(Lu).

Коллекция 208 Er

Коллекция Er включает 2 антигена: Er^a, имеющий частоту более 99,99 %, и Er^b, имеющий частоту менее 0,001 %. Известен нулевой фенотип Er(a–b–). Таким образом, локус *Er* содержит аллели *Er^a*, *Er^b* и молчащий аллель *Er*. Антитела анти-Er^a, IgM и IgG, выявлены у лиц, имевших беременности и гемотрансфузии. Они представляют собой гетерогенную группу: отдельные образцы анти-Er^a-антител отличаются характером реагирования с эритроцитами Er(a–b+). Случаев ГБН и гемолитических трансфузионных реакций, обусловленных антителами против антигенов Er^a и Er^b, не описано.

Коллекция 211 Vel

Коллекция Vel представлена двумя антигенами: Vel и АВТІ, имеющими очень высокую частоту. Эти антигены находятся в определенных отношениях друг с другом. Большинство лиц, имеющих фенотип Vel–, являются также и АВТІ-отрицательными. Вместе с тем установлено, что антитела анти-Vel и анти-АВТІ открывают 2 разных антигена.

Антитела анти-Vel не вызывали тяжелых форм ГБН, поскольку антиген, с которым они связываются, слабо выражен на эритроцитах новорожденных. Тем не менее, они считаются трансфузионно опасными, поскольку являлись причиной тяжелых гемолитических пост-трансфузионных реакций. Описаны аутоантитела анти-Vel.

Антитела к антигену АВТІ выявлены у нескольких женщин, имевших беременности без признаков ГБН.

Серии антигенов 700 и 900

Серия 700 включает редко встречающиеся (частные, или семейные) антигены: Batty (By), Christiansen (Chr^a), Biles (Bi), Vox (Vx^a), Jensen (Je^a), Hey (Hey), Rasmussen (RASM) и др. До 1990 годов количество антигенов этой серии составляло более 50. В последнее десятилетие численность серии уменьшилась благодаря применению молекулярно-генетических методов исследования, позволивших показать принадлежность отдельных антигенов к той или иной групповой системе, например ряд частных антигенов переведен в систему Diego. Некоторые из редких антигенов открыты дважды: найденные в 1946 году антитела анти-Levau и обнаруженные через 33 года антитела анти-Kp^c выявляют один и тот же редкий антиген системы Kell, получивший название Kp^c. Как правило, носителями антигенов являются 3–4 члена одной семьи. Отсюда название «семейные» антигены. Антитела почти всегда вызывали ГБН, что являлось поводом для иммуносерологического обследования всех членов семьи.

Антитела к антигенам серии 700 не реагируют с эритроцитами многих тысяч (иногда десятков тысяч) неродственных лиц.

Серия 900 насчитывает 6 антигенов: At^a, Emm, AnWj, Sd^a, PEL и MAM, встречающихся с частотой более 99,99 %. Антигены Lan, Duclos и Jg^a, ранее включенные в эту серию, выделены в самостоятельные антигенные системы (см. системы Lan, RHAG и Jg).

Как правило, антитела против часто встречающихся антигенов выявляются у лиц, имевших беременности или гемотрансфузии. Сыворотки этих лиц реагируют со всеми образцами эритроцитов независимо от их фенотипа, кроме собственных эритроцитов, а также эрит-

роцитов некоторых сибсов и одного из родителей сенсibilизированного лица. Популяционные и молекулярно-генетические исследования позволяют установить связь часто встречающихся антигенов с известными групповыми системами.

Группы крови в биологии человека

Как полагают авторы, групповые антигены крови имеют значение не столько в гемотрансфузиологии, хотя в этой области их значение трудно переоценить, сколько в той огромной роли, которую они играют в жизни человека как биологического вида.

Групповые антигены в природе

Группоспецифические полисахариды, подобные групповым антигенам человека, широко распространены в природе. Как упоминалось выше, многие виды животных, растений, бактерий, объекты неорганической природы содержат эти вещества.

Носители антигена А – коровы, свиньи, собаки, пневмококки, возбудители оспы; антигена В – кролики, кошки, лошади, бактерии кишечной группы. У бактерий дизентерии, чумы, сальмонелл имеется антиген О. У возбудителя оспы – антиген А. Некоторые штаммы сальмонелл содержат парциальные антигены KEL1 и HLA-B27.

Антитела, подобные α - и β -агглютиниnam человека, встречаются в некоторых злаковых и бобовых растениях, плодах ягодных кустарников, у моллюсков, червей, насекомых, в красителях*.

Природа буквально наводнена групповыми полисахаридами, но все это лишь маленькая толика огромного антигенного разнообразия, которое окружает человека.

* С.С. Брюхоненко, вошедший в историю медицины как изобретатель искусственного сердца (автожектора), предлагал определять группу крови с помощью набора красок вместо сыворток. Метиленовая синь, например, избирательно агглютинирует эритроциты А.

Контакт с этими веществами в процессе естественного отбора привел к дифференцировке вида *Homo hominis* на 4 типа. Те, у кого

нет антигенов А и В, имеют α - и β -антитела. Те, кто имеет антигены, антител не содержат.

Многие данные свидетельствуют о том, что и другие антигенные системы эритроцитов человека формируются под влиянием окружающей среды (см. системы MN, P, FY и др.).

Человек состоит из тех же структурных элементов, что и другие объекты окружающего мира. Этим обеспечивается его совместимость с окружающей средой, а антигенный полиморфизм, уникальная антигенная неповторимость особи, обеспечивает устойчивость вида в целом.

Геногеография групп крови

Частота групп крови неодинакова у различных народов. Общая закономерность выражается в том, что по мере продвижения с Запада на Восток уменьшается частота группы А(II); с Востока на Запад уменьшается частота группы В(III); с Севера на Юг увеличивается частота группы О(I). Среди европеоидов до 40 % резус-отрицательных (у басков). Монголоиды почти все резус-положительные. Проблема резус конфликта в Китае, Корее, Японии практически отсутствует.

Неодинаковое распределение групп крови на Земле является, как полагают, следствием антигенной мимикрии возбудителей чумы и оспы. Возбудители чумы содержат парциальный антиген О, оспы – парциальный антиген А. Эпидемии чумы, имевшие место в средние века, элиминировали из популяции преимущественно людей группы О(I), оспы – людей группы А(II). В Центральной Азии, Индии, Китае, Северной Африке, где чума и оспа особенно свирепствовала, частота группы В(III) оказалась наиболее высокой. В Гренландии, где в XIII веке от чумы умерло более половины населения, значительно реже встречается группа О(I), а в Полинезии, где чумы не было, свыше 90 % жителей имеют группу О(I).

Выделяют триаду, характерную для монголоидов: преобладание фенотипов О(I) или В(III), Rh⁺ и К⁻. Можно добавить четвертую осо-

бенность – у монголоидов присутствует (до 40 %) антиген Диего (Di^a+), отсутствующий у европеоидов и негроидов.

Вместе с тем неодинаковая частота групп крови не может служить дифференцировочным критерием, отличающим представителей одной расы от другой. Вряд ли можно с точностью установить расовую принадлежность конкретного индивида по сочетанию групповых антигенов его эритроцитов и рассматривать групповую принадлежность крови как признак европеоидности или монголоидности. В этом отношении набор групповых антигенов менее информативен, чем строение тела и цвет кожи. Сходное распределение групповых антигенов эритроцитов было выявлено в популяциях, населяющих районы земного шара, удаленные друг от друга на многие тысячи километров. Так, частота групп крови АВО практически одинакова у французов и аборигенов Новой Гвинеи (Mourant и соавт., 1976), англичан и хакасов (А.С. Абдина, 2000). Mourant и соавт., впервые составившие геногеографическую карту мира, не без удивления обратил на это внимание.

Специфических расовых или этнических антигенов не обнаружено. Австралийский антиген, который, как вначале полагали, свойствен австралийским аборигенам, оказался фрагментом вируса гепатита, встречающегося и у европеоидов, и у монголоидов. Попытки установить дифференцировочные расовые признаки с помощью молекулярно-генетических методов также ни к чему не привели (Olsson и соавт., 1998]).

Группы крови и болезни

Группа А(II) чаще встречается среди больных пневмонией и раком молочной железы. У лиц группы А(II) чаще отмечается пониженный уровень содержания интерферона, обеспечивающего, как известно, противоопухолевую и противовирусную защиту организма. Вместе с тем более высокая частота группы крови А(II) в европеоидных популяциях может рассматриваться как признак эволюционного предпочтения именно второй группы крови.

Частота группы В(III) несколько выше среди больных кишечными заболеваниями. Среди больных, страдающих язвой желудка и двенадцатиперстной кишки, частота группы О(I) выше на 10–12 %.

Существует гипотеза, что неравномерность распределения групп крови АВО на земном шаре является результатом пандемий чумы, оспы и холеры, которые избирательно поражают лиц О(I), А(II) и В(III).

Связь групповой принадлежности крови с заболеваниями, изученная на больших выборках, расценивается как слабо коррелятивная. Группа крови конкретного человека не является основанием для заключения о предрасположенности его к тому или иному заболеванию.

Угнетение экспрессии антигенов АВО и Н при лейкозах

Имеется ряд сообщений о сниженной экспрессии антигенов АВО и Н у больных лейкозами. В некоторых наблюдениях сообщалось о сочетании слабой агглютинабельности антигенов А и В на эритроцитах с высоким содержанием на них группоспецифического вещества Н.

Аналогичную зависимость количественного соотношения антигенов А и В от Н наблюдали у больных болезнью Ходжкина.

Полагают, что функциональные свойства Н-, А- и В-трансфераз при воздействии на организм одного и того же патогена нарушаются неодинаково.

В одних случаях нарушение активности трансфераз проявлялось в виде слабых форм антигена А, в других – в виде химеризма (одновременное присутствие в кровотоке эритроцитов А и О). Описаны случаи, когда эритроциты больных лейкозией, имевших группу крови А₁, переставали реагировать с антителами анти-А₁, но давали отчетливо положительные реакции с антителами анти-Н.

По данным Starling и Fernbach (1970), временное снижение экспрессии групповых антигенов АВО и Н совпадало с обострением заболевания. Во время ремиссии экспрессия групповых антигенов возвращалась к нормальному уровню.

Зафиксированы случаи, когда угнетение экспрессии антигенов АВО у детей, больных лейкозом, не зависело от стадии заболевания и проводившейся им химиотерапии.

В отдельных случаях угнетение экспрессии антигенов АВО и Н наблюдали еще до того, когда у больных развивалась лейкемия. Высказано предположение (Garratty, 1994), что угнетение синтеза антигенов АВО и Н, предшествующее лейкемии, служит предвестником метастазирования опухоли.

Активность Н-трансферазы у больных лейкозиями существенно снижена, А-трансферазы – в пределах нормы (Kuhns и соавт., 1980).

При хроническом миелолейкозе нередко имеют место транслокации генетического материала в длинных плечах хромосом 9 (место локализации генов АВО) и 22, что может влиять на активность А- и В-трансфераз. Вместе с тем следует отметить, что более выраженную супрессию антигенов А и В наблюдают при остром миелолейкозе, менее выраженную – при хроническом. Транслокации чаще всего регистрируют между хромосомами 8 и 21.

Renton и соавт. (1962) описали пациента с лейкемией, имевшего группу крови А₁В. В одной из фаз заболевания в его кровотоке обнаруживались эритроциты АВ, В, А и О, которые можно было идентифицировать с помощью дифференциальной агглютинации сыворотками анти-А и анти-В. По-видимому, в приведенном случае патологической модификации подверглись сразу несколько клонов кроветворных клеток.

Супрессию антигенов А и В наблюдали у пожилых людей, не страдавших лейкемией.

Группы крови при заболеваниях желудочно-кишечного тракта

Частота группы А среди больных карциномой желудка почти на 20 % превышает таковую у здоровых лиц. В то же время у людей, имеющих группу крови А, вероятность заболеть язвенной болезнью желудка или двенадцатиперстной кишки ниже по сравнению с людьми, имеющими группу крови О.

Garratty (1977), Bird (1983), Grookson (1983) обследовали 150 групп больных общей численностью более 50 тыс. человек. Среди больных раком желудка соотношение частоты групп крови А к О составило 1,12 к 1; среди больных карциномой толстой и прямой кишки (7 435 больных) – 1,11 к 1; среди больных раком яичников (17 групп из 2 326 больных) – 1,28 к 1, матки (14 групп, 2 598 больных) и цервикального канала (19 групп, 11 927 больных) – 1,15 к 1 и 1,33 к 1.

Соотношение А к О составило 1,64 к 1 среди 285 больных опухольями слюнных желез.

Можно предположить, что лица, имеющие группу крови А, в меньшей степени способны противостоять малигнизации тканей по сравнению с людьми, имеющими другие группы крови, в частности О и В.

Следует отметить, что перечисленные выше онкологические заболевания не оказывают какого-либо влияния на частоту распределения групп крови в популяции в целом. Указанная патология развивается преимущественно в пожилом возрасте, когда больные уже передали свои гены по наследству. Соответственно, принадлежность к той или иной группе крови не дает каких-либо селективных преимуществ в эволюции вида *homo hominis*. Этим отчасти можно объяснить, что частота генов групп крови – величина константная.

Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки имеет некоторую корреляцию с выделительством. Чаще всего эти заболевания диагностировали у лиц О(I) невыделителей, далее следуют невыделители, имеющие группу крови А(II) и В(III). Реже язвенной болезнью страдают выделители А- и В-субстанций.

Группы крови и диета

Групповая принадлежность крови не определяет вкусовые предпочтения индивида, а также способность организма перерабатывать и усваивать те или иные пищевые продукты. Рекомендации по соблюдению различных диет в зависимости от группы крови АВО не имеют под собой научного обоснования.

Математические, музыкальные и другие способности также не зависят от группы крови. Высказывания о том, что обладатели первой группы крови по складу характера охотники, второй – пахари, третьей – воины, четвертой – интеллектуалы – не более чем развлекательный домysel.

Группы крови и продолжительность жизни

Ген смерти встроен в программу жизни. Механизм апоптоза (программируемой гибели клетки) мало изучен. Группы крови и смерть не имеют видимой связи. Но если ген смерти (разбуженный праймер или паравирус), замедляющий биологические часы через старение, а затем останавливающий их, существует (а он, по-видимому, существует), то он не может не зависеть от антигенного субстрата, с которым вступает в разрушительное взаимодействие. В Грузии много долгожителей. На Кавказе превалирует группа O(I). Совпадение ли это? Видимо, не просто совпадение. С другой стороны, островитяне Полинезии долгожительством не отличаются, хотя они почти все имеют группу O(I). Однако они живут в другой географической зоне, за экватором, поэтому сравнение этих 2 популяций только по 1 признаку (группа крови) некорректно.

Объем особи в пространстве

Люди, как правило, не задумываются над простыми вещами. Например: рост 170 см, вес 65 кг. Что здесь удивительного? На самом деле, объем особи и ее пространственная структура в окружающей среде – интереснейшее явление, феномен, напрямую связанный с групповыми антигенами и антителами. Речь в данном случае идет о совокупной антигенной массе человека, и не столько о классических групповых антигенах, сколько об идиотипических. В основе регуляции лежит все та же реакция антиген – антитело.

Как поддерживается объем особи? С одной стороны – масса антигена, с другой стороны – антитела, удерживающие эту массу в установленных рамках. Все, что выходит за рамки идиотипа, отсекается, в том числе атипичные, мутантные, стареющие клетки. Организм таким

образом сохраняет объем, пространственную структуру и постоянство внутренней среды. Велико в этом процессе участие фагоцитов.

Идиотипические аутоантитела можно обнаружить после нефрэктомии, резекции печени и, по-видимому, при удалении любой ткани или органа. В норме они не выявляются, поскольку полностью реализуются на удержание объема. Но после изъятия органа эти антитела некоторое время вырабатываются по инерции и, будучи нереализованными, циркулируют в кровяном русле. В этот момент их можно определить.

У доноров после донации крови (читай изъятия органа) появляются иммунорегуляторные белки, подобные антителам. Плазма крови после эритро-, лейко-, тромбоцитафереза обогащается эритро-, лейко-, тромбопоэтинами, которые являются антагонистами цензорных идиотипических антител и способствуют регенерации.

Человек не может произвольно менять объем костной и мышечной массы. Они жестко лимитированы индивидуальной генетической программой. Изменить программу можно лишь с помощью анаболических гормонов в сочетании с усиленными физическими нагрузками.

Жиры лишены групповых антигенов и не имеют соответствующих антител. Накопление их в организме не ограничено, а скорее, наоборот, предусмотрено. Этим процессом человек, как правило, может управлять, регулируя свой вес соразмерным образом жизни, включая адекватное питание.

Регуляторная функция антител

Какую бы из функций организма человека мы ни рассматривали, везде присутствует иммунологический компонент. Хорошо известна способность антител предупреждать инфекционные заболевания. Несколько миллиграммов иммуноглобулина отменяет иммунный ответ на многие антигены. Достаточно вспомнить эффект введения Rh-отрицательным родильницам гаммаглобулина анти-D, предупреждающего гемолитическую болезнь новорожденных при последующей беременности.

В основе свертывания крови, образования белого тромба (иммунологами не изучен) лежит иммунное прилипание лейкоцитов к нитям фибрина – феномен *adherens*. Прилипание к лимфоцитам тромбоцитов – тромбоцитарная розетка – тот же феномен *adherens*, то есть иммунологический компонент.

Беременность, начиная с момента слияния гамет, – особенное состояние иммунной системы. Тропность одной гаметы к другой (гаметное предпочтение при формировании зигот) – это распознавание групповых, в том числе идиотипических, антигенов на клеточном уровне. После слияния гамет в организме беременной формируется иммунологическая толерантность, но необычная, избирательная, только в отношении групповых и идиотипических антигенов плода. В отношении других антигенов организм беременной реагирует как и прежде.

Отторжение трансплантата в значительной мере обусловлено групповыми антигенными различиями, в том числе степенью гистосовместимости донора и реципиента.

Антигенный полиморфизм бесконечен

Огромное разнообразие антигенных факторов крови человека – полиморфизм – не имеет границ. Помимо антигенов А и В, обуславливающих 4 группы, существуют другие антигены эритроцитов человека: резус, Келл, Даффи, Диего, Левис и другие – всего более 340. Более 250 групповых антигенов содержат лейкоциты и тромбоциты крови. Существуют, но пока мало изучены, антигены, присущие отдельным органам – почке, печени. Они не связаны между собой и передаются по наследству во множестве сочетаний. Число возможных перестановок при наличии более 500 групповых признаков практически бесконечно. Следует иметь ввиду, что один антиген может формироваться несколькими генами, а это в свою очередь вносит еще большее разнообразие в структуру и свойства субстрата. По набору групповых факторов каждый человек, живущий на планете, представляет собой уникальную неповторимость, как неповторима его индивидуальная очерченность, восприятие мира, комбинация мыс-

лей, вкусов, привязанностей. Идентичных людей не бывает, даже среди монозиготных близнецов.

В последние годы получены данные, которые дополняют существующие представления о группах крови. Речь идет о перекрестно-реагирующем антигене системы АВО – антигене С.

При иммунизации мышей эритроцитами А или В часто вырабатываются моноклональные антитела анти-А+В. Если эти антитела адсорбировать эритроцитами А, а затем снять элюат, то в элюате обнаруживаются антитела А+В, которые не удается разделить. То же самое наблюдается, когда адсорбция – элюция производится с помощью эритроцитов В.

Антитела А+В – это антитела против общего для антигена А и В компонента – антигена С.

Подобные гибридные антитела А+В встречаются у людей группы О(І). Они маскированы изогемагглютинаинами и не проявляют явно своей роли в посттрансфузионных реакциях. Несмотря на то, что целый ряд параметров этих антител еще не изучен, значение их понемногу просматривается. По-видимому, они обуславливают физиологическую желтуху новорожденных, усугубляют посттрансфузионные осложнения.

Мы привели эти данные для того, чтобы еще раз подчеркнуть значение антигенного полиморфизма в биологии человека, сделать акцент на том, что учение о групповой дифференцировке крови людей развивается и еще принесет много важных для здравоохранения открытий.

Методы определения групп крови

Порядок иммуносерологических исследований

С целью переливания эритроцитсодержащих компонентов крови отбирают доноров, идентичных реципиентам по антигенам АВО, резус (D, С, Е, с, е, С^W) [табл. 10] и Келл (К).

При переливании эритроцитов (плановом или экстренном) трансфузиолог обязан:

1. Определить группу крови АВО реципиента и донора (по эритроцитам в контейнере).

Если отсутствуют данные о резус-принадлежности реципиента, трансфузиолог выполняет это исследование (определяет у реципиента антиген D экспресс-методом на плоскости). Резус-принадлежность эритроцитов в контейнере трансфузиолог не определяет, ориентируясь на данные, указанные на этикетке.

2. Провести пробу на индивидуальную совместимость крови реципиента и донора одним из двух способов:

- первый способ: двухэтапная проба в пробирках с антиглобулином;

- второй способ: на плоскости при комнатной температуре и одной из трех проб (непрямой реакцией Кумбса, реакцией конглоутинации с 10% желатином, реакцией конглоутинации с 33% полиглюкином) или одной из других разрешенных проб, выявляющих неполные антиэритроцитарные антитела.

При переливании плазмы трансфузиолог определяет группу крови реципиента или ориентируется на данные о его групповой принадлежности, полученные ранее. Групповую принадлежность донора трансфузиолог устанавливает по соответствующему обозначению на этикетке контейнера с трансфузионной средой. Пробу на индивидуальную совместимость не проводит.

При наличии у реципиента антиэритроцитарных антител, подбор компонентов крови производят в специализированной лаборатории.

Если эритроциты подобраны реципиенту индивидуально в специализированной лаборатории, трансфузиолог перед переливанием определяет группу крови реципиента, донора и проводит только одну пробу на индивидуальную совместимость – на плоскости при комнатной температуре.

Техника иммуносерологических исследований

Определение группы крови, резус-принадлежности, пробу на индивидуальную совместимость крови донора и реципиента проводят, руководствуясь действующими инструкциями по иммуносероло-

гии. Руководствуются также инструкциями-вложениями, которые прилагаются к набору реагентов предприятием-изготовителем.

При проведении анализа следует надевать одноразовые пластиковые или резиновые перчатки, так как исследуемые образцы крови могут содержать вирусы иммунодефицита человека, вирусы гепатита или возбудители других гемоконтактных инфекций.

Подготовка к анализу

Используют свежие эритроциты и сыворотку крови реципиента (не более двухдневного срока хранения при температуре $+2\text{--}+8\text{ }^{\circ}\text{C}$). Эритроциты берут со дна пробирки после центрифугирования или отстаивания от сыворотки (третья фракция) или плазмы.

Для метода агглютинации на плоскости и метода конглоутинации в пробирках с 10% желатином или 33% полиглюкином берут осадок неотмытых эритроцитов. Для метода агглютинации в солевой среде эритроциты однократно отмывают 0,9% NaCl. Для двухступенчатой пробы в пробирках с антиглобулином и непрямой пробы Кумбса эритроциты трижды отмывают 0,9% NaCl. Отмывание эритроцитов производят обычным образом.

Во избежание ошибок рекомендуется использовать плотно упакованный осадок эритроцитов, максимально освобожденный от взвешивающей среды.

Фенотипирование донора и реципиента

Фенотип донора и реципиента устанавливают посредством определения группы крови АВО, резус-принадлежности (антигена D) и minorных трансфузионно опасных антигенов: С, Е, с, е, С^W, К, к и др.

Определение группы крови

На пластинку под соответствующими обозначениями помещают по 2 капли (0,1 мл) реагентов анти-А, анти-В и анти-АВ (при использовании изогемагглютинирующих сывороток) и рядом – по одной ма-

ленькой капле осадка эритроцитов (0,01–0,02 мл при использовании изогемагглютинирующих сывороток; 0,02–0,03 мл при использовании цоликлонов). Сыворотку и эритроциты перемешивают. Пластинку периодически покачивают, наблюдая за ходом реакции в течение 5 мин. По истечении этого срока в реагирующую смесь можно добавить по 1–2 капли (0,05–0,1 мл) 0,9% NaCl для снятия возможной неспецифической агрегации эритроцитов.

При наличии агглютинации эритроцитов с обоими реагентами необходимо исключить неспецифическую реакцию, которую могут давать исследуемые эритроциты. Для этого к капле эритроцитов вместо цоликлонов добавляют 2 капли 0,9% NaCl, а вместо изогемагглютинирующих сывороток – сыворотку группы АВ(IV). Кровь можно отнести к группе АВ(IV) только при отсутствии агглютинации эритроцитов в 0,9% NaCl или сыворотке АВ(IV).

Определение резус-принадлежности и других антигенов

Определение резус-принадлежности (определение антигена D) и определение минорных трансфузионно опасных антигенов – С, Е, с, е, С^W, К, k и др. – целесообразно производить одновременно. Если фенотипирование проводят реагентами, предназначенными для выполнения исследования на плоскости, его совмещают с определением группы крови АВО.

Экспресс-метод на плоскости

Исследование проводят упрощенным методом на плоскости при комнатной температуре (+20–+22 °С).

Необходимое оснащение: сыворотки анти-D, -С, -Е, -с, -е, -С^W, -К, -k и др., пластинки, пипетки, палочки, 0,9% NaCl, вода водопроводная.

На пластинку помещают по 1–2 капли (0,06–0,08 мл) сывороток и рядом – по 1 капле (0,02–0,03 мл) эритроцитов. Сыворотки и эритроциты перемешивают. Пластинку периодически покачивают, наблюдая за ходом реакции. По истечении 5 мин в реагирующую смесь можно добавить 1–2 капли (0,06–0,08 мл) 0,9% NaCl для снятия

возможной неспецифической агглютинации эритроцитов.

Учет результатов. Каплю просматривают невооруженным глазом. При положительном результате агглютинация эритроцитов появляется к 20–30 сек, при отрицательном результате агглютинация отсутствует (см. рис. 8). Положительный результат означает, что исследуемые эритроциты содержат антиген, соответствующий специфичности сыворотки. Отрицательный результат указывает на отсутствие в исследуемых эритроцитах соответствующего антигена.



Положительный

Отрицательный

Рис. 8. Результаты исследования экспресс-методом.

Реакция конглоутинации с применением 10% желатина

Реакцию проводят в пробирках при температуре (+46 – +48 °С).

Необходимое оснащение: сыворотки анти-D, -С, -Е, -с, -е, -С^W, -К и др., желатин 10%, центрифужные или иные пробирки вместимостью 10 мл, термостат или водяная баня, поддерживающие температуру +46 – +48°С, пипетки, лупа с 2–4-кратным увеличением, 0,9% NaCl, вода водопроводная.

В 8 пробирок, обозначенных буквами D, С, Е, с, е, С^W, К и 0 (контроль), вносят по 0,02–0,03 мл осадка эритроцитов, для чего выдавливают из пипетки небольшую каплю эритроцитов и касаются ею дна пробирки. Затем во все пробирки добавляют по 2 капли (0,1 мл) желатина. В 8-ю пробирку (контрольную) вносят 2 капли (0,1 мл) желатина и 1 каплю (0,05 мл) 0,9% NaCl. Далее в пробирки добавляют соответственно обозначениям по 1 капле (0,05–0,08 мл) сыворотки анти-D, анти-С, анти-Е, анти-с, анти-е, анти-С^W и анти-К.

Содержимое пробирок перемешивают встряхиванием, после чего их помещают в водяную баню на 20 мин или термостат на 40 мин. По истечении указанного времени в пробирки добавляют по 5–8 мл

0,9% NaCl и перемешивают содержимое путем 1–2-кратного переворачивания пробирок.



Положительный

Отрицательный

Рис. 9. Результаты фенотипирования желатиновым методом.

Учет результатов. Пробирки просматривают на свет невооруженным глазом или через лупу в течение первой минуты после перемешивания с физиологическим раствором. При положительном результате наблюдается агглютинация эритроцитов, при отрицательном результате агглютинация отсутствует (рис. 9).

Положительный результат в пробирке, содержащей сыворотку анти-D, означает, что исследуемые эритроциты содержат антиген D, положительный результат в пробирке, содержащей сыворотку анти-C, свидетельствует о наличии в эритроцитах антигена C и т. д. Отрицательный результат с какой-либо из сывороток указывает на отсутствие в исследуемых эритроцитах соответствующего антигена. В контрольной пробирке агглютинация эритроцитов должна отсутствовать. При наличии агглютинации в контрольной пробирке рекомендуется отмыть исследуемые эритроциты физиологическим раствором и повторить исследование или применить метод агглютинации в солевой среде с использованием сывороток, содержащих полные антитела, или непрямую пробу Кумбса.

Реакция конгломинации с применением универсального реагента

Для этого исследования требуются специальные реагенты, приготовленные путем смешивания субстратов, содержащих неполные поли- или моноклональные антитела, с 33% полиглобулином в соотношении 2 к 1. Техника выполнения исследования такая же, как и при

фенотипировании желатиновым методом с тем лишь различием, что реакцию проводят при комнатной температуре (см. Проба на совместимость с применением 33% полиглюкина)

Реакция агглютинации в солевой среде

Исследование выполняют при температуре $+37\text{ }^{\circ}\text{C}$ в маленьких пробирках.

Необходимое оснащение: сыворотки анти-D, -C, -E, -с, -е, -C^W, -K и др., специальные пробирки вместимостью 0,5 мл, термостат, поддерживающий температуру $+37\text{ }^{\circ}\text{C}$, штативы для пробирок, пипетки, часы, лупа с 2–4-кратным увеличением, 0,9% NaCl, вода водопроводная.

В пробирки вносят по 1 капле (0,05 мл) сывороток и добавляют по 1 капле (0,05 мл) 2% взвеси эритроцитов. Содержимое пробирок перемешивают посредством легкого постукивания кончиком пальца по дну пробирки, после чего их помещают в термостат при температуре $+37\text{ }^{\circ}\text{C}$ на 1 час.

Учет результатов. Пробирки просматривают вертикально по продольной оси через лупу над белым листом бумаги или источником света. Результат учитывают по наличию или отсутствию агглютинации, что выражается в разной форме осадка эритроцитов на дне пробирки (рис. 10).



Рис. 10. Результат фенотипирования методом агглютинации в солевой среде.

Положительный результат означает, что исследуемые эритроциты содержат соответствующий антиген, отрицательный результат

указывает на отсутствие в исследуемых эритроцитах соответствующего антигена.

Условия хранения реагентов для фенотипирования

Наборы реагентов для фенотипирования хранят при температуре $+2$ – $+8$ °С. Срок хранения набора – не менее 12 мес. Допускается хранение набора при температуре до $+25$ °С не более 10 дн.

Реагенты после вскрытия флаконов хранят при температуре $+2$ – $+8$ °С в течение всего срока годности набора при условии герметизации флаконов.

Пробы на индивидуальную совместимость крови донора и реципиента

Проба на индивидуальную совместимость позволяет убедиться в том, что у реципиента нет антител, направленных против эритроцитов донора и таким образом предотвратить трансфузию эритроцитов, несовместимых с кровью больного. При переливании плазмы, тромбоцитов и лейкоцитов пробу на индивидуальную совместимость не проводят.

Проба на совместимость, выполняемая на плоскости при комнатной температуре, имеет целью выявить у реципиента полные групповые агглютинины системы ABO, MNSs, Lewis и др. Проба на совместимость с применением 10% желатина, 33% полиглюкина, непрямая проба Кумбса предназначены для выявления у реципиента неполных групповых антител. Двухэтапная проба в пробирках с антиглобулином предусматривает выявление и тех и других антител, в том числе групповых гемолизинов.

Наиболее чувствительной и рекомендуемой является двухэтапная проба в пробирках с антиглобулином, затем комбинация двух проб – пробы на плоскости при комнатной температуре и непрямой пробы Кумбса. Вместо непрямой пробы Кумбса может быть применена реакция конглоутинации с 10% желатином или реакция конглоу-

тинации с 33% полиглоукином. Последняя проба уступает по чувствительности первым двум, однако занимает меньше времени.

Двухэтапная проба в пробирках с антиглобулином

Первый этап. В маркированную пробирку вносят 2 объема (200 мкл) сыворотки реципиента и 1 объем (100 мкл) 2% взвеси трижды отмытых эритроцитов донора, суспендированных в физиологической растворе или LISS. Содержимое пробирки перемешивают и центрифугируют при 2 500 об/мин (около 600g) в течение 30 с. Затем оценивают наличие гемолиза в надосадочной жидкости, после чего осадок эритроцитов ресуспендируют, слегка постукивая кончиком пальца по дну пробирки, и определяют наличие агглютинации эритроцитов. При отсутствии выраженного гемолиза и/или агглютинации переходят к выполнению второго этапа пробы с использованием антиглобулиновой сыворотки.

Второй этап. Пробирку помещают в термостат при температуре 37 °С на 30 мин, после чего снова оценивают наличие гемолиза и/или агглютинации эритроцитов. Затем эритроциты трижды отмывают физиологическим раствором, добавляют 2 объема (200 мкл) антиглобулиновой сыворотки для пробы Кумбса и перемешивают. Пробирки центрифугируют в течение 30 с, осадок эритроцитов ресуспендируют и оценивают наличие агглютинации.

Учет результатов проводят невооруженным глазом или через лупу. Выраженный гемолиз и/или агглютинация эритроцитов указывают на присутствие в сыворотке реципиента групповых гемолизиннов и/или агглютининов, направленных против эритроцитов донора, и свидетельствует о несовместимости крови реципиента и донора. Отсутствие гемолиза и/или агглютинации эритроцитов свидетельствует о совместимости крови реципиента и донора.

Проба на совместимость на плоскости при комнатной температуре

На пластинку наносят 2–3 капли сыворотки реципиента и добавляют небольшое количество эритроцитов с таким расчетом, чтобы

соотношение эритроцитов и сыворотки было 1:10 (для удобства рекомендуется сначала выпустить через иглу несколько капель эритроцитов из контейнера на край пластинки, затем оттуда стеклянной палочкой перенести маленькую каплю эритроцитов в сыворотку). Далее эритроциты перемешивают с сывороткой, пластинку слегка покачивают в течение 5 мин, наблюдая за ходом реакции. По истечении указанного времени в реагирующую смесь можно добавить 1–2 капли физиологического раствора для снятия возможной неспецифической агрегации эритроцитов.

Учет результатов. Наличие агглютинации эритроцитов означает, что кровь донора несовместима с кровью реципиента и не должна быть ему перелита. Если по истечении 5 мин агглютинация эритроцитов отсутствует, то это означает, что кровь донора совместима с кровью реципиента по групповым агглютиногенам.

Непрямая проба Кумбса

В пробирку вносят одну каплю (0,02 мл) осадка трижды отмытых эритроцитов донора, для чего выдавливают из пипетки небольшую каплю эритроцитов и касаются ею дна пробирки, и добавляют 4 капли (0,2 мл) сыворотки реципиента. Содержимое пробирок перемешивают встряхиванием, после чего их помещают на 45 мин в термостат при температуре +37 °С. По истечении указанного времени эритроциты вновь трижды отмывают и готовят 5% взвесь в физиологическом растворе. Далее 1 каплю (0,05 мл) взвеси эритроцитов на фарфоровую пластинку, добавляют 1 каплю (0,05 мл) антиглобулиновой сыворотки и перемешивают стеклянной палочкой. Пластинку периодически покачивают в течение 5 мин.

Учет результатов проводят невооруженным глазом или через лупу. Агглютинация эритроцитов свидетельствует о том, что кровь реципиента и донора несовместимы, отсутствие агглютинации является показателем совместимости крови донора и реципиента.

Проба на совместимость с применением 10% желатина

В пробирку вносят 1 небольшую каплю (0,02–0,03) мл эритроцитов донора, для чего выдавливают из пипетки небольшую каплю эритроцитов и касаются ею дна пробирки, добавляют 2 капли (0,1 мл) желатина и 2 капли (0,1 мл) сыворотки реципиента. Содержимое пробирок перемешивают встряхиванием, после чего их помещают в водяную баню на 15 мин или термостат на 30 мин при температуре +46–+48 °С. По истечении указанного времени в пробирки добавляют 5–8 мл физиологического раствора и перемешивают содержимое путем 1–2-кратного переворачивания пробирок. Результат учитывают, просматривая пробирки на свет невооруженным глазом или через лупу. Агглютинация эритроцитов свидетельствует о том, что кровь реципиента и донора несовместимы, отсутствие агглютинации является показателем совместимости крови донора и реципиента.

Проба на совместимость с применением 33% полиглюкина

В пробирку вносят 2 капли (0,1 мл) сыворотки реципиента 1 каплю (0,05) мл эритроцитов донора и добавляют 1 каплю (0,1 мл) 33% полиглюкина. Пробирку наклоняют до горизонтального положения, слегка потряхивая, затем медленно вращают таким образом, чтобы содержимое ее растеклось по стенкам тонким слоем. Такое растекание содержимого пробирки по стенкам делает реакцию более выраженной. Контакт эритроцитов с сывороткой больного при вращении пробирки следует продолжать не менее 3 мин. Через 3–5 мин в пробирку добавляют 2–3 мл физиологического раствора и перемешивают содержимое путем 2–3-кратного переворачивания пробирки, не взбалтывая. Результат учитывают, просматривая пробирки на свет невооруженным глазом или через лупу. Агглютинация эритроцитов свидетельствует о том, что кровь реципиента и донора несовместимы, отсутствие агглютинации является показателем совместимости крови донора и реципиента.

Диффузионно-адгезионные технологии

- Диффузионно-адгезионные пробы, или так называемые тиге все большее признание иммуносерологов. Эти методы, благодаря индустриальному воплощению, хорошо стандартизованы, просты и достаточно наглядна, более безопасны в отношении контаминации возбудителями гемотрансмиссивных инфекций, удобны для использования в конвейерном режиме.

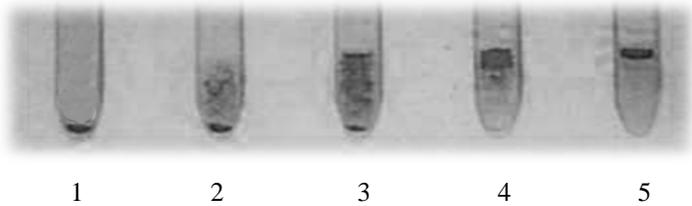


Рис.11. Результаты исследования диффузионно-адгезионным методом.

- ¹ отрицательный результат, эритроциты осели на дно микроколонки;
- ²⁻⁵ варианты положительного результата:
- ² +, взвесь в нижней части колонки и на дне (слабоположительный результат);
- ³ ++, взвесь над гелем, во всей колонке и на дне;
- ⁴ +++, взвесь над гелем и в верхней части колонки;
- ⁵ +++++, взвесь над гелем.

Принцип метода заключается в следующем. Микроколонки наполняют гелем, микроглобулы которого равны по диаметру эритроцитам. В гель добавляют антитела, детектирующие антигены. Далее над столбиком геля помещают каплю взвеси исследуемых эритроцитов, после чего микроколонки центрифугируют при температуре 37 °С.

С началом центрифугирования эритроциты диффундируют через верхний мениск геля. Проходя через щели между микроглобулами, они отмываются от сывороточных белков и таким образом лучше реагируют с содержащимися в геле антителами.

Если реакция связывания антиген – антитело произошла, образуются агглютинаты эритроцитов, размер которых существенно превышает размер микроглобул геля. В силу этого агглютинаты не могут

диффундировать через гель при центрифугировании и остаются на поверхности или (при слабой агглютинации) частично проникают в толщу геля.

Если агглютинация не произошла (отрицательный результат), эритроциты легко проходят через гель и оседают на дно колонки.

В зависимости от силы агглютинации картина диффузии варьирует (рис. 11).

На микроглобулах геля адсорбируются (самопроизвольно или искусственно пришиваются) тестирующие антитела. Если исследуемые эритроциты содержат соответствующий антиген, они не только агглютинируются антителами, но и адсорбируются на микроглобулах.

Таким образом, гелевые технологии по своей сущности являются одновременно диффузионным и адсорбционным процессом, в связи с чем авторы дали гелевым технологиям более точным определение – диффузионно-адгезионные технологии.

Вместо геля можно использовать стеклянные шарики, одинаковые по размеру с эритроцитами.

Как видим, в конструкции диффузионно-адгезионных проб сбалансированы в фокусе все оптимальные элементы (коллоидная среда, отмывание, центрифугирование, температура), способствующие связыванию антигена с антителом, выявляющие агглютинационную способность антител, как бы она ни была мала.

Тем не менее диффузионно-адгезионные технологии не являются универсальными и не лишены недостатков. В частности физика диффузионно-адгезионного процесса, заложенная в этом методе и являющаяся оптимальной для выявления большинства трансфузионно опасных антиэритроцитарных антител, является также оптимальной для выявления слабых антител, не имеющих значения в гемотрансфузиологии (анти- Le^a , анти- Le^b , анти-I и др.). Вместе с тем диффузионно-адгезионные пробы не выявляют некоторые трансфузионно опасные антитела (анти- Jk^a , анти- Jk^b) и трансфузионно не опасные (анти- A_1) или выявляют их значительно хуже, чем традиционные методы.

Высокая чувствительность диффузионно-адгезионных технологий при выполнении пробы на индивидуальную совместимость в ряде случаев (более 5 %) чрезмерна и приводит к ложноположительным

результатам, что затрудняет подбор совместимой донорской крови, вынуждает отказаться от гемотрансфузий, которые необходимы и вполне безопасны для реципиентов, требует дополнительного (часто дефицитного) времени для поиска других доноров.

Менее (но достаточно) чувствительные традиционные пробы на индивидуальную совместимость (с 10% желатином, 10% полиглюкином, непрямая проба Кумбса), не выявляющие до 20 % слабых, трансфузионно не опасных антител, дают более адекватные результаты и в подобных ситуациях более предпочтительны.

Теория чувствительности иммуносерологических методов исследования

Накопленные в течение последних лет многочисленные данные о неодинаковом химическом строении и многообразии пространственной структуры антиэритроцитарных антител свидетельствуют об их выраженном полиморфизме. Судя по многочисленным наблюдениям иммуносерологов практиков, включая авторов, и имеющимся в литературе данным, можно заключить, что полиморфизм антител может проявляться серологически в виде неодинакового реагирования одних и тех же антител в разных методах, в разных солевых, коллоидных и ферментных растворах.

Не все методы выявления антител обладают одинаковой чувствительностью. Простой в исполнении метод с 33% полиглюкином не позволяет выявить некоторые антитела анти-К, анти-с, анти-Е, присутствующие в сыворотке в низком титре, а также антитела к антигенам Duffy и Kidd. В то же время, метод с 10% желатином дает возможность выявить большинство из указанных антител, в том числе с низким титром. Встречаются антитела (анти- Jk^a), взаимодействующие с эритроцитами только в непрямой антиглобулиновой пробе. Непрямой антиглобулиновый тест более чувствителен и выявляет больший спектр антител. Чувствительность ферментных методов высока по отношению к антителам системы Rh, Lewis и P. Некоторые исследователи описывают клинически значимые антитела, выявляемые только при использовании ферментных методов. В поликатионном

тесте с полибренном отмечены сбои при выявлении антител анти-К и анти-Fy^a.

Имеются сведения о различии моно- и поликлональных анти-К-антител, полученных от одного донора, что свидетельствует о полиморфизме антител в такой, казалось бы, серологически четко очерченной антигенной системе, как Kell-Cellano. Полиморфизм антител, имеющих одну и ту же специфичность, может способствовать или, наоборот, препятствовать их выявлению.

Уместно подчеркнуть, что серологические свойства антител и особенности реагирования в том или ином методе зависят не только от их структуры, концентрации и количественного соотношения с антигеном, но и других факторов: дополнительных ингредиентов, используемых в реакции, рН, ионной силы раствора и температуры, при которой проводят реакцию. В иммуносерологических тестах, основанных на реакции агглютинации, одни и те же физические параметры могут в одном случае способствовать, а в другом препятствовать реакции, уменьшая или, напротив, увеличивая чувствительность метода.

Антиэритроцитарные антитела способны взаимодействовать с соответствующим антигеном в определенном интервале температур. Антитела IgM реагируют с большей эффективностью при относительно низкой температуре (4–22 °С), тогда как антитела IgG лучше выявляются при температуре 37–48 °С. Мало что известно о гибридных антителах – несепарируемых молекулах, в которых могут одновременно присутствовать две специфичности: одна со свойством IgM, реагирующая в солевой среде, другая – со свойством IgG, реагирующая в коллоидной среде.

Для большинства клинически значимых антител оптимальное значение рН строго не определено. Некоторые образцы антител лучше реагируют при низком значении рН, особенно анти-М и анти-Р. Реактивность антител уменьшается при снижении рН. Обычно в рутинных тестах устанавливают нейтральное значение рН – около 7,0. Если рН ниже 6, антитела к антигенам Rh, Duffy, Kidd, MNS в серологических реакциях могут утратить или слабо проявить свою активность.

Использование фосфатного буфера позволяет стабилизировать рН и эффективнее детектировать антитела, реагирующие при низких значениях рН.

Время взаимодействия и выраженность реакции с антигеном неодинаковы для антител, относящихся к различным групповым системам крови. Для некоторых антител увеличение времени инкубации до 60 мин усиливает агглютинацию. Однако увеличение длительности инкубации иногда оказывает и отрицательный эффект, например, при использовании раствора низкой ионной силы (РНИС) или полиэтиленгликоля. Для методов, в которых используется антиглобулиновая сыворотка, 30-минутная инкубация при 37 °С является достаточной для выявления большинства клинически значимых антител. Однако для некоторых слабых антител этот промежуток времени оказывается недостаточным, поэтому для повышения чувствительности теста иногда требуется увеличить время инкубации.

В нормальном солевом растворе ионы Na^+ и Cl^- нейтрализуют электрический заряд на молекулах антигена и антитела. Это может приводить к ослаблению взаимодействия антигена с антителом. Снижение ионной силы реагирующей смеси позволяет избежать этого. При низкой концентрации соли в системе, содержащей сыворотку и эритроциты, увеличивается скорость присоединения антител, сокращается время, необходимое для инкубации.

На скорость взаимодействия антигена с антителом влияют также концентрация антител и количество антигенных сайтов, приходящих на один эритроцит. Искусственное повышение концентрации антител, соответственно, увеличивает чувствительность метода. В редких случаях избыток антител приводит к ингибированию агглютинации – феномену прозоны.

Полиморфизм антител обуславливает не только неодинаковое клиническое значение антител в трансфузиологической практике, но и сказывается на возможности детекции их тем или иным методом.

Таблица 13

Протокол титрования антител, не выявленных некоторыми методами

№ п/п	Антитела к антигену	Титр антител при использовании							Субкласс Ig
		реакции с 33% полиглобином	реакции с 10% желатином	непрямой пробы Кумбса	2-этапной пробы	ферментного метода	Кумбс-фермент	гелевого метода	
1	D	0	0	0	0	Ц	Ц	0	IgG 2,4
2	D	0	Ц	Ц	Ц	2	4	2	IgG 2,4
3	D	0	0	0	0	2	4	2	IgG 1
4	D	0	0	2	2	2	4	4	IgG 1
5	D	0	0	0	0	2	4	4	IgG 1
6	D	0	0	0	0	2	4	2	IgG 1
7	D	0	0	0	0	2	4	2	IgG 1,3
8	C	2	2	0	2	2	4	4	IgG 3
9	E	0	2	4	4	4	8	8	IgG 1
10	E	0	4	4	4	4	8	16	IgG 1
11	E	0	2	2	2	2	4	4	IgG 1,3
12	E	2	0	4	4	2	4	4	IgG 2,4
13	c	0	Ц	Ц	Ц	2	2	2	IgG 1
14	c	0	0	Ц	Ц	Ц	Ц	2	IgG 1
15	c	0	0	0	0	2	2	4	IgG 1
16	C ^w	0	2	2	2	4	4	2	IgG 1
17	K	0	4	8	8	0	0	8	IgG 1
18	K	0	2	2	2	8	8	8	IgG 1
19	K	0	2	4	8	0	0	8	IgG 1
20	K	0	64	128	128	64	256	256	IgG 1
21	K	0	8	8	8	0	8	8	IgG 3
22	K	0	2	4	4	0	4	4	IgG 2,4

0 – антитела не выявлены

Ц – антитела выявлены в цельной сыворотке (не титруются)

2, 4, 8 и т. д. – титр 1:2, 1:4, 1:8 и т. д.

Нами было установлено (табл. 13), что антитела, имеющие относительно низкий титр (1:2–1:4 при титровании методом с 10% жела-

тином), не всегда удается выявить методом с 33% полиглоукином (строки 9–11, 16–19, 22). К образцам с невыявленными антителами относились сыворотки, содержащие антитела системы Rh (анти-D, анти-E, анти-C и анти-C^w) и системы Kell (анти-K). Несмотря на то, что антитела проявляли незначительную активность и присутствовали в низком титре, они хорошо идентифицировались другими методами.

Некоторые сыворотки представляли собой исключение. Антитела, содержащиеся в них, с трудом выявлялись в пробе Кумбса (строки 1, 3, 5–8, 15), гелевом методе (строка 1), в то время как с помощью метода Кумбс-фермент они четко выявлялись и в цельной сыворотке, и взятой в разведении.

Отдельные анти-K-антитела не выявлялись в ферментном методе (строки 17, 19), что связано не только с модификацией K-антигена протеолитическими ферментами, как указывают некоторые авторы, но и, по-видимому, с физико-химическими свойствами самих антител.

Принадлежность к тому или иному субклассу IgG также обуславливает серологический полиморфизм антител и их способность вызвать *in vivo* разрушение эритроцитов, имеющих на мембране соответствующий антиген.

Из 22 трудно детектируемых образцов антител 14 (63,6 %) относились к IgG1 (табл. 13). На долю антител IgG3 пришлось 2 образца (9,1 %) из указанного количества. Комбинированные антитела, IgG1+IgG3, встречались также в 9,1 % случаев. Интересно отметить, что 4 образца (более 18 %) из невыявленных антител относились к IgG2, IgG4, что свидетельствует в пользу того, что существенное число недетектируемых антител относится к клинически незначимым.

Таблица 14

Частота распределения субклассов IgG в образцах антител, не выявляемых каким-либо из методов

Метод исследования	Количество сывороток, в которых антитела не выявлялись	Количество сывороток, антитела которых относились к субклассу			
		IgG 1	IgG 3	IgG 1+3	G2 и/или G4
Реакция с 33% полиглюкином	20	14	1	2	3
Реакция с 10% желатином	9	6	0	1	2
Непрямая проба Кумбса	7	4	1	1	1
2-этапная проба	6	4	0	1	1
Ферментный метод	4	2	1	0	1
Кумбс-фермент	2	2	0	0	0
Гелевый метод	1	0	0	0	1

Методом с 33% полиглюкином не были выявлены 20 образцов антител, из них 17 образцов (85 %) принадлежали к субклассам IgG1 и IgG3 (табл. 14). Примерно такое же распределение наблюдали при использовании непрямой пробы Кумбса: из 7 сывороток в 6 случаях (85,7 %) не выявленные антитела относились к иммуноглобулинам G1 и G3. В желатиновом методе 7 из 9 не выявленных образцов антител (около 78 %) относились к IgG1 и IgG3, а 2-этапной модернизированной пробой не детектировано 5 образцов (83,3 %) IgG1 и IgG3 из 6 сывороток. Для ферментного метода было характерно следующее соотношение не выявленных субклассов антител: из 4 сывороток в 3 (75 %) имелись антитела IgG1 и IgG3, в 1 антитела этих субклассов отсутствовали. В методе Кумбс-фермент не выявлены 2 образца антител, относящихся к IgG1. В гелевом методе не выявлен 1 образец антител, принадлежащих к IgG2 и/или IgG4.

Не все исследованные антитела проявляли гемолитические свойства. Из 204 сывороток только 19 (9,3 %) обладали гемолитической активностью, что еще раз свидетельствует о полиморфизме антиэритроцитарных антител, разнообразии их поведения в иммуносерологических реакциях и, очевидно, неодинаковой клинической значимости.

Частота антител, обладающих и не обладающих гемолитическими свойствами, в зависимости от их активности (титра)

Специфичность антител	Количество исследованных образцов			Количество сывороток							
	всего	с низким титром	с высоким титром	обладающих гемолитическими свойствами.				не обладающих гемолитическими свойствами			
				с низким титром.		с высоким титром		с низким титром.		с высоким титром	
				абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Анти-D	82	27	55	5	18,5	5	9,1	22	81,5	50	90,9
Анти-C	5	4	1	0	0	0	0	4	100	1	100
Анти-DC	36	6	30	0	0	1	3,3	6	100	29	96,7
Анти-DCE	13	0	13	0	0	1	7,7	0	0	12	92,3
Анти-DE	4	0	4	0	0	0	0	0	0	4	100
Анти-CE	2	2	0	0	0	0	0	2	100	0	0
Анти-с	16	9	7	1	11,1	0	0	8	88,9	7	100
Анти-E	18	11	7	1	9,1	1	14,3	10	90,9	6	85,7
Анти-Ce	2	0	2	0	0	0	0	0	0	2	100
Анти-C ^w	5	3	2	0	0	0	0	3	100	2	100
Анти-DCK	2	0	2	0	0	0	0	0	0	2	100
Анти-DCEK	4	0	4	0	0	1	25	0	0	3	75
Анти-сК	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	100
Анти-K	13	7	6	2	28,6	1	16,7	5	71,4	5	83,3
Анти-DK	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	100
Всего	204	69	135	9	13	10	7,4	60	87	125	92,6

Гемолиз чаще регистрировался в образцах, содержащих антитела к антигенам системы Rh (табл. 15). В частности, сывороток с анти-D-антителами, проявляющими комплементсвязывающую способность, было 10. Гемолиз наблюдали также с 10 образцами анти-D-антител, 3 образцами анти-K, 2 – анти-E, по 1 – анти-DCEK, -DC, -DE и -с. Наибольшая частота антител, проявляющих комплементсвязывающие и гемолитические свойства, приходилась на анти-D и анти-K, что еще раз характеризует анти-D- и анти-K-антитела как наиболее

трансфузионно опасные. Третье и четвертое место, исходя из полученных нами данных, занимают анти-Е- и анти-с-антитела.

В группе сывороток с относительно низким титром антител (1:2–1:32) 13 % (9 из 69) обладали гемолитическими свойствами. Среди сывороток с относительно высоким титром антител (1:64–1:2 048) частота образцов, проявляющих гемолитические свойства, была в 2 раза ниже – 7,4 % (10 из 135 сывороток).

Полученные данные свидетельствуют о том, что антитела, имеющие относительно низкую активность и титр, могут рассматриваться в отдельных случаях как фактор риска посттрансфузионных гемолитических осложнений, как и антитела с высокой серологической активностью.

Таблица 16

Активность и субкласс антител, обладающих гемолитическими свойствами

№ п/п	Специфичность антител	Титр антител*	Степень гемолиза, %	Субкласс Ig
1	Анти-D	1:64	3	IgG 1,3
2	Анти-D	1:32	3	IgG 1,3
3	Анти-D	1:8	25	IgG 1
4	Анти-D	1:4	6	IgG 1
5	Анти-D	1:16	6	IgG 1
6	Анти-D	1:256	6	IgG 1,3
7	Анти-D	1:128	12	IgG 1,3
8	Анти-D	1:32	3	IgG 3
9	Анти-D	1:128	25	IgG 1
	Анти-С	1:32		
10	Анти-D	1:128	3	IgG 3
	Анти-С	1:32		
	Анти-Е	1:2		
11	Анти-с	1:16	6	IgG 3
12	Анти-Е	1:64	12	IgG 1,3
13	Анти-D	1:512	6	IgG 1
	Анти-С	1:64		
	Анти-Е	1:32		
	Анти-К	1:8		
14	Анти-К	1:4	6	IgG 1
15	Анти-К	1:8	6	IgG 3
16	Анти-К	1:32	6	IgG 1

* в желатиновом методе

Антитела, обладающие гемолитической активностью, относились к субклассу IgG1 и IgG3 или представляли собой смесь IgG1+IgG3 (табл. 16). Среди этих антител образцы, не содержавшие IgG1 и IgG3, как мы и предполагали, обнаружены не были.

Как указывают Lynen с соавт. (1994), Garner с соавт. (1995) и Asmussen с соавт. (1996), антитела, относящиеся к IgG1 и IgG3, в большей мере обладают комплементсвязывающей активностью и, соответственно, имеют большее клиническое значение.

Высота титра и специфичность антител в наших исследованиях не коррелировала с уровнем их гемолитической активности. Однако наблюдалась тенденция увеличения степени гемолиза в сыворотках, содержащих анти-D-антитела.

Для характеристики серологических параметров антиэритроцитарных антител исследовали их способность агглютинировать эритроциты на плоскости при комнатной температуре в комбинации с фикоколл-верографинном – конглютинином, способствующим проявлению агглютинирующей активности неполных антител на плоскости при комнатной температуре. Исследование проводили путем смешивания исследуемой сыворотки с фикоколл-верографинном 3 к 1, и далее 1 каплю смеси соединяли на плоскости с нативными эритроцитами. Результат реакции учитывали визуально через 5 мин по наличию или отсутствию агглютинации при покачивании пластинки.

Таблица 17

Протокол исследования сывороток на плоскости в комбинации с фикоколл-верографинном

Специфичность антител	Количество исследованных образцов	Частота антител			
		реагирующих на плоскости		не реагирующих на плоскости	
		в абсолютных цифрах	в %	в абсолютных цифрах	в %
Анти-D	31	3	9,6	28	90,4
Анти-DC	4	0	0	4	100
Анти-E	6	0	0	6	100

Анти-с	6	3	50	3	50
Анти-К	4	2	50	2	50
Всего	51	8	15,6	43	84,4

Как было показано (табл. 17), из 51 сыворотки 8 (15,6 %) образцов антиэритроцитарных антител обладали способностью агглютинировать нативные эритроциты на плоскости в присутствии фиколл-верографина.

Из всех исследованных сывороток агглютинация на плоскости чаще регистрировалась в образцах, содержащих антитела к антигенам системы Rh. В частности, сывороток с анти-D-антителами, реагирующими на плоскости было 3 (5,8 %) из 51. Образцы с анти-с-антителами также встречались в 5,8 % случаев. Подобные серологические свойства антител наблюдали также с 2 (3,9 %) образцами анти-К-антител.

Количество сывороток анти-D (анти-DC), реагирующих на плоскости, равнялось 3 из 35, что составило 8,5 %. Из сывороток анти-с на плоскости в комбинации с фиколл-верографинном реагировала половина образцов: 3 (50 %) из 6. Такое же распределение наблюдали при исследовании сывороток анти-К: 2 образца (50 %) агглютинировали эритроциты, 2 – не агглютинировали. Сыворотки анти-Е, взятые в комбинации с фиколл-верографинном, с эритроцитами на плоскости при комнатной температуре не реагировали.

Полученные нами данные еще раз свидетельствуют о большом разнообразии антиэритроцитарных антител и полиморфизме иммуносерологических реакций.

Лаборатории, где проводится скрининг антител, должны располагать не менее чем двумя методами рутинного и аналитического исследования, поскольку ни один из отдельно взятых методов детекции не является абсолютно универсальным для всего разнообразия встречающихся антител.

На первый взгляд, результаты сравнения методов определения антиэритроцитарных антител дают основание поставить вопрос о нецелесообразности дальнейшего использования метода с 33% полиглиукином и с 10% желатином в практике работы лечебно-профилактических учреждений Российской Федерации.

В настоящее время существуют более чувствительные методы детекции антител – хроматографический, ультрафильтрация в геле, модификации методов Кумбс-фермент, в экспертных случаях молекулярно-биологические методы.

Однако поставим вопрос в дискуссионной плоскости.

Нужна ли высокая чувствительность и какова должна быть ее степень? Многие специалисты полагают (и это показывает практика), что слабые антитела не вызывают посттрансфузионных осложнений, а возникающие в отдельных случаях реакции достаточно легко купируются десенсибилизирующими средствами и глюкокортикоидами.

Кроме того, существуют антитела, которые очень сильно реагируют *in vitro*, но *in vivo* никак себя не проявляют, например: холодовые агглютинины анти-I, анти- Le^a и Le^b , анти-N, анти- Xg^a , антитела системы Chido/Rodgers и др.

Гелевые и комбинированные ферментные технологии, как более чувствительные по сравнению с полиглокиновым и желатиновым методами, выявляют эти трансфузионно индифферентные антитела и тем самым лишь затрудняют подбор подходящей гемотрансфузионной среды.

Желатиновый и полиглокиновый методы, несмотря на их не столь высокую чувствительность, хорошо зарекомендовали себя в многолетней практике отечественных учреждений службы крови. Их использование позволяет вполне надежно профилактировать посттрансфузионные осложнения и реакции, обусловленные антиэритроцитарными антителами. Предпочтение этих методов иммуносерологами мотивировалось принципом разумной достаточности.

Сверхчувствительные методы неприемлемы в рутинной практике в той же мере, как и малочувствительные. В этой градации желатиновый и полиглокиновый методы занимают промежуточное положение, в связи с чем, а также благодаря простоте, дешевизне и надежности получили быстрое и широкое распространение в нашей стране.

Неправильно рекламировать чувствительность метода как главное потребительское свойство, которое должно определять выбор. Этим часто грешит реклама.

Чувствительность метода не должна быть высокой или сверхвысокой, она должна быть достаточной для детекции трансфузионно опасных антиэритроцитарных антител, именно трансфузионно опасных антител, а не каких-либо других антител или глобулинов, не относящихся к антителам, но адсорбирующихся на эритроцитах.

Чувствительность методов выявления антител может быть повышена до чрезвычайно высоких степеней. Вместе с тем она, по видимому, не беспредельна.

В настоящее время все методы детекции антиэритроцитарных антител основаны на реакции агглютинации, иными словами, выведении эритроцитов из состояния суспензионной стабильности с помощью антител. Сильные антитела легко смещают суспензионную стабильность эритроцитов в сторону агрегации, слабые антитела могут не достигать этого эффекта.

Таким образом, чувствительность агглютинационных методов ограничивается рамками суспензионной стабильности эритроцитов. Чем меньше вклад антител в выведение эритроцитов из состояния суспензионной стабильности, тем чувствительнее метод.

Полные антитела не нуждаются в синергизме среды. Они самостоятельно агглютинируют эритроциты и в солевой и в коллоидной среде.

Неполные антитела требуют синергизма среды. Для проявления агглютинирующей способности им требуется коллоидный раствор.

Чем слабее антитела, тем большего усиления они требуют.

Что мы понимаем под суспензионной стабильностью эритроцитов, будь то собственно взвесь или осадок – уплотненная взвесь, без склеивания?

Как и другие корпускулярные взвеси, взвесь эритроцитов характеризуется физико-химическим состоянием. Определенные силы поддерживают эритроциты в растворе, не давая им склеиваться. В основном это одноименный отрицательный электрический заряд водной оболочки, окружающей эритроцит, и движение эритроцитов, если система циркулирующая.

Суспензионную стабильность эритроцитов легко нарушить добавлением во взвесь коллоидов, дегидратирующих оболочку эритро-

цитов и лишаящих ее отталкивающих свойств, или спирта. Коллоиды действуют обратимо, спирт дегидратирует мембрану необратимо для иммуносерологических исследований, вызывает необратимую агрегацию эритроцитов (добавление физиологического раствора натрия хлорида не ресуспендирует эритроциты из сформировавшихся агрегатов).

Лишенные суспензионной стабильности эритроциты (приблизившиеся на критическое расстояние) становятся доступным объектом для агглютинирующего действия неполных IgG-антител, которые в обычных условиях (в отсутствие достаточной концентрации коллоидов) не способны агглютинировать эритроциты.

Центрифугирование – еще один элемент, способствующий проявлению агглютинирующего действия неполных антител.

Обработка протеолитическими ферментами не только лишает эритроциты суспензионной стабильности, но и открывает дополнительные антигенные участки для специфических и неспецифических антител, а также сопутствующих агглютинации белков (комплемента и других компонентов сыворотки крови, участвующих в полиагглютинации).

Однонаправленное воздействие: центрифугирование, добавление коллоида или спирта вызывает агрегацию эритроцитов. Одновременное воздействие нескольких факторов: например, центрифугирование в коллоидной среде доводит суспензию эритроцитов до крайней точки, после которой склеивание эритроцитов происходит и без участия специфических антител. Эта крайняя точка и является порогом чувствительности агглютинационных методов.

Если в основу метода положить другой принцип учета реакции – не агглютинацию, то порог чувствительности метода будет измеряться другими качественными и количественными показателями. Например, если детектируется только сам факт адсорбции (соединения) антител с мембраной эритроцитов или учитывается минимальное количество молекул антител, адсорбированных на поверхности одного эритроцита, то чувствительность детекции может многократно возрасти, поскольку данный способ учета будет результативным даже

в тех случаях, когда антитела реагируют с антигеном, но не могут вызывать агглютинации эритроцитов.

Если принцип определения антител основан на учете взаимодействия антител с растворимыми антигенами (а не эритроцитами), возможно достижение еще более высокой степени чувствительности метода.

Каким нам представляется дальнейший возможный путь повышения чувствительности методов обнаружения антиэритроцитарных антител с целью профилактики посттрансфузионных осложнений и реакций? Обнаружение преантител, далее детекция респондерства на данный вид антигена. Прогнозирование появления антител (при их фактическом отсутствии) по типу реакции иммунокомпетентных клеток или по факту готовности их к этой реакции, установление потенциального репертуара антител.

Ошибки при определении групп крови

Во избежание ошибок при определении групповой и резус-принадлежности крови необходимо четко знать их источники. Ошибки возникают при нарушении техники выполнения исследования и в случаях трудноопределимых групп крови.

Технические ошибки:

1. Порядок расположения реагентов.
2. Соотношения тестовых реактивов.
3. Температурные условия.
4. Продолжительность наблюдения.
5. Выпадение фибрина.
6. Агглютинация, маскированная гемолизом.
7. Неправильная запись.

Ошибки, обусловленные биологическими особенностями исследуемой крови (трудноопределимые группы крови):

1. Подгруппы крови.
2. Неспецифическая агглютинация.

3. Агглютинация, обусловленная другими антителами.
4. Особенности групп крови новорожденных.
5. Кровяные химеры.
6. Другие особенности.

Технические ошибки

Порядок расположения реагентов. Если нарушен порядок расположения реагентов в штативе или на пластинке, то при правильной оценке результата с каждой отдельно взятой сывороткой можно сделать неправильное заключение о групповой и резус-принадлежности исследуемой крови. Поэтому каждый раз при определении группы крови следует проверить расположение реагентов, а также визуально оценить их качество, исключив использование помутневших, подсохших реагентов, с истекшим сроком годности.

Соотношение реагентов и исследуемых эритроцитов. Оптимальное для реакции агглютинации соотношение эритроцитов и тестовых реагентов – 1 : 10 при использовании гемагглютинирующих сывороток, 2–3 : 10 при использовании моноклональных реагентов и реагентов, приготовленных в комбинации с коллоидами.

Как при избытке, так и при недостаточном количестве эритроцитов агглютинация медленно появляется и может быть не замечена, особенно в тех случаях, когда агглютинационные свойства эритроцитов снижены (подгруппа A_2 , эритроциты D^u).

Температурные условия. Определение группы крови производят при температуре не ниже 15 °С, поскольку исследуемая кровь может содержать поливалентные холодовые агглютинины, вызывающие неспецифическое склеивание эритроцитов при пониженной температуре (холодовая агглютинация).

При повышенной температуре (более 25 °С) антитела анти-А, анти-В и анти-АВ реагируют менее активно, чем при комнатной температуре (22 °С), поэтому определение группы крови производят при температуре не выше 25 °С. Нарушение температурных условий при определении группы крови может привести к искажению результатов.

Продолжительность наблюдения. Агглютинация эритроцитов появляется в течение 10–30 с, однако наблюдение за ходом реакции следует проводить не менее 5 мин, внимательно наблюдая те капли, в которых агглютинация не появилась. Это позволяет выявить слабые агглютиногены A_2 и D^u , характеризующиеся замедленной агглютинацией. Длительное выдерживание проб на пластинке приводит к их подсыханию и появлению в зоне подсыхания агрегатов эритроцитов, которые создают ошибочное впечатление положительной реакции. В сомнительных случаях исследование повторяют.

Выпадение фибрина. Исследование свежей цельной крови, взятой без антикоагулянта, иногда может сопровождаться ее свертыванием, что в некоторых случаях делает невозможным учет результата. Капля приобретает желеобразную консистенцию, плохо перемешивается при покачивании пластинки. Выпадение фибрина особенно проявляется, если пластинку, на которую помещена реагирующая смесь, слишком долго оставляют лежать на столе не покачивая. Выпадение фибрина может быть связано с особенностями свертывающей системы крови исследуемого, а также с избытком хлорида кальция в тестовых сыворотках, если последние были приготовлены из плазмы крови путем дефибрирования указанным препаратом. При внимательном рассмотрении легко различить белесоватые нити и глыбки фибрина, между которыми концентрируются эритроциты, имитируя мелкозернистую агглютинацию. Для получения четких результатов исследование крови выполняют заново, используя для этого тестовые реактивы, приготовленные из нативных сывороток, или моноклональные антитела. В случае каких-либо сомнений следует дождаться полного свертывания крови в пробирке, после чего использовать для исследования так называемую третью фракцию эритроцитов (осадок эритроцитов на дне пробирки, не вовлеченных в сгусток) или заготовить исследуемую кровь с антикоагулянтом.

Агглютинация, маскированная гемолизом. Сыворотки крови отдельных лиц содержат активные гемолизины анти-А (реже анти-В), которые могут лизировать стандартные эритроциты до начала агглютинации, что создает впечатление отсутствия последней. Гемолиз предотвращают путем разведения сыворотки физиологическим рас-

твором или посредством непродолжительного прогревания сыворотки при температуре 56 °С.

Имеют место случаи, когда вместо физиологического раствора в смесь сыворотки и эритроцитов ошибочно добавляют воду, предназначенную для промывания пипеток, что тоже вызывает лизис как неагглютинированных, так и агглютинированных эритроцитов. Ошибка распознается по внешнему виду реагирующей смеси, которая на глазах из красной опалесцирующей взвеси превращается в прозрачную алую жидкость – «лаковую кровь».

Неправильная запись. При правильном определении групповой принадлежности результат исследования может быть неверно записан или неверно перенесен из одного документа в другой.

Трудноопределимые группы крови

Подгруппы крови. Антиген А (редко В) представлен двумя вариантами (подгруппами) – A_1 и A_2 . Эритроциты A_2 отличаются от эритроцитов A_1 сниженной агглютинационной способностью (слабой агглютинабельностью) по отношению к антителам анти-А. Подгруппы крови в клинической трансфузиологии значения не имеют, поэтому при переливании эритроцитов их не учитывают. Лицам, имеющим антиген A_2 , можно переливать эритроциты A_1 ; лицам, имеющим антиген A_1 , можно переливать эритроциты A_2 . Исключение составляют реципиенты, имеющие экстраагглютинины α_1 и α_2 . Эти антитела не вызывают посттрансфузионных осложнений, однако проявляют себя в пробе на индивидуальную совместимость на плоскости при комнатной температуре. В частности сыворотка реципиента $A_2\alpha_1\beta$ агглютинирует эритроциты A_1 на плоскости или в пробирках при комнатной температуре, поэтому реципиентам $A_2\alpha_1\beta$ (II) переливают совместимые эритроциты O(I), реципиентам $A_2B\alpha_1$ (IV) переливают совместимые эритроциты B(III) или O(I). Существуют и другие варианты слабого антигена А: A_{int} , A_3 , A_4 , A_x , A_{finn} и A_{end} , отличающиеся еще более слабой агглютинабельностью (см. гл. Системы АВО и Hh).

При наличии у реципиента слабо выраженного антигена D^u последний может быть не выявлен экспресс-методами определения ре-

зус-фактора, поскольку тестовые реагенты, приготовленные на основе коллоидных растворов, плохо выявляют D^u , моноклональные реагенты IgM, высоко активные в отношении антигена D, антиген D^u не выявляют. Такие ошибки не приводят к посттрансфузионным осложнениям, так как реципиенту переливают резус-отрицательную кровь. Они обнаруживаются, когда больной поступает в другое лечебное учреждение, где определение резус-фактора производится специалистами иммуносерологами в лабораторных условиях другими методами.

Неспецифическая агглютинация. В основе неспецифической агглютинации эритроцитов, образования монетных столбиков, лежат определенные специфические механизмы. Клеточные суспензии, в особенности эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, как физическое состояние весьма нестабильны: клетки быстро оседают, легко агрегируются. Присоединение антител изменяет электрический заряд эритроцитов, нарушает их суспензионную стабильность. Последняя нарушается не только под действием антитела, но и целого ряда других факторов: белкового, солевого состава среды, состояния свертывающей системы крови, гормонального фона.

В практической работе «неспецифической» называют неожиданную, атипичную агглютинацию, не свойственную конкретной групповой антигенной системе. О неспецифической агглютинации судят на основании способности эритроцитов агглютинироваться сыворотками всех групп, включая АВ(IV). Неспецифическая агглютинация наблюдается при аутоиммунной гемолитической анемии и других аутоиммунных заболеваниях, сопровождающихся адсорбцией аутоантител или компонентов комплемента на эритроцитах, при гемолитической болезни новорожденных, эритроциты которых нагружены аллоантителами матери. Видимость агглютинации могут создавать "монетные столбики". Невооруженным глазом их трудно отличить от истинной агглютинации. Если смешанную экстенпоре каплю эритроцитов с сывороткой поместить под микроскоп, можно наблюдать, как эритроциты складываются в монетные столбики, которые быстро увеличиваются в длину и агрегируются, в отличие от истинной агглю-

тинации, при которой агрегация эритроцитов начинается тотчас после перемешивания с сывороткой, минуя стадию монетных столбиков.

При наличии неспецифической агглютинации эритроцитов с тестовыми реагентами анти-А, анти-В, анти-Д и другими необходимо провести пробу со стандартной сывороткой АВ(IV), не содержащей антител, и физиологическим раствором хлористого натрия. В противном случае реципиент может быть ошибочно отнесен к группе АВ(IV)Rh+, что повлечет за собой неправильный выбор донора.

Неспецифическое склеивание эритроцитов, как правило, нестойкое. После добавления 1–2 капель физиологического раствора и покачивания пластинки неспецифические агрегаты распадаются. Однако наблюдаются случаи, когда неспецифическая агглютинация не устраняется ни при добавлении физиологического раствора, ни при многократном отмывании эритроцитов теплым физиологическим раствором (см. панагглютинация).

Если из-за неспецифической агглютинации эритроцитов группу крови больного установить не удастся, заключение о групповой принадлежности крови не выдают, образец крови направляют в специализированную лабораторию. По жизненным показаниям больному переливают эритроциты группы О(I).

В основе неспецифической агглютинации могут лежать разные механизмы.

Феномен Томсена. Сущность этого феномена заключается в том, что эритроциты, независимо от групповой принадлежности, хранившиеся при комнатной температуре в течение суток или более и до того не проявлявшие склонности к неспецифическим реакциям, начинают агглютинироваться всеми тестовыми сыворотками, включая сыворотку АВ(IV) и собственную. Подобное реагирование может привести к неправильному заключению при определении групповой и резус-принадлежности крови. Все исследуемые образцы эритроцитов, в том числе эритроциты группы О(I)Rh–, могут быть отнесены к АВ(IV)Rh+.

Феномен Томсена чаще наблюдается с отмывыми эритроцитами, чем с эритроцитами, хранящимися в плазме или сыворотке. Он обусловлен попаданием во взвесь эритроцитов коринобактерий, кишеч-

ной палочки, протея, микроорганизмов, содержащихся в аэропланктоне. Бактерии, выделяя биологически активные вещества, вызывают ферментативный процесс в эритроцитах, в результате которого высвобождаются скрытые до этого антигенные рецепторы. Основанием для такого заключения послужили эксперименты с эритроцитами, обработанными протеолитическими ферментами животного, растительного и бактериального происхождения (трипсин, папаин, протелин и др.).

В настоящее время выделена система антигенов T-Tn, которые активируются протеолитическими ферментами (Tn-активация). Антигены Tn присутствуют на эритроцитах большинства людей, так же как в сыворотке крови большинства людей содержатся анти-Tn-антитела. Посттрансфузионных осложнений Tn-антитела не вызывают, однако могут исказить результат определения групповой принадлежности реципиента, что может привести к этому осложнению.

Панагглютинация. Неспецифическая агглютинация наблюдается не только с эритроцитами, трансформированными бактериальной флорой, как при феномене Томсена. Сыворотки крови как выдержанные стандартные, так и свежезаготовленные от пациента могут неспецифически агглютинировать свежие, неконтаминированные эритроциты. Это явление получило название панагглютинация. Различают несколько типов панагглютинации.

Первый тип (по Н.И. Блинову, 1940) – полная панагглютинация, когда сыворотка пациента агглютинирует стандартные эритроциты всех групп и свои собственные, а эритроциты пациента агглютинируются всеми стандартными сыворотками. В этих случаях группу крови и резус-фактор определить обычным способом без специальных приемов невозможно.

Второй тип – неполная панагглютинация, когда сыворотка пациента агглютинирует стандартные эритроциты всех групп и свои собственные, а эритроциты пациента специфически агглютинируются стандартными сыворотками. По эритроцитам группа крови легко устанавливается, однако перекрестная проба, а также проба на индивидуальную совместимость дает ложноположительные результаты, на которые нельзя ориентироваться.

Третий тип – эритроциты пациента, как при феномене Томсена, агглютинируются всеми сыворотками, включая собственную, а сыворотка пациента специфически реагирует со стандартными эритроцитами.

Панагглютинацию второго и третьего типа называют также аутоагглютинацией, поскольку и в первом, и во втором случае эритроциты агглютинируются собственной сывороткой. Аутоагглютинация иногда легко обнаруживается без проведения какого-либо иммуносерологического исследования – при осмотре пробирки, в которую взята кровь пациента. На стенках пробирки видны характерные потеки агглютинатов. В таких случаях, как правило, аутоагглютинация наблюдается в физиологическом растворе хлорида натрия.

Панагглютинация, как и другие проявления неспецифической агглютинации, не имеет закономерной связи с какой-либо определенной патологией. Она может сопутствовать, но необязательно, септическим состояниям, циррозу печени, кахексии, ожоговой болезни, нефрозонефриту. Панагглютинация отмечается у больных, которым в процессе реанимации проведена интенсивная трансфузионно-инфузионная терапия: перелиты эритроциты, плазма, коллоидные растворы, введены гормоны, транквилизаторы, антигистаминные препараты. Сыворотка крови таких пациентов нередко представляет собой желатинизированный сгусток и дает атипичные реакции, что должно сразу же насторожить лаборанта.

Агглютинация, обусловленная другими антителами. При определении группы крови перекрестным методом могут быть получены противоречивые результаты, если в исследуемой крови содержатся, помимо изогемагглютининов α и β , антитела анти-М, анти-N, анти-Lewis, анти-H. Эти антитела искажают результат исследования сыворотки реципиента со стандартными эритроцитами. Необходимо помнить, что заключение о группе крови реципиента делают на основании исследования его эритроцитов. По сыворотке реципиента группу крови не устанавливают.

Особенности групп крови новорожденных. У некоторых новорожденных, в отличие от взрослых людей, антигены А и В на эритроцитах выражены слабее, а соответствующие агглютинины в сыворот-

ке крови могут отсутствовать, что создает трудности при определении группы крови перекрестным методом. Гетерогенные тестовые реагенты, полученные от животных, могут агглютинировать эритроциты новорожденных независимо от их групповой и резус-принадлежности. Аллогенные тестовые сыворотки при определении групповой и резус-принадлежности новорожденных таким свойством не обладают. Резус-фактор выражен у новорожденных, как и у взрослых.

Причиной ошибок могут быть кровяные химеры (см. Кровяные химеры).

Другие особенности. Определение группы крови АВО и резус-принадлежности может быть затруднено у больных в связи с изменением свойств эритроцитов при различных патологических состояниях. Это выражается в повышенной агглютинабельности эритроцитов, наблюдаемой, как уже указывалось выше, у больных циррозом печени, при ожоговой болезни, сепсисе. Агглютинабельность может быть столь высока, что эритроциты склеиваются в собственной сыворотке и физиологическом растворе. При лейкозах наблюдается снижение агглютинабельности эритроцитов, в результате чего значительное их количество остается не вовлеченным в агглютинацию даже при использовании высокоактивных реагентов (ложная кровяная химера).

Во избежание ошибок при выполнении иммуносерологических исследований необходимо быть предельно сосредоточенным и неукоснительно следовать предписаниям инструкции.

В случае сомнительного результата необходимо повторить исследование, используя дополнительно стандартные реагенты другой серии. Если результаты остаются неясными, образец крови направляют на исследование в специализированную лабораторию.

Антигены лейкоцитов*

Лейкоцитарные антигены составляют главный комплекс гистосовместимости (Major Histocompatibility Complex – МНС); у человека он получил название HLA (Human Leukocyte Antigen). К структурам,

близким к лейкоцитарным антигенам, относят маркеры лимфоцитов CD и открытую недавно систему киллерных иммуноглобулиновых рецепторов (KIR) на субпопуляции лимфоцитов – натуральных киллерах (NK).

HLA-система

Гены *HLA* расположены на 6 хромосоме человека, на ее коротком плече, и занимают расстояние 1,6 сантиморганов. В HLA-системе выделяют несколько структурных единиц – локусов, которые у разных людей представлены разными генами (специфичностями); в свою очередь ген может существовать в нескольких вариантах, называемых аллелями.

Пример обозначения гена (антигена) HLA:

HLA-A 0202 – локус А, специфичность А2, аллель 02,

HLA-A 0212 – локус А, специфичность А2, аллель 12,

HLA-B 1531 – локус В, специфичность В15, аллель 31.

*Материал подготовлен засл. деятелем науки РФ, профессором Ю.М. Зарещкой (гл. «Антигены лейкоцитов» в кн.: «Очерки производственной и клинической трансфизиологии. –М., 2006, с. 180–193, с дополнениями авторов.

Основными локусами HLA-системы являются HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1 и HLA-DP. Первые 3 локуса составляют молекулы класса I, последние 2 локуса – молекулы класса II. Между ними расположена область, занимаемая молекулами класса III, являющаяся функционально обособленной структурой. Входящие в нее гены кодируют ферменты и белки комплемента. Наибольшее клиническое значение имеют антигены локусов класса I и класса II. Антигены класса I выявляют реакцией микролимфоцитотоксичности и ДНК-типированием (PCR-SSP, PCR-SSOP). Антигены класса II выявляют PCR-методами молекулярного типирования.

HLA-система относится к наиболее полиморфным в геноме человека. В локусе А насчитывается 24 антигена, в локусе В – 55, в ло-

кусе С – 15, в локусе DRB1* – 17, в локусе DQB1* – 5 антигенов. Каждый антиген имеет от 3 до 35 аллелей, структура ДНК которых отличается последовательностью аминокислот, а также одной или несколькими аминокислотными заменами. У конкретного индивида может быть только 2 антигена каждого из HLA-локусов, т. е. набор из 8–12 HLA-антигенов в зависимости от числа рассматриваемых локусов.

Частота HLA-антигенов у представителей различных рас неодинакова (табл. 17). Из частоты антигена (она же частота фенотипа) выводится генетический показатель – частота гена, вычисляемый по формуле: $q_a = 1 - \sqrt{1 - A_f}$, где q_a – частота гена A , A_f – частота того же антигена. Частота антигена в популяции определяется эмпирически серологическим или ДНК-типированием.

Широкие HLA-антигены (broad) – A9, A10, A19 и др. – включают в себя от 2 до 5 узких (splits) серологически выявляемых дробных специфичностей – A23 и 24; A25, 26, 34 и т. д. (рис. 12).

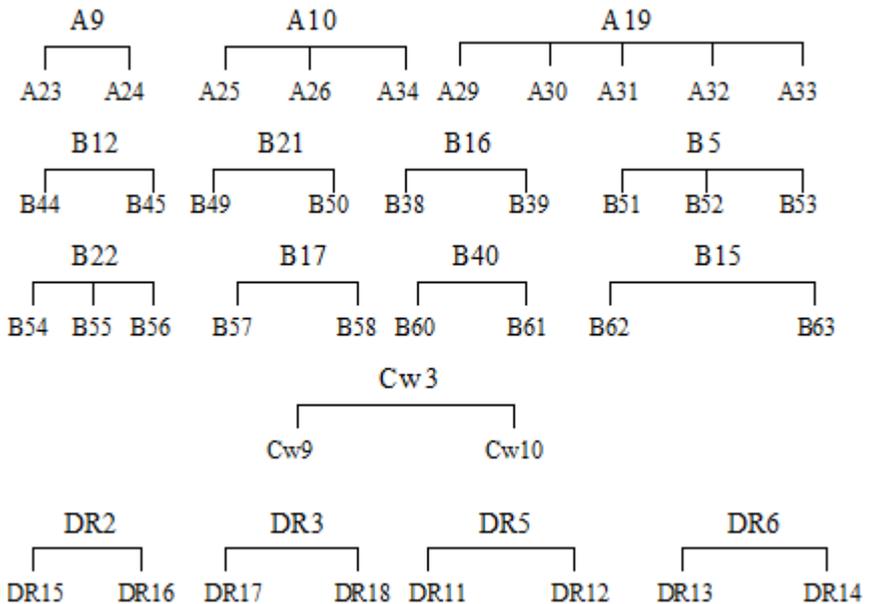


Рис. 12. Широкие и узкие HLA-специфичности.

HLA-гены наследуются в блоке, который называется сцеплением. Между двумя или тремя генами практически не происходит кроссинговера, и данный участок хромосомы крайне редко подвергается хромосомным перестройкам. Основные сцепления генов *HLA* показаны в табл. 18.

Таблица 18

HLA-антигены, сцепления, частота в популяциях

HLA-специфичность	Широкий антиген	Сцепления	Частота локуса А среди				
			европеоидов	негров	японцев	китайцев	мексиканцев
A1		Cw7	26,6	10,1	1,4	9,2	10,1
A2		B35	45,8	30,3	42,4	54,0	43,0
A3		B7, B14	20,6	16,3	1,2	7,1	14,8
A9			-	-	-	-	-
A10			-	-	-	-	-
A11		B35, B62, B53	9,9	3,8	19,7	33,1	7,3
A19		B18, B60, DR8, Cw1	-	-	-	-	-
A23	A9	B44, DR7	3,2	14,3	0,0	1,6	5,5
A24	A9	B61, DR2	16,8	8,8	58,1	32,9	26,7
A25	A10	B18, DR2	6,1	1,6	0,0	0,8	4,2
A26	A10	B38, DR4, B61, Cw3	7,3	3,2	20,4	3,8	6,7
A28		B70	8,8	20,8	0,0	0,8	20,8
A29	A19	B44	4,7	6,7	0,0	2,0	8,4
A30	A19	B13, B42	4,7	18,8	0,8	7,3	8,4
A31	A19	-	4,4	3,8	14,8	9,6	10,1
A32	A19	Cw2, Cw1, Cw5	9,6	1,6	0,2	1,2	6,7
A33	A19	B14, B44, B17	2,0	16,1	14,8	8,8	11,3
A34	A10	B44	1,2	9,8	0,2	0,0	2,4
A36		B53	0,8	5,3	0,0	0,4	0,6
A43		B7, B70,	0,0	0,2	0,2	0,0	0,0

		Cw4					
A66	A10	B41	-	-	-	-	-
A68	A28	-	-	-	-	-	-
A69	A28	-	-	-	-	-	-
A74	A19	-	-	-	-	-	-
A80	-	-	-	-	-	-	-
Ax	-	-	0,4	3,8	0,0	0,0	1,2

Продолжение таблицы 18

HLA-специфичность	Широкий антиген	Сцепления	Частота локуса В среди				
			европеоидов	негров	японцев	китайцев	мексиканцев
B 5			-	-	-	-	-
B7		A 3, DR 2	17,7	15,5	9,6	6,9	11,8
B8		A 1, Cw 7	18,1	6,3	0,0	3,6	9,0
B 12		-	-	-	-	-	-
B13			5,9	1,6	3,4	15,7	3,0
B14		A 33, A30, A3	7,6	6,3	0,4	0,8	12,4
B 15		-	-	-	-	-	-
B 16		-	-	-	-	-	--
B 17		-	-	-	-	-	-
B 18		A25, Cw2, Cw5, DR3	9,2	6,9	0,0	2,2	7,6
B 21		-	-	-	-	-	-
B 22		Cw 1	-	-	-	-	-
B 27		Cw 1, Cw 2	7,5	2,6	0,8	3,4	4,9
B 35		Cw 4	15,4	14,8	15,4	9,8	28,1
B 37		A1, Cw6, DR10	4,4	2,2	1,6	3,8	1,2
B 38	B 16	A26, Cw7	7,6	0,2	0,8	3,4	3,6
B 39	B 16	-	3,6	1,6	8,4	5,1	11,8
B 40	-	-	-	-	-	-	-
B 41		A 2, A 26	2,0	4,2	0,0	0,0	6,7
B 42		A 30	0,0	10,5	0,0	0,0	0,6
B 44	B 12	A 29	19,7	10,5	14,3	6,7	17,4
B 45	B 12	-	1,2	7,1	0,0	0,8	3,6
B 46	-	A 2, Cw1	0,0	0,0	8,8	16,1	0,0
B 47	-	A 3, Cw6, DR6	1,2	0,0	0,2	0,0	1,2
B 48	-		0,4	0,6	5,5	5,5	4,5

B 49	B 21	A 23, Cw7	4,4	3,6	0,0	0,4	4,9
B 50	B 21	A 2, Cw 6	4,4	2,2	0,0	3,0	5,5
B 51	B 5	C w1	6,9	6,7	17,2	13,0	7,6
B 52	B 5	A 24, DR 2	2,4	1,6	20,3	4,9	5,9
B 53		-	1,6	22,6	0,2	0,0	4,2
B 54	B 22	Cw1	0,0	0,0	12,4	8,6	0,0
B 55	B 22	Cw9, DR3	4,4	1,4	5,7	6,7	1,8
B 56	B22	Cw1	1,6	0,0	3,0	1,2	0,6
B 57	B17	Cw 6	7,3	7,6	0,0	2,0	2,4
B 58	B 17	Cw3, A 33	2,0	13,7	1,4	6,7	3,0
B 59		Cw 1, DR4	0,0	0,2	3,8	0,4	0,0
B 60	B 40	Cw3, DR 4	8,2	2,2	10,7	20,1	6,1
B 61	B 40	Cw2	5,9	0,2	20,3	9,6	10,1
B 62	B 15	Cw3	10,3	2,6	16,3	14,3	3,0
B 63	B 15	A 24, A 32	0,8	4,9	0,2	0,4	0,6
B 64	B 14	A 32, DR7	-	-	-	-	-
B 65	B 14	A 33, DR1	-	-	-	-	-
B67	-	-	0,0	1,6	3,2	1,6	0,6
B 70		A 1, A23	3,2	15,9	3,2	1,6	4,9
B 71	B 70	A28, Cw3	-	-	-	-	-
B72	B70	A9, Cw2	-	-	-	-	-
B 73		Cw7	0,8	0,6	0,0	0,0	0,6
B 75	B 15		0,0	0,8	2,2	7,3	2,4
B 76	B 15	Cw3	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0
B 77	B 15		-	-	-	-	-
B78			0,0	0,6	0,0	0,0	0,0
Bx			0,8	1,6	0,2	0,0	0,6

Продолжение таблицы 18

HLA- специ- фичность	Широкий антиген	Сцепления	Частота локуса С среди				
			евро- пеоидов	негров	япон- цев	китай- цев	мекси- канцев
Cw1		B 51, B 27, B 22	8,2	1,6	22,9	21,5	7,3
Cw2		B 61, B27	10,1	18,6	0,4	2,0	12,2
Cw3		B 60, B 55, B 62	-	-	-	-	-
Cw4		B 35, B 53	17,9	37,3	8,4	11,5	32,9
Cw5		B 44, B14, B18	7,1	4,0	1,0	2,4	9,2

Cw6		B 57, B13, B37	17,6	13,7	2,2	19,0	12,2
Cw7		B 7, B 8	37,1	27,2	28,1	29,3	49,2
Cw8		B 14	-	-	-	-	-
Cw9	Cw3	B 55, B62	7,5	4,0	25,9	29,6	8,0
Cw10	Cw3	B 60	7,5	6,9	17,0	12,4	11,6
Cw x			6,3	2,6	2,8	1,2	3,6

Продолжение таблицы 18

HLA-специфичность	Широкий антиген	Сцепления	Частота локуса DR среди				
			европеоидов	негров	японцев	китайцев	мексиканцев
DR1		B7, B14, B51, B58	18,5	8,4	10,7	4,5	10,1
DR2		B7	-	-	-	-	-
DR3		B8, B 18, B 42	17,7	19,5	0,4	7,3	14,4
DR4		B 44, B 60, B 62	23,6	6,1	40,4	21,9	29,8
DR5		B 61, B62, B35	-	-	-	-	-
DR6			-	-	-	-	-
DR7		B44, B50, B57	26,2	11,1	1,0	15,0	16,6
DR8		B 46	5,5	10,9	25,0	10,7	23,3
DR9		B46, B62	3,6	4,7	24,5	19,9	6,7
DR10		B 37, B7	3,6	1,4	1,2	3,4	3,0
DR11	DR5		17,0	18,1	4,9	19,4	18,1
DR12	DR5		2,8	5,5	13,1	17,6	5,7
DR13	DR6	B 44	21,7	16,5	14,6	12,2	10,5
DR14	DR6		2,4	3,8	10,3	4,2	15,2
DR15	DR2	B7	19,9	14,8	30,9	22,0	15,0
DR16	DR2		2,4	1,8	1,6	2,2	7,3
DR17	DR3	B8, B18	-	-	-	-	-
DR18	DR3	B42	-	-	-	-	-
DRx			12,8	37,0	1,2	1,6	0,0

Каждый *HLA*-локус в геноме представлен двумя аллелями, расположенными на парных 6-хромосомах. С учетом локусов *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C*, *HLA-DRB1* и *HLA-DQB1* у каждого индивида должно быть выявлено 10 *HLA*-антигенов, по 2 на каждый локус. При трансплантации неиммунокомпетентных органов (почки, сердце, легкие) достаточно осуществлять подбор пары донор – реципиент, выявляя аллели локусов *HLA-A*, *HLA-B* и *HLA-DRB1*. При пересадке иммунокомпетентного органа (костного мозга) подбор производят по локусам *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-DRB1* и *HLA-DQB1*; в последние годы включают локус *HLA-C*.

Ребенок получает одну хромосому от отца, другую от матери. Если обозначить хромосомы отца *AB* а матери – *CD*, то возможные наследования: *AC*, *AD*, *BC*, *BD*. Вероятность найти в одной семье идентичного донора для больного реципиента равна 25 % (1 из 4 возможных сочетаний). На практике идентичность может встретиться в семье с двумя детьми и не встретиться в семье, имеющей 7–8 детей, так как сочетания образуются при слиянии гамет как результат случайного выбора.

Набор *HLA*-антигенов индивида составляет его *HLA*-фенотип; сочетание и расположение генов на каждой из 2 хромосом составляет *HLA*-гаплотип (рис. 13).

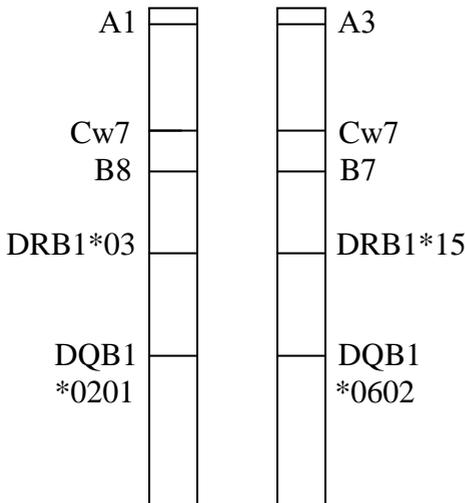


Рис. 13. Локализация HLA-генов на хромосомах.

1 и 2 – хромосомы родителей.

Фенотип: A1, 3; B7, 8; Cw7,-; DRB1*03, 15; DQB1*0201, 0602

Генотип:

*гаплотип А: А1, В8, Сw7, DRB1*03, DQB1*0201*

*гаплотип В: А3, В7, Сw7, DRB1*15, DQB1*0602*

Биологическая роль и основные функции HLA-системы сводятся к следующему:

- HLA-комплекс определяет тканевую совместимость при трансплантации органов и тканей – отличает свое от чужого;
- HLA-комплекс обуславливает предрасположенность (или устойчивость) к заболеваниям;

При пересадке неиммунокомпетентных органов и тканей (почка, сердце, печень и др.) иммунологическую активность развивает иммунная система реципиента (хозяина). Эта односторонняя активность носит название «хозяин против трансплантата». При трансплантации иммунокомпетентных тканей (костный мозг, пуповинная кровь, гемопоэтические стволовые клетки (ГПСК) периферической крови) развивается двусторонняя иммунологическая активность, как в направлении «хозяин против трансплантата» (host versus graft), так и «трансплантат против хозяина» (graft versus host).

Степень несовместимости – важнейшая составляющая, характеризующая пару донор – реципиент, и, соответственно, результат трансплантации. При учете несовместимости рассматривают 5 HLA-локусов: HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR и HLA-DQ. Если донор и реципиент совпадают по всем 10 антигенам этих локусов, они считаются полностью совместимыми; если имеются различия по 1, 2 и 3 антигенам, эта пара рассматривается как имеющая 1, 2 и 3 несовместимости (mismatch). При пересадке почки, печени и сердца подбор производят по 3 локусам: HLA-A, HLA-B и HLA-DR. При пересадке костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток подбор донора производят по 5 HLA-локусам. В случае пересадки почки отсутствие какого-либо антигена у донора из тех, что имеются у реципиента, не считается несовместимостью. Например, реципиент A1, A26; B8, B35;

DR3, DR5 – донор A1, A26; B8; DR3, DR5 рассматриваются как условно совместимые. Реципиент A2, A3; B44, B7; DR2(15), DR4 – донор A2, A3; B14, B7; DR2(15), DR4 имеют одну несовместимость в локусе HLA-B (B44 вместо B14). Предпочтительнее использовать органы от донора, совместимого по 4–3 HLA-антигенам. Совместимость по локусу DQ для неиммунокомпетентных тканей не учитывают.

Существует определенная иерархия HLA-антигенов. По иммуногенности они располагаются следующим образом: DR>B>A. Донор и реципиент при трансплантации ГПСК должны быть полностью совместимы. Полностью совместимый аллогенный донор встречается среди родных братьев и сестер с теоретической частотой 25 %. Практически только 1/3 больных, нуждающихся в трансплантации костного мозга или ГПСК, может быть обеспечена за счет родственного донора; остальным может быть подобран только совместимый неродственный донор.

Организация подбора пар донор-реципиент при пересадке неиммунокомпетентных тканей и ГПСК различна. Для пересадки почки, сердца, печени, поджелудочной железы составляют листы ожидания реципиентов, т. е. всех нуждающихся в такой операции больных типировать по системе HLA и заносить в лист ожидания. При наличии донорского органа (почки, сердца и т. д.), определяют, кому из больных, зарегистрированных в листе ожидания, данный орган наиболее подходит по критерию тканевой совместимости.

Для пересадки ГПСК составляют лист ожидания не больных, а доноров – регистр типированных доноров. Каждая страна имеет свой национальный регистр. Все регистры объединены в международном регистре «Всемирный донор», насчитывающем 10 млн типированных доноров из разных стран всех рас и национальностей. Если больной имеет часто встречающийся HLA-фенотип, то вероятность подбора совместимого донора составляет 1 из 10 тыс. человек, если больной имеет редко встречающийся HLA-фенотип, то вероятность подбора совместимого донора – 1 из 10 млн человек. Как показывают расчеты, при численности регистра «Всемирный донор» в 10 млн человек каждый больной, нуждающийся в трансплантации ГПСК, может быть обеспечен минимум одним донором. Если донор для данного пациен-

та числится в зарубежном регистре, производят административные процедуры по запросу и доставке костного мозга или ГПСК из-за границы в соответствии со «Стандартами Всемирного донора».

Антигены HLA на эритроцитах B_g^a, B_g^b и B_g^c

Эритроциты человека содержат некоторое количество HLA-антигенов, присущих лимфоцитам периферической крови и другим ядерным клеткам организма.

Этот факт впервые был установлен в середине 1960-х годов, когда было показано, что эритроцитарные антигены B_g^a, B_g^b и B_g^c тесно связаны с антигенами системы HLA. Наличие на эритроцитах антигена B_g^a неизменно сочеталось с присутствием на лимфоцитах антигена HLA-B7, присутствие на эритроцитах антигена B_g^b сопровождалось одновременным присутствием на лимфоцитах антигена HLA-B17, антиген B_g^c выявлялся на эритроцитах в тех случаях, когда на лимфоцитах присутствовал антиген HLA-A28.

Orjasaeter (1974) и Nordhagen (1978) нашли, что эритроциты B_g(с+) реагируют с антителами анти-HLA-A28 и анти-HLA-A2, обладающими перекрестной реактивностью.

На эритроцитах нередко достаточно сильно выражены антигены HLA-A10 и HLA-B8, выявляются также антигены HLA-A9, HLA-B12 и HLA-B15.

В то же время эритроциты многих лиц не содержат HLA-антигенов, хотя на лимфоцитах эти антигены отчетливо выявляются.

По данным Crawford (1983) и Daniels (2002), экспрессия HLA-антигенов у разных индивидов варьирует в широких пределах. У некоторых лиц она неодинакова в разные периоды времени.

Степень экспрессии HLA-антигенов на эритроцитах не является строго наследуемой в отличие от специфичности. HLA-антигены, выявляемые на эритроцитах детей, могут отсутствовать на эритроцитах их родителей (Morton и соавт., 1967; Van Der Hart и соавт., 1974; Nordhagen, 1978).

С помощью высокочувствительного микроколониального теста, радиоиммунного метода и проточной цитофлюориметрии показано, что эритроциты примерно 50 % доноров связывают анти-HLA-антитела (Crawford и соавт., 1980; Rivera, Scornik, 1986). Все исследованные сыворотки анти-HLA-B7 реагировали с эритроцитами лиц HLA-B7+ (Nordhagen, 1975).

По данным Botto и соавт. (1990), на эритроцитах расположено от 40 до 550 антигенных участков HLA, на тимоцитах их содержание составляет около 100 тыс. Это объясняет, почему так сложно адсорбировать HLA-антитела эритроцитами, в то время как активность HLA-антител легко устраняется посредством адсорбции лейкоцитами.

У лиц HLA-B7+ на эритроцитах содержится существенно больше антигенных детерминант HLA класса I по сравнению с индивидами HLA-B7-. Усиление HLA-экспрессии на эритроцитах отмечено у больных системной красной волчанкой, инфекционным мононуклеозом, ревматоидным артритом, некоторыми гематологическими заболеваниями. Сильно выраженная экспрессия антигенов HLA на эритроцитах встречается редко, однако такие случаи в литературе описаны (Van Der Hart и соавт., 1974; Nordhagen, Aas, 1978).

HLA-антигены, присутствующие на эритроцитах, идентичны таковым на всех ядродержащих клетках. Они представлены гетеродимерами полипептидных цепей α_1 , α_2 и α_3 с мол. массой 45 кДа, связанными с β_2 -микроглобулином – пептидом величиной 10 кДа. Специфические HLA-субстанции, циркулирующие в плазме крови, имеют мол. массу 39 кДа и отличаются от HLA-субстанций, располагающихся на эритроцитах, отсутствием гидрофобного участка.

Антигенные эпитопы HLA контролируются генным локусом *HLA*, расположенным на коротком плече хромосомы 6, β_2 -микроглобулин контролируется геном, находящимся на хромосоме 15.

Анти-HLA-антитела, реагирующие с эритроцитами, могут быть ингибированы специфическими водорастворимыми HLA-субстанциями, содержащимися в плазме лиц, имеющих соответствующие антигены на лимфоцитах. Данный факт позволил высказать предположение, что антигены HLA, выявляемые на эритроцитах, по

своему происхождению не являются эритроцитарными, а адсорбируются на эритроциты из плазмы.

Существует и другая точка зрения. Ее суть заключается в том, что эритроциты могут нести остатки антигенов HLA, которые синтезируются в ранних ядродержащих предшественниках эритроцитов. При определенных условиях возможна их неполная утрата зрелыми клетками.

Обработка эритроцитов хлорохином* приводит к разрушению β_2 -микроглобулина и утрате HLA-антигенной активности. Цепи α_1 , α_2 и α_3 при этом также подвергаются конформационным изменениям. После контакта с очищенным β_2 -микроглобулином эритроциты, обработанные хлорохином и утратившие HLA-антигены, восстанавливали свою HLA-антигенную активность.

Концентрация β_2 -микроглобулина в эритроидных клетках-предшественниках снижается по мере их превращения в зрелые эритроциты. Одновременно клетки утрачивают HLA-антигенную активность.

HLA-антигены эритроцитов устойчивы к обработке протеолитическими ферментами и сульфгидрильными реагентами.

* лекарственный препарат из группы производных 4-аминохинолина, тормозит синтез нуклеиновых кислот в клетках, обладает умеренным иммуносупрессивным действием.

Клиническое значение

Клиническое значение антигенов HLA, присутствующих на эритроцитах, не столь велико как эритроцитарных антигенов.

Описали всего лишь один случай гемолитической посттрансфузионной реакции, обусловленной антителами анти-HLA, однако приведенные авторами данные не позволили сделать окончательное заключение относительно истинной причины имевшей место гемолитической реакции.

Имеются сообщения об ускоренном разрушении радиоактивно меченных эритроцитов *in vivo* под действием анти-HLA-антител, од-

нако разрушение затрагивало лишь небольшую часть эритроцитов, циркулирующих в кровотоке.

Гемолитическая болезнь новорожденных, обусловленная анти-НLA-антителами, не описана. Эти антитела могут быть причиной привычного невынашивания беременности, а также лейкопении новорожденных.

Анти-НLA-антитела в некоторых случаях затрудняют идентификацию антиэритроцитарных антител и могут исказить результаты индивидуального подбора крови донора и реципиента, показывая положительный результат в непрямой реакции Кумбса.

Указанные затруднения устраняются посредством обработки эритроцитов растворами хлорохина или ЭДТА-глицин-HCl, которые ингибируют на эритроцитах антигены НLA, но не сказываются на экспрессии эритроцитарных антигенов.

Отдельные публикации свидетельствуют о том, что НLA-антигены создают определенные трудности при производстве панелей стандартных эритроцитов для выявления и идентификации антиэритроцитарных антител, поскольку некоторые высокоактивные анти-НLA-антитела реагируют с эритроцитами и вводят исследователей в заблуждение, создавая видимость присутствия антиэритроцитарных антител.

С подобной проблемой сталкивались производители типизирующих реагентов, использовавшие плазму гипериммунных доноров, которая содержала примесь высокоактивных анти-НLA-антител. Замена аллогенных сывороток моноклональными реагентами устранила проблему.

НLA и болезни

Предрасположенность к ряду заболеваний связана с НLA-системой. Для значительной части населения, носителей определенных НLA-специфичностей, существует запрограммированный генетический риск той или иной болезни.

Связь между НLA и заболеванием характеризуется величиной относительного риска, который вычисляют по формуле:

$RR = \frac{fn(1-fk)}{fk(1-fn)}$, где

fn – фракция носителей конкретного антигена среди пациентов,

fk – фракция носителей того же антигена в группе здоровых.

Если RR больше 2, считают, что присутствие у человека данного HLA-антигена обуславливает предрасположенность к заболеванию (табл. 19). Если RR меньше 1, то HLA-антиген обуславливает невосприимчивость к заболеванию. Например, у больных анкилозирующим спондилитом (болезнь Бехтерева) антиген HLA-B27 встречается в 10 раз чаще, чем у здоровых, частота антигена HLA-B7 в 2 раза выше при аутоиммунной гемолитической анемии, антиген HLA-B5 в 15 раз чаще присутствует у больных с мукоидным воспалением лимфоузлов (болезнь Кавасаки).

Таблица 19

HLA-зависимые заболевания

Заболевание	HLA-ген	Относительный риск
Анкилозирующий спондилит (б-нь Бехтерева)	B27	98-90
Синдром Рейтера	B27	40-36
Артрит инфекционный	B27	24-18
Артрит ревматоидный	B27, DR4	11; 4
Острый передний увеит	B27	30-10
Целиакия	B8, DR3	8; 10
Аддисонова болезнь	B8, DR3	
Токсический диффузный зоб	B8, DR3	3; 4
Инсулинзависимый сахарный диабет	B8, DR3 – DR4	2; 3; 6-5
Miastenia gravis	B8, DR3	4-3; 3
Lupus erythematosus	DR3	6-5
Идиопатический гемохроматоз	A3, B14	9; 5
Рассеянный склероз	DR2	4
Псориаз обыкновенный	B13, B17, Cw6	5; 5; 13-7
Зоб Хашимото	DR5	3
Хронический гепатит	B8, DR3	3-4; 7
Болезнь Бехчета	B5	16
Синдром Сьегрена	B8, DR3	3; 9-10
Синдром Гудпасчета	DR2, DR4	16-15; 2,5

Таблица 2

Иммунные реакции начинаются с образования комплекса между пептидами антигена и молекулами HLA класса I (HLAI) или HLA класса II (HLAII). Рецепторы Т-лимфоцитов распознают антиген через

комплекс АГ+HLAII или АГ+HLAI путем соединения соответствующего рецептора на мембране лимфоцита с комплексом АГ+HLAI-II. Следующий этап – наработка Т-хелперов (ТХI или ТХII), которые передают сигнал В-лимфоцитам (антителообразование) или Т-лимфоцитам (СД8). Последние трансформируются в Т-киллеры и лизируют клетки-мишени. Особенности участия молекул HLA в иммунной реакции отражены в табл. 20.

Таблица 20

Два типа иммунной активности с участием HLA-молекул

Участники реакции	Тип иммунной активности	
	Антителообразование	Цитотоксический лизис
Гены	Молекулы HLA класса II	Молекулы HLA класса I
Антигены-стимуляторы	Гетерологичные белки, тканевые аллоантигены, синтетические полипептиды	Гаптены, вирусы, тканевые аллоантигены
Участвующие клетки	Макрофаг, Т-хелпер, В-лимфоцит	Макрофаг, Т-хелпер, Т-киллер
Эффекторная фаза	Антителоопосредованная активность	Клеточноопосредованная активность

Маркеры лимфоцитов

Маркеры, характеризующие различные субпопуляции клеток иммунной системы, определяют с помощью моноклональных антител и обозначают символом CD (cluster differentiation). CD-маркеров к настоящему времени обнаружено более 200. Наиболее значимые из них приведены в табл. 21. Кластеры дифференцировки – это мембранные маркеры, выявляемые с помощью кластера (группы) моноклональных антител.

Таблица 21

CD-антигены лимфоцитов

CD-антиген	Функция	Локализация
CD1a,в,с,d	Ассоциирован с β2-микроглобулином	Дендритные клетки, В-лимфоциты (с), тимоциты коры, эпителий киш-

		ки, эндотелий (d), гладкие мышцы
CD2	Адгезивная молекула. Рецептор эритроцитов барана. Участвует в активации Т-лимфоцитов.	Тимоциты, Т-лимфоциты, НК
CD3	Ассоциирован с антиген-распознающим рецептором Т-клеток (TCR). Необходим для экспрессии TCR.	Т-лимфоциты
CD4	Корецептор для связи антиген-распознающего рецептора с МНС класса II	Т-хелперы, моноциты/макрофаги
CD5	Рецептор для «мусора» (Scavenger receptor)	Т-клетки + клетки ХЛЛ
CD7	Маркер острого Т-клеточного и стволовоклеточного лейкоза	Стволовые кроветворные клетки, тимоциты, Т- лимфоциты
CD8	Корецептор для связи антиген-распознающего рецептора с МНС класса I	Т-супрессоры/ цитотоксические клетки
CD10	Фермент Zn-металлопротеиназа, Маркер острого пре-В-клеточного лейкоза	Клетки стромы костного мозга; предшественники лимфоцитов
CD16	Низкоаффинный Fc-рецептор	НК, нейтрофилы, макрофаги
CD19	Компонент корецепторного комплекса В-лимфоцитов	Пре-В и В-клетки
CD20	Формируют канал для Ca ⁺⁺ в мембране	В-клетки
CD21	Компонент корецепторного комплекса В-лимфоцитов. Рецептор CR2 для компонента комплемента C3d	Зрелые В-лимфоциты, фолликулярные дендритные клетки
CD23	Низкоаффинный рецептор для IgE. Компонент корецепторного комплекса В-лимфоцитов (CD19/CD21/CD81)	Зрелые В-лимфоциты, активированные макрофаги, эозинофилы, фолликулярные и дендритные клетки, тромбоциты
CD25	Рецептор ИЛ2	Активированные лимфоциты, моноциты
CD30	Усиливает пролиферацию Т- и В-лимфоцитов. Участвует в сигнале к апоптозу.	Активированные лимфоциты, НК и моноциты
CD34	Лиганд L-селектина CD62L	Стволовые гемопоэтические клетки, эндотелий капилляров
CD35	Рецептор CR1 для компонентов комплемента C3b, C4b	Эритроциты, В-лимфоциты, моноциты, нейтрофилы, эозинофилы, фолликулярные дендритные клетки
CD38	Усиливает пролиферацию В-лимфоцитов	Незрелые лимфоциты, В-лимфоциты в герминативных центрах, активированные Т-клетки, плазмоциты
CD45	Трансмембранная тирозин-фосфатаза. Усиливает сигнал с TCR, BCR	Все кроветворные клетки
CD47	Рецептор тромбоспондина. Ассоциирован с группой крови резус	Все клетки тела

CD56	Адгезивная молекула.	NK
CD57	Олигосахарид, найден на многих гликопротеинах поверхности клеток	NK, некоторые Т-лимфоциты, В-лимфоциты, моноциты
CD58	Связывает адгезивную молекулу CD2	Гемопоэтические и другие клетки
CD64	Высокоаффинный рецептор IgG. Опосредует фагоцитоз, сорбцию антигенов	Моноциты/макрофаги
CD65	Олигосахаридный компонент церамида додекасахарида	Миелоциты
CD69	Ранний маркер активации	Активированные Т- и В-лимфоциты, NK, макрофаги
CD71	Рецептор трансферрина	Все пролиферирующие клетки
CD72	Общий В-клеточный маркер, стимулирует пролиферацию В-лимфоцитов	В-лимфоциты
CD81	Формирует корецептор В-лимфоцитов в комплексе с CD19, CD21. Мишень антипролиферативных антител	Лимфоциты
CD83	Участствует в представлении антигена, активации лимфоцитов	Дендритные клетки, клетки Лангерганса, В-лимфоциты
CD95	Индукцирует апоптоз клетки	Различные виды клеток. На многих перевиваемых линиях клеток

KIR-рецепторы

В конце 90-х годов была открыта система рецепторов на субпопуляции лимфоцитов – натуральных киллерах (NK), которая получила название киллер-ингибирующие рецепторы, позднее киллер-иммуноглобулиновые рецепторы (KIR).

Носители KIR – NK-клетки представляют собой субпопуляцию лимфоцитов, которая осуществляет цитотоксический киллинг клеток-мишеней без предварительной сенсibilизации.

Объектом NK-активности являются опухолевые клетки, вирусы, аллогенная ткань. В периферической крови человека 10 % всех лимфоцитов составляют NK-клетки. Система KIR на NK участвует в эффекторном звене иммунного ответа.

KIR-система кодируется генами, расположенными на 19-й аутосомной хромосоме; гены KIR выявляются посредством PCR-SSP или PCR-SSOP и соответствующих праймеров. Они распознают молекулы

HLA класса I и опосредуют свою активность через связь с HLA-антигенами.

Номенклатура KIR составлена в соответствии с их структурой. При 2-доменной структуре иммуноглобулинподобных экстрацеллюлярных петель систему обозначают KIR2D; при 3-доменной – KIR3D. Интрацеллюлярная часть, так называемый хвост, может быть длинным (L) или коротким (S). В соответствии с этим полное наименование – KIR2DL1(2,3).

Система KIR полиморфна, насчитывает 14 специфичностей. KIR-рецепторы способны распознавать молекулы HLA класса I преимущественно локусов C и Bw. HLA-молекулы являются лигандами для KIR, осуществляющих блокаду киллерного эффекта. Рецепторы KIR2D связываются с антигенами HLA-C, в то время как KIR3D связываются с HLA-Bw-антигенами. Если KIR находит потенциальные клетки-мишени, HLA-антиген, к которому они имеют сродство, соединяется со своим лигандом, и цитотоксическая активность NK-клеток блокируется. Если на потенциальной клетке-мишени соответствующий лиганд не обнаруживается, блок не осуществляется и NK-клетки разрушают мишень. KIR, имеющие длинный интрацеллюлярный хвост, ингибируют киллерную активность NK-клеток; KIR, имеющие короткий интрацеллюлярный хвост, наоборот, активируют цитотоксическую NK-активность. Биологические эффекты, опосредованные через KIR-структуры, пока недостаточно ясны. Клинической моделью для изучения функциональной активности KIR служит трансплантация гемопоэтических стволовых клеток и солидных органов (почки, печени).

Антигены тромбоцитов

Большинство групповых антигенов (более 300 000 антигенных детерминант) адсорбируются на тромбоцитах из плазмы (ABO, Lewis, Ii, P, HLA-A, -B, -C и др.) и трансфузионные реакции, наблюдаемые при переливании тромбоцитов, обусловлены в большей мере именно этими антигенами.

Вместе с тем тромбоциты имеют свои, свойственные только им, антигены, которые могут вызывать образование специфических антитромбоцитарных аллоиммунных антител. Последние проявляют себя в трансфузиологии и акушерстве, обуславливая умеренные посттрансфузионные реакции и тромбоцитопению новорожденных.

В соответствии с рекомендациями Номенклатурного комитета ISBT (1990) антигены тромбоцитов получили наименование НРА (Human Platelet Antigens) с цифровым (1, 2, 3...n) обозначением локусов и буквенным (a или b) обозначением аллелей (табл. 22).

Таблица 22

Наиболее изученные антигены тромбоцитов

*антигены, изучаемые, еще не введенные в классификацию ISBT.

С помощью аллоиммунных сывороток идентифицировано более 30 антигенов тромбоцитов. Наиболее изучены из них антигены 6 локусов: HPA-1, -2, -3, -4, -5 и HPA-15.

Локус	Обозначение антигена		Частота у европейцев, %	Локализация на гликопротеиде	Характерные мутации
	ISBT	прежнее			
HPA-1	HPA-1a	Zw ^a , PI ^{A1}	97,9	GPIIa	тимин 196 цитозин
	HPA-1b	Zw ^b , PI ^{A2}	28,8		
HPA-2	HPA-2a	Ko ^a (Sib ^a)	99,9	GPIb	цитозин 524 тимин
	HPA-2b	Ko ^b	13,2		
HPA-3	HPA-3a	Bak ^a , Lek ^a	80,95	GPIb	треонин 145 метионин
	HPA-3b	Bak ^b	69,8		
HPA-4	HPA-4a	Yuk ^a , Pen ^a	99,9	GPIIa	глутамин 143 аденин
	HPA-4b	Yuk ^b , Pen ^b	0,1		
HPA-5	HPA-5a	Br ^a , Zav ^a , Hc ^a	99,0	GPIa	лизин 505 валин
	HPA-5b	Br ^b , Zav ^b	19,7		
HPA-6	HPA-6bw*	Ca ^a , Tu ^a	0,7	GPIIa	глутамин 489 аргинин
HPA-7	HPA-7bw*	Mo	0,2	GPIIa	аланин 407 пролин
HPA-15	HPA-15a	Gov ^a	81	CD109	серин 703 тирозин
	HPA-15b	Gov ^b	74		

Антигены тромбоцитов размещены на 10 мембранных гликопротеидах: GPIa, GPIb, GPIIa, GPIIb, GPIIIa, GPIV, GPV, GPIX, CD31 и CD109.

Полиморфизм антигенов тромбоцитов обусловлен единичными аминокислотными заменами, наследуемыми, как и все групповые признаки крови человека, кодоминантно.

Описаны редко встречающиеся антигены тромбоцитов, не вошедшие в номенклатуру: Va^a, Vis, Pe^a, Dy^a, Aus, Sta и др.

Значение антитромбоцитарных аллоиммунных антител в трансфузиологии не столь велико, как антиэритроцитарных и антилейкоцитарных. Они вызывают рефрактерность к трансфузии донорских тромбоцитов – отсутствие ожидаемого лечебного эффекта (прироста количества тромбоцитов после переливания тромбоконцентрата).

Более важная роль принадлежит аутоиммунным антитромбоцитарным антителам, которые лежат в основе патогенеза приобретенной тромбоцитопении – идиопатической аутоиммунной тромбоцитопенической пурпуры.

Посттрансфузионная тромбоцитопеническая пурпура

Переливания донорских тромбоцитов реципиентам, аллоиммунизированным антигенами тромбоцитов, могут в ряде случаев провоцировать выброс транзиторных аутоиммунных антитромбоцитарных антител, которые вызывают так называемую посттрансфузионную тромбоцитопеническую пурпуру.

Посттрансфузионная тромбоцитопеническая пурпура (ПТП) относится к категории отсроченных посттрансфузионных реакций.

Она чаще развивается у гомозиготных по НРА реципиентов при наличии антитромбоцитарных антител одной или нескольких специфичностей. ПТП чаще возникает у женщин, имевших беременности, спустя 5–10 дней после трансфузии донорских тромбоцитов. У реципиента отмечаются кровоточивость, геморрагии, черный стул.

Основная роль в патогенезе ПТП принадлежит аутоиммунным антитромбоцитарным антителам, которые вызывают деструкцию тромбоцитов реципиента.

Как только аутоиммунные антитела исчезают (самостоятельно или при гормональной терапии), количество тромбоцитов и другие их показатели нормализуются.

Как крайне редкий синдром выделяют пассивную посттрансфузионную тромбоцитопеническую пурпуру, которая развивается у реципиента после переливания донорской плазмы, содержащей антиромбоцитарные антитела.

Групповые антигенные системы белков сыворотки

Белки сыворотки крови людей содержат целый ряд антигенов, идентифицируемых с помощью специфических антисывороток. Существует несколько систем групповых антигенов сывороточных белков: Gm, Km (Inv), Ag, Au, Lp, Ld, Xm, Xh, Hp, Gc и др. Антигены системы Gm и Km относятся к γ -глобулинам, системы Gc – к α_2 -глобулинам, систем Ag, Au, Lp и Ld – к β -липопротеинам. Антигенные детерминанты сывороточных белков не связаны с другими антигенными системами крови и наследуются независимо от них. Наличие в сыворотке того или иного антигена обозначается знаком плюс (+), отсутствие – знаком минус (-). Например, Gm(a+) указывает на присутствие антигена Gm(a) в исследуемой сыворотке крови, Gm(a-) – на его отсутствие.

Групповые антигены глобулинов

Система Gm

Антигены Gm присутствуют в γ -глобулинах. Они расположены на тяжелых полипептидных цепях иммуноглобулинов G (H-цепи) с константой седиментации 7S. Различают четыре подкласса H-цепей IgG: IgG₁, IgG₂, IgG₃ и IgG₄. Лocus, контролирующий аллотипы Gm, расположен на 14-й хромосоме. В систему входят антигены Gm(a), Gm(b), Gm(r), Gm(D), Gm(e), Gm(P), Gm(f), Gm(c), Gm(S), Gm(t) и Gm(x). Наиболее часто встречаются фенотипы Gm(a+b+x+), Gm(a+b-x+), Gm(a+b+x-), Gm(a+b-x-) и Gm(a-b+x-). Аллотипы Gm исследуют в судебно-медицинской практике при исключении отцовства, материнства, в случаях замены детей.

Антитела анти-Gm имеют естественное и иммунное происхождение. При переливании плазмы их не учитывают. Посттрансфузионные реакции, обусловленные анти-Gm-антителами, не описаны.

Антигены Gm идентифицируют посредством реакции задержки агглютинации с использованием набора сывороток анти-Gm и эритро-

цитов, нагруженных неполными анти-резус-антителами с заведомо известной группой Gm.

Система Km (Inv)

Антигены Km присутствуют в γ -глобулинах. Ранее система имела обозначение Inv (In – ингибитор), v – первая буква фамилии человека, у которого были обнаружены антитела анти-Inv. Антигены системы Km, в отличие от антигенов Gm, находятся на легких полипептидных цепях иммуноглобулинов (L-цепи). Различают антигены: Km(1), Km(2) и Km(3); фенотипы: Km(1+2-3-), Km(1+2+3-), Km(1+2-3+), Km(1+2+3+), Km(1-2+3-), Km(1-2+3+), Km(1-2-3+) и нулевой вариант – Km(1-2-3-). Антиген Km(1) чаще встречается у жителей Африки, а также у китайцев и японцев. Иммуноглобулины, несущие антигены Km-системы, как и другие белки, имеют различные константы седиментации: для IgG, IgD, IgE – 7S, для IgM – 19S, для IgA константы седиментации 7S и 11S.

Система Gc

Антигены Gc присутствуют на α_2 -глобулинах. Антиген Gc встречается в 2 вариантах в зависимости от скорости миграции при электрофорезе: быстромигрирующий – Gc1, и медленномигрирующий – Gc2. Существуют 3 основных фенотипа Gc: Gc1,1; Gc2,2 и Gc2,1. Другие разновидности антигена Gc – Gc1x, Gc1y и Gc1z – малоизучены. Константа седиментации α_2 -глобулинов, несущих антигены Gc, – 3,5S. Аллотипы Gc-системы определяют методом иммунофореза в агаровом геле.

У монголоидов антигены Gc встречается реже, чем у европейцев.

Групповые антигены липопroteинов

Система Ag

Антигены Ag присутствуют на β -липопротеинах, имеющих константу седиментации 7S. Они формируются в раннем эмбриональном периоде и хорошо выражены у новорожденных. Антигены Ag отсутствуют в спинномозговой жидкости, не проникают через плацентарный барьер. Система Ag включает антигены: Ag(a), Ag(x), Ag(b), Ag(y), Ag(z), Ag(t) и Ag(a₁). Антигены Ag выявляют с помощью реакции преципитации в агаре.

Система Au

Антиген Au, или австралийский антиген, – первоначальное название поверхностного антигена вируса гепатита В, существовавшее до идентификации вируса гепатита В и его антигенов. Антиген впервые обнаружен в плазме крови австралийского аборигена (отсюда его название) и некоторое время считался отличительным групповым антигенным признаком плазмы данной этнической группы. Впоследствии идентифицирован как антигенный компонент вируса гепатита В.

Система Lp и Ld

Антигены Lp и Ld присутствуют на β -липопротеинах. Они характеризуются наличием или отсутствием одной антигенной детерминанты: Lp(a⁺) или Lp(a⁻), Ld(a⁺) или Ld(a⁻). Встречается антиген Lp(x). Антигены Lp и Ld определяют с помощью реакции преципитации в геле по Оухтерлони.

Заключение

Целью книги явилась популяризация новой тактики гемотрансфузионной терапии, основанной на идентичности донора и реципиента по 10 трансфузионно опасным антигенам эритроцитов: A, B, D, C, E, c, e, C^w, K и k.

Авторы не сразу пришли к заключению о необходимости именно такого подхода к переливанию эритроцитсодержащих компонентов крови. Проводя в течение многих лет мониторинг аллоиммунизации населения Российской Федерации групповыми антигенами эритроцитов, авторы предложили оценивать этот глобальный популяционный процесс индексом аллоиммунизации – частотой носителей антиэритроцитарных антител и частотой антител той или иной специфичности. Указанные 2 показателя – частота антител и структура аллоиммунизации – могут существенно различаться в разных регионах земного шара, однако представляют собой практически константную величину для каждого конкретного региона.

Неодинаковое распределение групповых антигенов крови на территории Российской Федерации, характеризующееся как межрасовым, так и внутрирасовым разнообразием, вынуждает трансфузиологов постоянно расширять спектр трансфузионно опасных антигенов при переливании крови.

Как полагают авторы, уход от существующей, недостаточно эффективной, практики переливания *совместимой* крови и переход к практике переливания *идентичной* крови позволит в условиях мультинациональной страны, каковой является Россия, существенно повысить качество и безопасность гемотрансфузионной терапии, свести к минимуму риск аллоиммунизации реципиентов.

Предлагаемая тактика, несомненно, будет способствовать улучшению здоровья нации, росту медицинской культуры.

Рекомендуемая литература

1. Бахрамов С.М., Сабиров Д.М., Донсков С.И. Трансфузионная медицина. Учебное пособие. – Ташкент: Sharg, 2013, – 512 с.
2. Блинов Н.И. Учение о группах крови // В.Н. Шамов, А.Н. Филатов. Руководство по переливанию крови. – М.: Медгиз, 1940. – С. 40–126.
3. Воробьев А.И., Городецкий В.М., Шулуток Е.М., Васильев С.А. Острая массивная кровопотеря. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. 175 с.
4. Галактионов В.Г. Иммунология. – 3-е изд. – М.: Академия, 2004. – 522 с.
5. Генофонд и геногеография народонаселения / под ред. Ю.Г. Рычкова: Т. 1. Генофонд населения России и сопредельных стран. – СПб.: Наука, 2000. – 611 с.

6. *Глик Б., Пастернак Дж.* (Glick B.R., Pasternak J.J.) Молекулярная биотехнология (принципы и применение) / пер. с англ. – М.: Мир, 2002. – 589 с.
7. *Донсков С.И., Мороков В.А.* Группы крови человека. Руководство по иммуносерологии. – М., 2011. 1010 с.
8. *Донсков С.И., Мороков В.А., Дубинкин И.В.* Групповые антигены эритроцитов: концепция совместимости: руководство для иммуносерологов и трансфузиологов. – М., 2008. – 183 с.
9. *Доссе Ж.* (Dausset J.) Иммуногематология / пер. с фр. Ю.И. Лорие / под ред. П.Н. Косякова. – М.: Медгиз, 1959. – 638 с.
10. *Иммуносерология (нормативные документы)* / составит. А.Г. Башлай, С.И. Донсков. – М.: ВНИИТИ, 1998. – 196 с.
11. *Косяков П.Н.* Изоантигены и изоантитела человека в норме и патологии. – М.: Медицина, 1974. – 360 с.
12. *Минеева Н.В.* Группы крови человека (основы иммуногематологии). – СПб., 2004. – 185 с.
13. *Попов Н.В.* Элементы изосерологии // Переливание крови / под ред. А.А. Багдасарова, А.В. Гуляева. – М.: Медгиз, 1951. – С. 31–82.
14. *Прокоп О., Гёлер В.* Группы крови человека / пер с нем. А.С. Гладких / под ред. проф. В.В. Томилина. – М.: Медицина, 1991. – 512 с.
15. *Рагимов А.А., Дашкова Н.Г.* Основы трансфузионной иммунологии. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 279 с.
16. *Румянцев А.Г., Аграненко В.А.* Гемотрансфузионная терапия в педиатрии и неонатологии. Руководство для врачей. – М.: МАКС Пресс, 2002. – 644 с.
17. *Соловьева Т.Г.* Резус-фактор в лабораторной и клинической практике. – М.: Медгиз, 1957. – 80 с.
18. *Техническое* руководство американской ассоциации банков крови. – 12-е изд., 1966 / пер. с англ. – Милан, 2000. – 1056 с.
19. *Туманов А.К., Томилин В.В.* Наследственный полиморфизм изоантигенов и ферментов крови в норме и патологии человека. – М., 1969. – 436 с.
20. *Умнова М.А.* Изосерологические системы крови человека и их значение в трансфузиологии // Групповые системы крови и гемотрансфузионные осложнения / под ред. проф. М.А. Умновой. – М.: Медицина, 1989. – С. 5–30.
21. *Щелкунов С.Н.* Генетическая инженерия. – Новосибирск: Сиб. Универс. Изд-во, 2004. – 496 с.
22. *Daniels G.L.* Human Blood Groups. – 2-nd ed. – Oxford: Blackwell Science, 2002. – 560 p.
23. *Issitt P.D., Anstee D.J.* Applied Blood Group Serology. – 4-th ed. – Durham, NC, USA: Montgomery Sc. Publ., 1998. – 1208 p.
24. *Mollison P.L., Engelfriet P., Contreras M.* Blood Transfusion in Clinical Medicine. – 10-th ed. – Oxford: BSP, 1997. – 1033 p.
25. *Race R.R., Sanger R.* Blood Groups in Man. – 6-th ed. – Oxford: BSP, 1975. – 659 p.
26. *Reid M.E., Lomas-Francis C.* The Blood Group Antigen: FactsBook. – 2-nd ed. – London: Academic Press, 2004. – 561 p.

27. *Schenkel-Brunner H.* Human Blood Groups. Chemical and Biochemical Basis of Antigen Specificity. – 2-nd. ed. – Wien, NY: Springer-Verlag, 2000. – 637 p.

Приложения

1. Выписка из Постановления Правительства Москвы от 30.12.2008 г. № 1282-ПП «О Городской целевой программе «Развитие донорства крови и ее компонентов» на 2009–2010 гг.

В настоящее время в службе крови Москвы сложилось очевидное несоответствие в методике подбора пар донор – реципиент при переливании эритроцитов: доноров типировают по 9 трансфузионно опасным антигенам (A, B, D, c, E, C, e, K, C^w), а реципиентов – только по трем (A, B и D). Остальные трансфузионно опасные антигены в лечебных учреждениях не учитывают и подбор по ним не проводят.

При современном уровне знаний в области иммуносерологии переливать резус-положительным реципиентам эритроциты резус-положительных доноров без учета остальных антигенов системы резус недопустимо. По данным различных авторов от 15 до 100 % больных, которым переливают эритроциты, подвержены риску аллоиммунизации. Максимальное совмещение донора и реципиента по антигенам клеток и плазменных белков крови является основой иммунологической безопасности.

2. Выписка из ГОСТ Р52938–2008 «Кровь донорская и ее компоненты. Контейнеры с консервированной кровью или ее компонентами. Маркировка»

Технологическая этикетка, как правило, черно-белая, но допускается использовать цветные технологические этикетки. При использовании цветных этикеток их цвет должен соответствовать принятому для маркировки групп крови по системе АВО:

O(I) – белый; A(II) – синий; B(III) – красный; AB(IV) – желтый.

7.3.4. Обозначение групповой принадлежности

При маркировке готовой продукции указывают групповую принадлежность донора по системе АВО. Группу крови АВО обозначают буквами и римскими цифрами, взятыми в круглые скобки: О(І), А(ІІ), В(ІІІ), АВ(ІV). Резус-принадлежность обозначают Rh⁺ или Rh⁻ и дублируют надписью: Rh-положительная или Rh-отрицательная.

Обозначение группы крови АВО с символом Rh⁺ и надписью Rh-положительная наносят черными буквами на белом фоне. Обозначение группы крови АВО с символом Rh⁻ и надписью Rh-отрицательная наносят белыми буквами на черном фоне.

Группу крови АВО и резус-принадлежность указывают в первой строке поля маркировки шрифтом кеглем не менее 22 пунктов. Дублирующую надпись: Rh положительная или Rh отрицательная, помещают во второй строке шрифтом кеглем не менее 12 пунктов.

При обозначении фенотипа указывают все исследованные антигены.

Антигены системы Келл и другие обозначают буквами С, с, С^W, Е, е, К и к со знаком плюс, если антиген присутствует, или со знаком минус, если антиген отсутствует.

Перечень исследованных антигенов со знаком плюс и минус указывают в третьей строке поля маркировки. При написании антигены одной системы отделяют от антигенов другой системы пробелами.

Символы и надписи, обозначающие групповую принадлежность, должны быть нанесены посередине выделенного им поля.

Образец записи результата:

А(ІІ) Rh⁺ (С+с-С^W-D+E-e+) К-k+

О(І) Rh⁻ (С-c+C^W-D-E-e+) К+k+

3. Выписка из Постановления Правительства РФ от 31 декабря 2010 г. № 1230

Правительство Российской Федерации постановляет:

Утвердить прилагаемые правила и методы исследований и правила отбора образцов донорской крови, необходимые для применения и исполнения технического регламента о требованиях безопасности крови, ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно-инфузионной терапии.

Председатель Правительства Российской Федерации

В. Путин

1. Настоящий документ устанавливает правила и методы исследований и правила отбора образцов донорской крови, необходимые для применения и исполнения технического регламента о требованиях безопасности крови, ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно-инфузионной терапии, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 26 января 2010 г. № 29.

2. В настоящее время клинически значимыми при переливании крови и ее компонентов являются группы крови по следующим системам:

система АВО, включающая антигены А, В;

система резус, включающая антиген D и антигены С, с, Е, е;

система Келл, включающая антиген К.

В норме у человека могут присутствовать указанные антигены и антитела к антигенам системы АВО.

Переливание крови и(или) ее компонентов, а также беременность могут способствовать появлению антиэритроцитарных аллоантител.

3. Требования безопасности крови и ее компонентов предусматривают проведение исследований образцов донорской крови для определения групп крови по системам АВО, резус-принадлежности, а также для определения фенотипа антигенов эритроцитов по системам резус и Келл и скрининга антиэритроцитарных аллоантител.

4. В целях обеспечения соблюдения требований безопасности крови и ее компонентов необходимо использовать следующие иммунологические методы:

а) метод агглютинации, основанный на слипании и выпадении в осадок частиц (агглютинатов), корпускулярного антигена под воздействием антител (агглютининов), - используется для определения групп крови по системам АВО, резус-принадлежности и фенотипа антигенов эритроцитов по системам резус и Келл, исследование может проводиться как ручным способом (нанесение реагентов и образцов крови на плоскую поверхность), так и с применением лабораторного оборудования (внесение реагентов и образцов крови в гель, в микропланшеты, в микропланшеты с магнитизированными эритроцитами, а также в колонки на стеклянных микросферах);

б) метод гемагглютинации, основанный на способности эритроцитов с адсорбированными антигенами или антителами агглютинироваться в присутствии гомологичных сывороток или соответствующих антигенов с образованием гемагглютинатов, - используется для определения резус-принадлежности, фенотипа антигенов эритроцитов по системам резус и Келл, скрининга антиэритроцитарных аллоантител, исследование проводится в пробирках с помощью центрифугирования, а также с применением лабораторного оборудования (внесение реагентов и образцов крови в гель, в микропланшеты, в микропланшеты с магнитизированными эритроцитами, а также в колонки на стеклянных микросферах).

5. В целях обеспечения соблюдения требований безопасности крови и ее компонентов необходимо применять следующие правила исследования групп крови:

а) определение группы крови по системе АВО:

группа крови по системе АВО определяется перед каждым взятием у донора крови или ее компонентов (далее – донация) с использованием моноклональных антител специфичности анти-А, анти-В одной серии реактивов;

повторное определение группы крови по системе АВО проводится из образца донорской крови, взятого во время донации перекрестным способом со стандартными эритроцитами А, В;

допускается определение группы крови по системе АВО в образцах крови доноров плазмы без использования стандартных эритроцитов, если ранее группа крови по системе АВО определена два-

жды на образцах крови каждого донора от разных донаций с использованием перекрестного способа исследования со стандартными эритроцитами;

в каждую серию исследований включаются «положительный» и «отрицательный» контрольные образцы (эритроциты А, В, О и плазма с антителами специфичности анти-А, анти-В);

в случае расхождения результатов прямого и обратного определения (выявление экстраагглютинина анти-А₁), а также при ослаблении силы реакции агглютинации при выявлении антигена А для диагностики подгруппы антигена А используют реактив анти-А₁;

выявление экстраагглютинина анти-А₁ является основанием запрета использования компонентов крови для лечебных целей;

б) определение группы крови по системе резус:

резус-принадлежность определяется наличием или отсутствием антигена D, выявляемого при исследовании образца донорской крови, взятого во время донации;

резус-принадлежность устанавливается как положительная при наличии антигена D и как отрицательная при отсутствии антигена D;

определение слабых вариантов антигена D (D^u) является обязательным (доноры, имеющие слабый или частичный антиген D (D^u) считаются резус (D)-положительными);

типирование антигенов эритроцитов С, с, Е, е системы резус является обязательным и производится дважды на образцах крови каждого донора от разных донаций различными сериями типизирующих реагентов или различными методами. При совпадении результатов фенотип донора считается установленным и при последующих донациях не определяется;

в каждую серию исследований включаются «положительный» и «отрицательный» контроли (эритроциты D⁻ и D⁺, С⁻ и С⁺, Е⁻ и Е⁺, е⁺ и е⁻, с⁺ и с⁻).

6. В целях обеспечения соблюдения требований безопасности крови и ее компонентов необходимо применять также следующие правила:

а) правила определения антигена эритроцитов К системы Келл:

исследуется у каждого донора двукратно во время разных донаций различными сериями типизирующих реагентов или различными методами;

при совпадении результатов К-принадлежность считается установленной и при последующих донациях не определяется;

в каждую серию исследований включаются «положительный» и «отрицательный» контроли (эритроциты К+ и К-);

б) правила скрининга антиэритроцитарных аллоантител донорской крови:

скрининг антиэритроцитарных аллоантител донорской крови проводится у мужчин и женщин при каждой донации независимо от группы крови системы АВО и резус (D)-принадлежности;

при скрининге антител выявляют клинически значимые антитела с использованием панели стандартных эритроцитов, состоящей не менее чем из 3 видов клеток, типированных по всем клинически значимым антигенам;

не допускается применение смеси (пула) образцов эритроцитов для скрининга антиэритроцитарных аллоантител;

специфичность антител к антигенам эритроцитов устанавливается с идентификационной панелью, состоящей не менее чем из 10 образцов фенотипированных эритроцитов;

выявление антиэритроцитарных аллоантител является основанием для запрета использования крови и ее компонентов в лечебных целях;

в каждую серию исследований включаются «положительный» и «отрицательный» контроли (образцы сывороток, содержащие и не содержащие антитела).

7. Отбор образцов донорской крови для определения групп крови осуществляется во время донации непосредственно из системы для взятия крови (емкость однократного применения, используемая для сбора крови и ее компонентов) без нарушения целостности системы или из специального контейнера-спутника для проб, имеющегося в составе этой системы, в вакуумсодержащие (вакуумобразующие) одноразовые пробирки, содержащие антикоагулянт этилендиаминтетрауксусная дикалиевая или трикалиевая соль.

Пробирки с образцами крови после оседания эритроцитов (не ранее чем через 30 минут после взятия крови) подвергаются центрифугированию, режим которого должен соответствовать инструкции производителя реагентов.

Не допускается открытие пробирок с образцами донорской крови до момента доставки их на исследование в клиничко-диагностическую лабораторию.

Транспортировка в лабораторию пробирок с образцами крови осуществляется в специальных контейнерах при температуре от +17 °С до +24 °С при условии недопущения прямого воздействия света и встряхивания.

8. В лечебных целях используется кровь и ее компоненты, идентифицированные по системам АВО, резус-принадлежности, фенотипу антигенов эритроцитов по системам резус и Келл и не имеющие клинически значимых аллоантител к антигенам эритроцитов.

14. Клиничко-диагностические лаборатории, осуществляющие исследование образцов донорской крови, применяют методики, являющиеся неотъемлемой частью реагентов, зарегистрированных в установленном порядке в соответствии с законодательством Российской Федерации. Методики исследований, интерпретация результатов должны соответствовать инструкциям производителей реагентов и оборудования.

15. Деятельность клиничко-диагностических лабораторий, осуществляющих исследование образцов донорской крови в целях обеспечения ее безопасности, организуется в соответствии со следующими документами в области стандартизации:

ГОСТ Р ИСО 15189-2009 «Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности»;

ГОСТ Р ИСО 15198-2009 «Клиническая лабораторная медицина. Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Подтверждение методик контроля качества, рекомендуемых изготовителями пользователям»;

ГОСТ Р 53133.3-2008 «Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических лабораторных исследований. Часть 3.

Описание материалов для контроля качества клинических лабораторных исследований»;

ГОСТ Р 53133.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила проведения клинического аудита эффективности лабораторного обеспечения деятельности медицинских организаций»;

ГОСТ Р 53079.1-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 1. Правила описания методов исследований»;

ГОСТ Р 53079.2-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 2. Руководство по управлению качеством в клинико-диагностической лаборатории. Типовая модель»;

ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа»;

ГОСТ Р 53022.1-2008 «Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 1. Правила менеджмента качества клинических лабораторных исследований»;

ГОСТ Р 53022.2-2008 «Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 2. Оценка аналитической надежности методов исследования (точность, чувствительность, специфичность);

ГОСТ Р 53022.3-2008 «Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов».

4. Выписка из приказа МЗ РФ от 02.04.2013 г. № 183н «Об утверждении правил клинического использования донорской крови и (или) ее компонентов»

III. Правила проведения трансфузии (переливания) донорской крови и (или) ее компонентов

7. При поступлении реципиента, нуждающегося в проведении трансфузии (переливания) донорской крови и (или) ее компонентов, в организацию врачом клинического отделения, прошедшим обучение по вопросам трансфузиологии, проводится первичное исследование групповой и резус-принадлежности крови реципиента.

8. Подтверждающее определение группы крови по системе АВО и резус-принадлежности, а также фенотипирование по антигенам С, с, Е, е, С^W, К, к и определение антиэритроцитарных антител у реципиента осуществляется в клинико-диагностической лаборатории.

Результаты подтверждающего определения группы крови АВО и резус-принадлежности, а также фенотипирования по антигенам С, с, Е, е, С^W, К, к и определения антиэритроцитарных антител у реципиента вносятся в медицинскую документацию, отражающую состояние здоровья реципиента.

Запрещается переносить данные о группе крови и резус-принадлежности в медицинскую документацию, отражающую состояние здоровья реципиента, организации, в которой планируется проведение трансфузии (переливания) донорской крови и (или) ее компонентов реципиенту, с медицинской документации, отражающей состояние здоровья реципиента, других организаций, где ранее реципиенту была оказана медицинская помощь, в том числе включающая трансфузию (переливание) донорской крови и (или) ее компонентов, или проводилось его медицинское обследование.

9. Реципиентам, имеющим в анамнезе посттрансфузионные осложнения, беременность, рождение детей с гемолитической болезнью новорожденного, а также реципиентам, имеющим аллоиммунные антитела, производят индивидуальный подбор компонентов крови в клинико-диагностической лаборатории.

10. В день трансфузии (переливания) донорской крови и (или) ее компонентов (не ранее чем за 24 часа до трансфузии (переливания) донорской крови и (или) ее компонентов) у реципиента из вены берут кровь: 2 - 3 мл в пробирку с антикоагулянтом и 3 - 5 мл в пробирку без антикоагулянта для проведения обязательных контрольных исследований и проб на совместимость. Пробирки должны быть маркированы с указанием фамилии и инициалов реципиента, номера меди-

цинской документации, отражающей состояние здоровья реципиента, наименования отделения, где проводится трансфузия (переливание) донорской крови и (или) ее компонентов, групповой и резус-принадлежности, даты взятия образца крови.

11. Перед началом трансфузии (переливания) донорской крови и (или) ее компонентов врач, проводящий трансфузию (переливание) донорской крови и (или) ее компонентов, должен убедиться в их пригодности для переливания с учетом результатов лабораторного контроля, проверить герметичность контейнера и правильность паспортизации, провести макроскопический осмотр контейнера с кровью и (или) ее компонентами.

12. При переливании эритроцитсодержащих компонентов донорской крови врач, проводящий трансфузию (переливание) эритроцитсодержащих компонентов, проводит контрольную проверку группы крови донора и реципиента по системе АВО, а также пробы на индивидуальную совместимость.

При совпадении результатов первичного и подтверждающего определения группы крови по системе АВО, резус-принадлежности, фенотипа донора и реципиента, а также сведений об отсутствии у реципиента антиэритроцитарных антител врач, проводящий трансфузию (переливание) эритроцитсодержащих компонентов, перед переливанием при контрольной проверке определяет группу реципиента и донора крови по системе АВО и выполняет только одну пробу на индивидуальную совместимость - на плоскости при комнатной температуре.

IV. Правила исследований при трансфузии (переливании) донорской крови и (или) ее компонентов

22. У взрослых реципиентов проводятся следующие исследования:

а) первичное и подтверждающее определение группы крови по системе АВО и резус-принадлежности (антиген D) (осуществляется с использованием реагентов, содержащих анти-А-, анти-В- и анти-D-антитела соответственно);

б) при получении результатов, вызывающих сомнения (слабовыраженные реакции) при подтверждающем исследовании, определение группы крови по системе АВО осуществляется с использованием реагентов, содержащих анти-А- и анти-В-антитела, и стандартных эритроцитов О(І), А(ІІ), В(ІІІ), за исключением случаев, предусмотренных подпунктом "а" пункта 68 настоящих Правил, а определение резус-принадлежности (антиген D) – с использованием реагентов, содержащих анти-D-антитела другой серии;

в) определение антигенов эритроцитов С, с, Е, е, С^W, К и к с использованием реагентов, содержащих соответствующие антитела (у детей до 18 лет, женщин детородного возраста и беременных, реципиентов с отягощенным трансфузионным анамнезом, имеющих антитела к антигенам эритроцитов, реципиентов, нуждающихся в многократных (в том числе повторных) трансфузиях (переливаниях) донорской крови и (или) ее компонентов (кардиохирургия, трансплантология, ортопедия, онкология, онкогематология, травматология, гематология);

г) скрининг антиэритроцитарных антител с использованием не менее 3 образцов эритроцитов, которые в совокупности содержат антигены С, с, Е, е, С^W, К, к, Fy^a, Fy^b, Lu^a, Lu^b, Jk^a и Jk^b.

23. При выявлении у реципиента антиэритроцитарных антител осуществляется:

а) типирование эритроцитов по антигенам систем резус, Келл и других систем с помощью антител соответствующей специфичности;

б) идентификация антиэритроцитарных антител с панелью типированных эритроцитов, содержащей не менее 10 образцов клеток;

в) индивидуальный подбор доноров крови и эритроцитов с проведением непрямого антиглобулинового теста или его модификации с аналогичной чувствительностью.

24. При проведении иммуносерологических исследований используются только разрешенные к применению для данных целей на территории Российской Федерации оборудование, реактивы и методы исследования.

V. Правила и методы исследований при трансфузии (переливании) консервированной донорской крови и эритроцитсодержащих компонентов

25. При плановой трансфузии (переливании) консервированной донорской крови и эритроцитсодержащих компонентов врач, проводящий трансфузию (переливание) донорской крови и (или) ее компонентов, обязан:

а) по данным медицинской документации, отражающей состояние здоровья реципиента, и данным на этикетке контейнера консервированной донорской крови или эритроцитсодержащих компонентов удостовериться, что фенотипы реципиента и донора совместимы. Для гетерозиготных реципиентов (Сс, Ее, Кк) совместимыми считают как гетеро-, так и гомозиготных доноров: Сс, СС и сс; Ее, ЕЕ и ее; Кк, КК и кк соответственно. Для гомозиготных реципиентов (СС, ЕЕ, КК) совместимыми являются только гомозиготные доноры. Подбор доноров крови и (или) ее компонентов, совместимых с реципиентом по Rh-Hr и Кк, при трансфузии (переливании) эритроцитсодержащих компонентов осуществляется в соответствии с таблицей, приведенной в приложении № 2 к настоящим Правилам;

б) перепроверить группу крови реципиента по системе АВО;

в) определить группу крови донора в контейнере по системе АВО (резус-принадлежность донора устанавливается по обозначению на контейнере);

г) провести пробу на индивидуальную совместимость крови реципиента и донора методами:

на плоскости при комнатной температуре;

одной из трех проб (непрямая реакция Кумбса или ее аналоги, реакция конглоутинации с 10% желатином или реакция конглоутинации с 33% полиглюкином);

д) провести биологическую пробу.

26. При экстренной трансфузии (переливании) консервированной донорской крови и эритроцитсодержащих компонентов врач, проводящий трансфузию (переливание) донорской крови и (или) ее компонентов, обязан:

а) определить группу крови реципиента по системе АВО и его резус-принадлежность;

б) определить группу крови донора в контейнере по системе АВО (резус-принадлежность донора устанавливается по обозначению на контейнере);

в) провести пробу на индивидуальную совместимость крови реципиента и донора методами:

на плоскости при комнатной температуре;

одной из трех проб (непрямая реакция Кумбса или ее аналоги, реакция конглоутинации с 10% желатином или реакция конглоутинации с 33% полиглюкином);

г) провести биологическую пробу.

27. При наличии у реципиента антиэритроцитарных антител подбор компонентов донорской крови проводится в клинико-диагностической лаборатории. Если эритроцитная масса или взвесь подобраны реципиенту индивидуально в клинико-диагностической лаборатории, врач, проводящий трансфузию (переливание) донорской крови и (или) ее компонентов, перед переливанием определяет группу крови реципиента и донора и проводит только одну пробу на индивидуальную совместимость на плоскости при комнатной температуре и биологическую пробу.

VI. Правила и методы исследований при трансфузии (переливании) свежемороженой плазмы и тромбоцитного концентрата (тромбоцитов)

28. При переливании свежемороженой плазмы врач, проводящий трансфузию (переливание) донорской крови и (или) ее компонентов, обязан определить группу крови реципиента по системе АВО, при переливании тромбоцитов - группу крови по системе АВО и резус-принадлежность реципиента.

Групповую и резус-принадлежность донора врач, проводящий трансфузию (переливание) тромбоцитов, устанавливает по маркировке на контейнере с компонентом крови, при этом пробы на индивидуальную совместимость не проводятся.

29. При переливании свежезамороженной плазмы и тромбоцитов антигены эритроцитов С, с, Е, е, С^W, К и k не учитываются.

32. Донорская кровь и эритроцитсодержащие компоненты переливаются только той группы системы АВО и той резус- и Келл-принадлежности, которая имеется у реципиента. При наличии медицинских показаний подбор пары "донор – реципиент" проводят с учетом антигенов С, с, Е, е, С^W, К и k.

При плановой трансфузии (переливании) консервированной крови и эритроцитсодержащих компонентов для предупреждения реакций и осложнений, а также аллоиммунизации реципиентов проводятся совместимые трансфузии (переливания) с использованием эритроцитов доноров, фенотипированных по 10 антигенам (А, В, D, С, с, Е, е, С^W, К и k) для групп реципиентов, указанных в подпункте "в" пункта 22 настоящих Правил.

33. По жизненным показаниям в экстренных случаях реципиентам с группой крови А(II) или В(III) при отсутствии одногруппной крови или эритроцитсодержащих компонентов могут быть перелиты резус-отрицательные эритроцитсодержащие компоненты О(I), а реципиентам АВ(IV) могут быть перелиты резус-отрицательные эритроцитсодержащие компоненты В(III) независимо от резус-принадлежности реципиентов.

В экстренных случаях при невозможности определения группы крови по жизненным показаниям реципиенту переливают эритроцитсодержащие компоненты О(I) группы резус-отрицательные в количестве не более 500 мл независимо от групповой и резус-принадлежности реципиента.

При невозможности определения антигенов С, с, Е, е, С^W, К и k реципиенту переливают эритроцитсодержащие компоненты, совместимые по группе крови системы АВО и резус-антигену D.

39. Хранение облученных эритроцитсодержащих компонентов (эритроцитная взвесь, эритроцитная масса, отмые эритроциты) до переливания взрослому реципиенту не должно превышать 28 дней с момента заготовки эритроцитсодержащих компонентов.

40. Для проведения трансфузии (переливания) донорской крови и эритроцитсодержащих компонентов аллоиммунизированным реципиентам осуществляется следующее:

а) при выявлении у реципиента экстраагглютининов анти- A_1 ему переливаются эритроцитсодержащие компоненты, не содержащие антигена A_1 , реципиенту $A_{2\beta\alpha_1}(II)$

переливаются эритроцитсодержащие компоненты $A_2(II)$ или $O(I)$, реципиенту $A_2B_{\alpha_1}(IV)$ – эритроцитсодержащие компоненты $B(III)$;

б) реципиентам с выявленными антиэритроцитарными антителами или тем реципиентам, у которых антитела были обнаружены при предыдущем исследовании, переливаются эритроцитсодержащие компоненты, не содержащие антигены соответствующей специфичности;

в) при наличии у реципиента неспецифически реагирующих антиэритроцитарных антител (панагглютининов) или антител с неустановленной специфичностью ему переливаются индивидуально подобранные эритроцитсодержащие компоненты, не реагирующие в серологических реакциях с сывороткой реципиента;

г) для аллоиммунизированных реципиентов индивидуальный подбор крови и эритроцитсодержащих компонентов крови осуществляется в клиничко-диагностической лаборатории;

д) для реципиентов, иммунизированных антигенами системы лейкоцитов (HLA), проводится подбор доноров по системе HLA.

VIII. Правила проведения трансфузии (переливания) свежезамороженной плазмы

41. Переливаемая свежезамороженная плазма донора должна быть той же группы по системе ABO, что и у реципиента. Разногруппность по системе резус не учитывается. При переливании больших объемов свежезамороженной плазмы (более 1 л) соответствие донора и реципиента по антигену D учитывается обязательно.

42. В экстренных случаях при отсутствии одногруппной свежезамороженной плазмы допускается переливание свежезамороженной плазмы группы AB(IV) реципиенту с любой группой крови.

IX. Правила трансфузии (переливания) криопреципитата

51. Криопреципитат донора должен быть той же группы по системе АВО, что и у реципиента.

X. Правила трансфузии (переливания) тромбоцитного концентрата (тромбоцитов)

59. В экстренных случаях при отсутствии одноклассных тромбоцитов допускается переливание тромбоцитов O(I) группы реципиентам других групп крови.

XI. Правила трансфузии (переливания) концентрата гранулоцитов (гранулоцитов), полученных методом афереза.

65. Гранулоциты должны быть совместимы по антигенам систем АВО и резус-принадлежности.

XII. Правила трансфузии (переливания) донорской крови и (или) ее компонентов детям

67. При поступлении в организацию ребенка, нуждающегося в трансфузии (переливании) донорской крови и (или) ее компонентов, первичное исследование групповой и резус-принадлежности крови ребенка проводится медицинским работником в соответствии с требованиями пункта 7 настоящих Правил.

68. В обязательном порядке у ребенка, нуждающегося в трансфузии (переливании) компонентов донорской крови и (или) ее компонентов (после первичного определения групповой и резус-принадлежности), в клинико-диагностической лаборатории проводятся: подтверждающее определение группы крови АВО и резус-принадлежности, фенотипирование по другим антигенам эритроцитов С, с, Е, е, С^W, К и к, а также выявление антиэритроцитарных антител.

Указанные исследования проводятся в соответствии со следующими требованиями:

а) определение группы крови по системе АВО проводится с использованием реагентов, содержащих антитела анти-А и анти-В. У детей старше 4 месяцев группа крови определяется, в том числе пере-

крестным методом, с использованием реагентов анти-А, анти-В и стандартных эритроцитов О(І), А(ІІ) и В(ІІІ);

б) определение резус-принадлежности (антиген D) проводится с использованием реагентов, содержащих анти-D-антитела;

в) определение антигенов эритроцитов С, с, Е, е, С^W, К и k проводится с использованием реагентов, содержащих соответствующие антитела;

г) скрининг антиэритроцитарных антител проводится непрямым антиглобулиновым тестом, при котором выявляются клинически значимые антитела, с использованием панели стандартных эритроцитов, состоящей не менее чем из 3 образцов клеток, содержащих в совокупности клинически значимые антигены в соответствии с подпунктом "г" пункта 22 настоящих Правил. Не допускается применение смеси (пула) образцов эритроцитов для скрининга антиэритроцитарных аллоантител.

69. При выявлении у ребенка антиэритроцитарных антител осуществляется индивидуальный подбор доноров эритроцитсодержащих компонентов с проведением непрямого антиглобулинового теста или его модификации с аналогичной чувствительностью.

70. При необходимости экстренной трансфузии (переливания) донорской крови и (или) ее компонентов в стационарных условиях организации при отсутствии круглосуточного иммуносерологического обеспечения, ответственным за определение группы крови по системе АВО и резус-принадлежности ребенка является врач, проводящий трансфузию (переливание) донорской крови и (или) ее компонентов.

71. Выполнение исследований, указанных в пункте 68 настоящих Правил, проводят иммуносерологическими методами: ручным способом (нанесение реагентов и образцов крови на плоскую поверхность или в пробирку) и с применением лабораторного оборудования (внешение реагентов и образцов крови в микропланшеты, колонки с гелем или стеклянными микросферами и другими, разрешенными к применению для данных целей на территории Российской Федерации методами исследования).

72. Для проведения трансфузии (переливания) донорской крови эритроцитсодержащих компонентов аллоиммунизированным реципиентам детского возраста применяются следующие правила:

а) при выявлении у реципиента детского возраста экстраагглютининов анти- A_1 ему переливаются эритроцитсодержащие компоненты, не содержащие антигена A_1 , свежзамороженную плазму – одногруппную. Реципиенту детского возраста с $A_{2\beta\alpha_1}$ (II) переливаются отмытые эритроциты O(I) и свежзамороженная плазма A(II), реципиенту детского возраста с $A_2B_{\alpha_1}$ (IV) переливаются отмытые эритроциты O(I) или B(III) и свежзамороженная плазма AB(IV);

б) при наличии у реципиента детского возраста неспецифически реагирующих антиэритроцитарных антител (панагглютининов) ему переливаются эритроцитсодержащие компоненты O(I) резус-отрицательные, не реагирующие в серологических реакциях с сывороткой реципиента;

в) для аллоиммунизированных реципиентов детского возраста индивидуальный подбор донорской крови и эритроцитсодержащих компонентов проводится в клинико-диагностической лаборатории;

г) для HLA-иммунизированных реципиентов детского возраста проводится подбор доноров тромбоцитов по системе HLA.

74. При плановом переливании эритроцитсодержащих компонентов врач, проводящий трансфузию (переливание) донорской крови и (или) ее компонентов, обязан:

а) по данным медицинской документации, отражающей состояние здоровья реципиента детского возраста, и данным на этикетке контейнера сравнить фенотип донора и реципиента по антигенам эритроцитов с целью установления их совместимости. Запрещается введение пациенту антигена эритроцитов, отсутствующего в его фенотипе;

б) перепроверить группу крови реципиента детского возраста по системе ABO;

в) определить группу крови донора по системе ABO (резус-принадлежность донора устанавливается по обозначению на контейнере);

г) провести пробу на индивидуальную совместимость крови реципиента детского возраста и донора методами: на плоскости при комнатной температуре одной из трех проб (непрямая реакция Кумбса или ее аналоги, реакция конглоутинации с 10% желатином или реакция конглоутинации с 33% полиглюкином). Если донорская кровь или эритроцитсодержащий компонент индивидуально подобран в клиничко-диагностической лаборатории, данная проба не проводится;

д) провести биологическую пробу.

75. При экстренной трансфузии (переливании) эритроцитсодержащих компонентов реципиенту детского возраста врач, проводящий трансфузию (переливание) донорской крови и (или) ее компонентов, обязан:

а) определить группу крови реципиента детского возраста по системе АВО и его резус-принадлежность;

б) определить группу крови донора по системе АВО (резус-принадлежность донора устанавливаются по обозначению на контейнере);

в) провести пробу на индивидуальную совместимость крови донора и реципиента детского возраста методами: на плоскости при комнатной температуре одной из трех проб (непрямая реакция Кумбса или ее аналоги, реакция конглоутинации с 10% желатином или реакция конглоутинации с 33% полиглюкином);

г) провести биологическую пробу.

В случае невозможности определения фенотипа реципиента детского возраста по антигенам эритроцитов С, с, Е, е, С^W, К и к допускается не учитывать при переливании эритроцитсодержащих компонентов указанные антигены.

79. Подбор донорской крови и (или) ее компонентов при трансфузии (переливании) детям до 4 мес жизни при гемолитической болезни новорожденных по системе АВО или подозрении на гемолитическую болезнь новорожденных осуществляется в соответствии с таблицей, приведенной в приложении № 3 к настоящим Правилам.

В случае трансфузии (переливания) эритроцитсодержащих компонентов, отличающихся по системе АВО от группы крови ребенка,

используются отмытые или размороженные эритроциты, не содержащие плазмы с агглютинидами α и β , с учетом фенотипа реципиента.

80. Для внутриутробной трансфузии (переливания) донорской крови и (или) ее компонентов используются эритроцитсодержащие компоненты O(I) группы резус-D-отрицательные со сроком хранения не более 5 дней с момента заготовки компонента.

84. Подбор компонентов донорской крови в зависимости от специфичности аллоантител осуществляется следующим образом:

а) при гемолитической болезни новорожденных, вызванной аллоиммунизацией к антигену D системы резус, используются одноклассовые резус-отрицательные эритроцитсодержащие компоненты и одноклассовая резус-отрицательная свежемороженая плазма;

б) при несовместимости по антигенам системы ABO переливаются отмытые эритроциты или эритроцитная взвесь и свежемороженая плазма в соответствии с таблицей, приведенной в приложении N 3 к настоящим Правилам, соответствующие резус-принадлежности и фенотипу ребенка;

в) при одновременной несовместимости по антигенам систем ABO и резус переливают отмытые эритроциты или эритроцитную взвесь O(I) группы резус-отрицательные и свежемороженую плазму AB(IV) резус-отрицательную;

г) при гемолитической болезни новорожденных, вызванной аллоиммунизацией к другим редким антигенам эритроцитов, осуществляется индивидуальный подбор донорской крови.

Донсков Сергей Иванович, доктор медицинских наук, профессор кафедры производственной и клинической трансфузиологии Московского государственного медико-стоматологического университета Минздрава России.

Уртаев Бексолтан Махарбекович, доктор медицинских наук, профессор, руководитель кафедры производственной и клинической трансфузиологии Московского государственного медико-стоматологического университета Минздрава России.

Дубинкин Игорь Владимирович, кандидат биологических наук, руководитель группы стандартизации иммуносерологических реагентов ФГБУ «Гематологический научный центр», Минздрава России.

НОВАЯ ТАКТИКА ГЕМОТРАНСФУЗИОННОЙ ТЕРАПИИ – ОТ СОВМЕСТИМОСТИ К ИДЕНТИЧНОСТИ

**Руководство для специалистов
производственной и клинической трансфузиологии**

Рецензенты:

Шабалин Владимир Николаевич, академик РАМН, заслуженный деятель науки РФ, профессор, директор Российского НИИ геронтологии,

Серова Людмила Дмитриевна, заслуженный деятель науки РФ, профессор, зам. директора Российского НИИ геронтологии,

Зайцева Галина Алексеевна, доктор мед. наук, профессор, зам. директора ФГУ «Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА России».

Подписано в печать 11.06.2013. Формат
Усл. печ. лист. 21 Тираж 500 экз.
Отпечатано в типографии ИП Скороходов В.А..
119017, г. Москва, Старомонетный пер.,31.

ISBN 978-5-9518-0628-4