

АНТИЭРИТРОЦИТАРНЫЕ АНТИТЕЛА У ЖЕНЩИН ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА: ПРОИСХОЖДЕНИЕ, СПЕЦИФИКА

Л. Николенко, кандидат медицинских наук,
К. Портнов,
Н. Симакова
Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии, Челябинск
E-mail: nikolenkola@yandex.ru

Методом гелевых технологий изучены частота встречаемости и специфика антиэритроцитарных антител у женщин пожилого и старческого возраста. Согласно результатам исследования, степень сенсibilизации у пожилых женщин достаточно высока (индекс сенсibilизации – 1,6%). Сочетание возрастного критерия и отягощенного акушерского и трансфузионного анамнеза позволяет отнести их к группе высокого риска развития посттрансфузионных осложнений гемолитического типа при любых оперативных вмешательствах.

Ключевые слова: гематология, сенсibilизация, антигены, антитела, специфичность.

В последнее время в связи с увеличением продолжительности жизни неуклонно растет численность пациентов пожилого и старческого возраста. В России, как и во многих странах Европы, высок уровень «демографической старости». Гендерная структура стареющего населения складывается в пользу женщин в возрасте ≥ 65 лет (их около 69%) [5]. Благодаря прогрессивному развитию современной медицины и успехам здравоохранения биологический возраст часто не соответствует хронологическому. В результате в настоящее время у лиц пожилого и старческого возраста производятся оперативные вмешательства, которые ранее считали нецелесообразными. С ростом числа оперативных вмешательств увеличивается объем переливаемых компонентов крови, в связи с чем возрастает актуальность обеспечения иммунологической безопасности реципиентов.

При значительном числе систем антигенов крови их роль в трансфузионной терапии неравноценна [1, 2]. При этом все антигены эритроцитов могут вызвать выработку антител, что обуславливает необходимость изучения антигенного профиля эритроцитов и выявления возможной аллосенсibilизации [4, 6].

Рутинные иммуногематологические исследования, разработанные еще в начале (в лучшем случае – в середине) XX века, не позволяют решить эти сложные задачи. Настоящую сенсацию в иммуногематологических исследованиях произвела микротипируемая гелевая технология. В этой современной технологии для определения антигенов эритроцитов, скрининга и идентификации антител используется комбинация методов агглютинации и гель-фильтрации. Использование гелевого теста в поиске антиэритроцитарных антител позволяет не только сократить длительность исследования, но и повысить его чувствительность [6]. Это касается не

только систем АВ0 и Rh, но и клинически важных: Lewis (LE), Duffy (FY), Kidd (JK), Lutheran (LU), Kell (K), MNS, Xg и др.

Нами методом гелевых технологий изучены частота встречаемости и специфика антиэритроцитарных антител у пожилых женщин. В соответствии с поставленной целью проанализированы результаты изучения 8185 образцов крови впервые поступивших в кардиохирургический стационар пожилых женщин, которым производили оперативные вмешательства на сосудах и сердце в период с 2013 по 2015 г. Аллоантитела к эритроцитам определяли методом агглютинации в геле на ID-картах, содержащих анти-IgG реактив, с использованием микротипируемой системы DiaMed GmbH (Швейцария) и тест-эритроцитов ID-DiaCell II-II (ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России). Для определения антигенов крови АВ0 и резус (фенотипа) применяли цоликлоны анти-А₁, анти-В, анти-АВ, анти-Д супер, анти-А₁, анти-С, анти-с, анти-Е, анти-е (ООО «Гематолог», Москва), стандартные эритроциты 0 (I) I-II-III серий, 0 (I), А (II), В (III) (ГБУЗ «ЧОСПК»).

Возраст обследуемых составил 62 [57; 72] года. 85% женщин находились в состоянии физиологической постменопаузы длительностью от 10 до 30 лет. Изучение акушерско-гинекологического анамнеза показало, что 25% пациенток имели в анамнезе 1–3 беременности, 50% – от 3 до 6, 20% – 6–10, 10% – >10.

У 134 женщин в сыворотке крови выявлялись антиэритроцитарные антитела; 62 (32%) сенсibilизированных пациенток были резус-отрицательными (rh-) и 72 (37,3%) – резус-положительными. Антиэритроцитарные антитела были разной специфичности (см. рисунок).

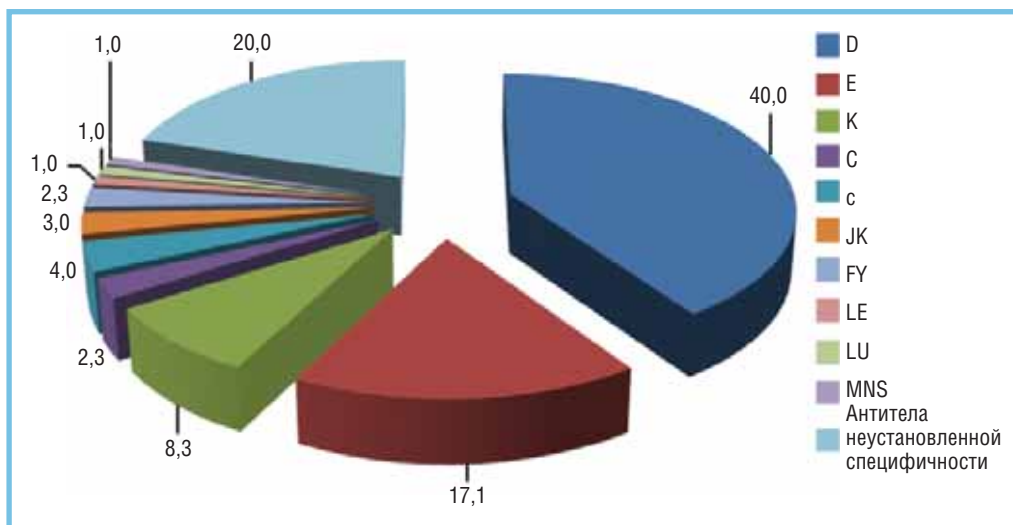
Наиболее часто (см. рисунок) выявлялись антитела системы резус – в 81 (61%) случае; среди них лидировали анти-D-антитела – в 54 (40%) случаях и анти-E-антитела – в 23 (17,1%). Антитела к С- и с-антигенам были обнаружены у 3 (2,3%) и 5 (4%) пациенток; антитела к е-антигену не определялись. Реже обнаруживались антитела других систем: К – 11 (8,3%), JK – 4 (3%), FY – 3 (2,3%), LE – 2 (1,3%), LU – 2 (1%), MNS – 2 (1%).

При изучении антигенов системы резус выявлены 10 разных вариантов. Определена следующая последовательность фенотипов системы резус: ccdee – 54 (40,2%) женщин; >CcDee – 30 (22,8%); >CCDee – 21 (15,6%); >ccDEE – 8 (5,5%); >cDEE – 7 (5,2%); >cDEe – 5 (3,9%); >ccDee – 3 (2,2%); >cCde – 3 (2,1%); CCDEE – 2 (1,7%); >ccdEe – 1 (0,8%).

При исследовании антигенного профиля системы крови АВ0 определена частота выявления групп крови АВ0: А (II) – у 69 (51,4%); >0 (I) – у 36 (26,8%); >В (III) – у 23 (17,3%); >АВ (IV) – у 6 (4,5%).

Согласно приведенным данным, чаще всего антиэритроцитарные антитела выявлялись у женщин с группой крови А (II). Фенотипы, наиболее распространенные среди сенсibilизированных резус-положительных женщин, – CcDee и CCDee, среди резус-отрицательных – ccdee. Статистически значимых различий в зависимости от антигенов систем крови АВ0 и резус не выявлено.

На эритроцитах в настоящее время распознано 308 антигенов, 270 из которых сгруппированы в 30 систем крови. Постоянно выявляются новые антигены, которые могут быть сгруппированы в группы крови на основе серологической, генетической или биохимической идентификации [1]. Кровь каждого человека принадлежит к какой-либо 1 из 4



Частота распределения антиэритроцитарных антител у женщин, %

групп системы АВ0 в зависимости от наличия на эритроцитах антигенов А и В. В системе резус различают 5 основных антигенов: с, С, D, Е, е. Эти антигены, кроме как в эритроцитах человека и некоторых высших обезьян, у других пред-

ставителей фауны и флоры нашей планеты не обнаруживаются. Во избежание несовместимости крови донора и реципиента по эритроцитам следует изучить их групповую и резус-принадлежность. Наиболее частая причина посттрансфузионных осложнений (ПТО) – переливание несовместимой крови, в результате чего развивается реакция антигенов IgM (несовместимость по АВ0) или IgG (несовместимость по резус-фактору) с антигенами, встроенными в клеточную мембрану эритроцитов реципиента, связывание с комплементом с последующим гемолизом. Предпочтение отдается гемотрансфузиям одногруппной крови, совме-

стимой по резус-фактору. На первый взгляд кажется, что эффективнее гемотрансфузии с учетом антигенного состава эритроцитов (фенотипа) доноров и реципиентов. Однако практика показала, что очень сложно, а иногда практически невозможно подобрать пару донор–реципиент с одинаковым антигенным составом эритроцитов. Если же такая пара не подобрана, существует риск развития иммунологического конфликта по другим антигенам эритроцитов. Поэтому считается наиболее целесообразным проводить гемотрансфузии с учетом специфичности антител, выявленных у реципиента предварительным скринингом.

Гемотрансфузии и беременность хорошо изучены и являются главенствующими в структуре аллоиммунизации населения. Частота встречаемости аллоантител к антигенам эритроцитов системы резус различна и определяется иммуногенностью антигена и частотой встречаемости в популяции. Основным (наиболее иммуногенным) является антиген D (Rh), который обычно называют резус-фактор. У неиммунных резус-отрицательных людей антител к резус-фактору нет. Сенсибилизация резус-антигеном может произойти при повторном введении резус-отрицательным реципиентам резус-положительной крови, а также при беременности резус-отрицательной женщины резус-положительным плодом. Дифференциация резус-факторов в эритроцитах плода начинается с 3–4 мес внутриутробной жизни, а образование резус-антител в организме матери – с 4–5 мес беременности. Поэтому при раннем прерывании беременности иммунизации женщины не происходит. Титр антирезус антител в организме матери накапливается в основном в конце беременности и увеличивается с каждой последующей беременностью; повышается и вероятность резус-конфликта [3]. Причиной таких осложнений является недоучет акушерского и трансфузионного анамнезов и нарушение правил определения совместимости крови. Антирезус-антитела в крови резус-отрицательной женщины могут сохраняться до конца жизни. В нашем исследовании анти-D антитела были выявлены у 31 (23,1%) женщины с не менее 1 беременностью в анамнезе давностью от 15 до 50 лет без предшествующих гемотрансфузий; у 21 (15,6%) рожавшей женщины с переливаниями плазмозамещающих растворов в анамнезе; у 2 (1,5 %) нерожавших женщин с переливаниями эритроцитосодержащих

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА 2017
18-20 апреля, ГК "КОСМОС" г. Москва, пр. Мира, 150

IX ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

ТЕМЫ КОНФЕРЕНЦИИ:

- Молекулярная диагностика вирусных гепатитов
- Современные подходы к молекулярной диагностике инфекций органов репродуктивной системы
- Новые направления молекулярной диагностики ВИЧ-инфекции
- Методы молекулярного анализа в онкологии
- Молекулярная диагностика инфекций беременных и новорожденных
- Современные методы в диагностике туберкулеза
- Технологии молекулярного анализа в криминалистике и судебной медицине
- Молекулярная эпидемиология
- Технология выявления инфекционных и наследственных болезней животных ... и другие темы

Организаторы:
Некоммерческое партнерство «Национальное научное общество инфекционистов», ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

www.md2017.ru

компонентов крови в анамнезе. Среди резус-положительных пациенток 37 (27,6%) были с отягощенным трансфузионным анамнезом. Наиболее часто у них выявлялись антитела к E-, c- и C-антигенам системы резус; из других систем лидировали анти-K-антитела.

Немаловажный фактор развития ПТО — биологический возраст. Анализ результатов показал, что у женщин старше 50 лет, имеющих в анамнезе гемотрансфузии и беременности, антитела системы резус выявляли чаще, что согласуется с данными литературы.

Известен еще 1 тип аллоиммунизации — трансплацентарный перенос стволовой клетки от матери плоду. Попадающие в кровотоки ребенка в процессе родов гемопоэтические клетки матери могут создавать в его костном мозге временный очаг кроветворения. Выброс в кровотоки ребенка иногруппных эритроцитов, продуцируемых переживающим материнским клоном, инициирует антителообразование у ребенка. Появившиеся антитела приводят к подавлению указанного клона. Эти антитела не являются классически иммунными, однако представляют такую же угрозу для пациента. Аллоиммунизация за счет эритроцитов, продуцируемых *de novo* материнскими гемопоэтическими клетками, находит подтверждение в многочисленных случаях трансплантации костного мозга [7, 8].

Помимо антигенов системы резус, есть еще ряд клинически важных эритроцитарных антигенов. Метод скринингового исследования крови на присутствие антиэритроцитарных аллоиммунных антител, помимо антител к резус-фактору, позволяет выявить в исследуемой сыворотке аллоиммунные антитела и к другим эритроцитарным антигенам, к которым может возникать сенсibilизация, вызывающая осложнения при переливании крови. Сенсibilизация может произойти при переливании крови, несовместимой по системам K, FY, LE, LU и другим антигенам.

У 27 (20%) женщин специфичность выявленных антител к антигенам эритроцитов установить не удалось; 9 (6,7%) из них были с предшествующими гемотрансфузиями в анамнезе. Возможно, это объясняется присутствием в крови антител сочетанной специфичности (антитела анти-D, -C; анти-E, -K и др.), что затрудняло их идентификацию, либо тем, что они были направлены к антигенам низкой встречаемости.

Ряд авторов полагают, что причинами появления антител у лиц, у которых ранее не было гемотрансфузий, могут быть контакты с группоспецифичными субстанциями растительного, животного и бактериального происхождения, которые содержат полисахариды, гликолипиды и гликопротеины, подобные групповым антигенам эритроцитов человека. Будучи сильными иммуногенами, эти вещества проникают в организм с пищевыми продуктами, возбудителями паразитарных инвазий, инфекций. Хотя данный путь иммунизации и представляет собой казуистику для большинства антигенных систем, но полностью его исключить нельзя [7, 9, 10].

Можно предположить, что синтез спонтанных антител обусловлен мутациями в генах, контролирующим репертуар специфических иммуноглобулинов. В результате таких мутаций иммуногенный стимул становится либо ненужным, либо его восприятие искажается, в результате чего вырабатываются антитела произвольной специфичности, случайно совпадающей с аллоантигенной. Не исключено, что подобные мутации могут провоцироваться вирусами или какими-либо другими воздействиями на генетический аппарат человека [7, 10].

Основная причина низкой выявляемости антиэритроцитарных антител — использование раньше малочувствительных методов исследования [6]. Метод агглютинации в геле позволяет выявить более широкий спектр иммунных клинически значимых антител, чем метод конгломинации с применением желатина. Кроме того, с помощью желатиновой методики антитела выявляют чаще при высоком титре и, как правило, это антитела систем резус и K, а если титр небольшой, есть вероятность, что антитела не определятся вовсе. Использование гелевых технологий позволяет выявлять слабые варианты антигенов и антител, в том числе — редкой специфичности и в низком титре; это — единственный метод выявления посттрансфузионных «химер».

Таким образом, результаты исследования позволили сформировать шкалу иммуногенности антигенов эритроцитов у пожилых женщин: D>E>K>c>C>JK>FY> LE> LU> MNS, что частично совпадает со шкалами приоритетов трансфузионно опасных антигенов, приводимыми разными авторами (Донсков С.И. и др., 2000; Пашкова И.А., 2012).

Для оценки степени реального риска развития ПТО в нашем учреждении мы провели анализ сенсibilизационного фона, который заключался в расчете индекса сенсibilизации (ИС). ИС характеризует частоту встречаемости иммунных антител за конкретный расчетный период, выражается в процентах от числа лиц, впервые обследованных на наличие аллоантител. При анализе сенсibilизационного фона женщин (n=8185) ИС составил 1,6%. Определенный процент пациенток, составляющий сенсibilизационный фон (35,8%), был сформирован после переливания эритроцитосодержащих компонентов крови, т.е. в результате деятельности учрежденной службы крови.

Итак, исследование выявило достаточно высокую степень сенсibilизации у пожилых женщин (ИС — 1,6%). В структуре выявленных антиэритроцитарных антител преобладают антитела к D- и E-антигенам системы резус. Сенсibilизация D-антигеном у 39% женщин связана с предшествующими беременностями резус-положительным плодом. Широкое применение трансфузий эритроцитов без достаточных к тому показаний увеличивает ИС и как следствие — риск ПТО. Сочетание возрастного критерия и отягощенного акушерского и трансфузионного анамнеза у женщин позволяет отнести их к группе высокого риска развития ПТО гемолитического типа при оперативных вмешательствах любого типа. В целях обеспечения иммунологической безопасности гемотрансфузий целесообразно осуществлять их с учетом антигенного состава эритроцитов доноров и реципиентов, специфичности антител, выявленных у реципиента предварительным скринингом методом гелевых технологий и проведением чувствительных проб на совместимость. Для поиска иммунных антиэритроцитарных антител гелевый микрометод в тесте Кумбса является более эффективным. Необходимо обеспечение иммуногематологических лабораторий расширенными панелями эритроцитов для идентификации антител с помощью гелевого теста.

Литература

1. Daniels G. Human Blood Groups. 2nd ed. / Oxford: Blackwell Sciens, 2002; 560 p.
2. Daniels G., Fletcher A., Garatty G. et al. Blood group terminology 2004: from the International Society of Blood Transfusion committee on terminology for red cell surface antigens // Vox Sang. — 2004; 87 (4): 304–16.

3. Долгов В.В., Луговская С.А., Морозова В.Г. и др. Лабораторная диагностика анемий. 2-е изд., доп. / М., Тверь: ООО «Триада», 2009; 148 с.

4. Донсков С.И., Липатова И.С. Аллоиммунизация антигенами эритроцитов – глобальный популяционный процесс // Вестник службы крови России. – 2001; 3: 18–24.

5. Лазебник Л.Б., Верткин А.Л., Конев Ю.В. и др. Старение. Профессиональный врачебный подход. Нац. руководство / М.: Эксмо, 2014; 320 с.

6. Минеева Н.В., Гавровская С.В., Кробинец И.И. и др. Частота выявления антиэритроцитарных, антилейкоцитарных, антитромбоцитарных аллоантител у больных гематологическими заболеваниями // Онкогематология. – 2013; 4: 13–7.

7. Донсков С.И. О происхождении антиэритроцитарных антител и их способности предупреждать сенсibilизацию родильниц (к теории протективного эффекта иммуноглобулина антирезус) // Вестник службы России. – 2010; 3: 21–6.

8. Порешина Л.П. Эритроцитарный химеризм при близкородственной аллогенной трансплантации костного мозга (особенности, проявления, классификация). Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2005; 36 с.

9. Пашкова И.А., Рыжанова Л.Г., Федоренко Т.В. Анализ специфичности аллоиммунных антител, выявленных у реципиентов // Гематол. и трансфузиол. – 2009; 56 (2): 28–32.

10. Кробинец И.И., Чечеткин А.В., Слотина И.И. Особенности аллосенсibilизации к антигенам эритроцитов у доноров запоярья // Трансфузиология. – 2011; 2: 247–51.

ANTI-ERYTHROCYTE ANTIBODIES IN ELDERLY AND SENILE WOMEN: ORIGIN, SPECIFICITY

L. Nikolenko, *Candidate of Medical Sciences*; **K. Portnov**; **N. Simakova**
Federal Center of Cardiovascular Surgery, Chelyabinsk

Gel technology was used to study the frequency and specificity of anti-erythrocyte antibodies in elderly and senile women. The study showed that the degree of sensitization in the elderly women was quite high (sensitization index, 1.6%). The combination of an age criterion and compromised obstetric and blood transfusion histories can be attributed to the high risk of post-transfusion hemolytic complications during surgical interventions.

Key words: hematology, sensitization, antigens, antibodies, specificity.