

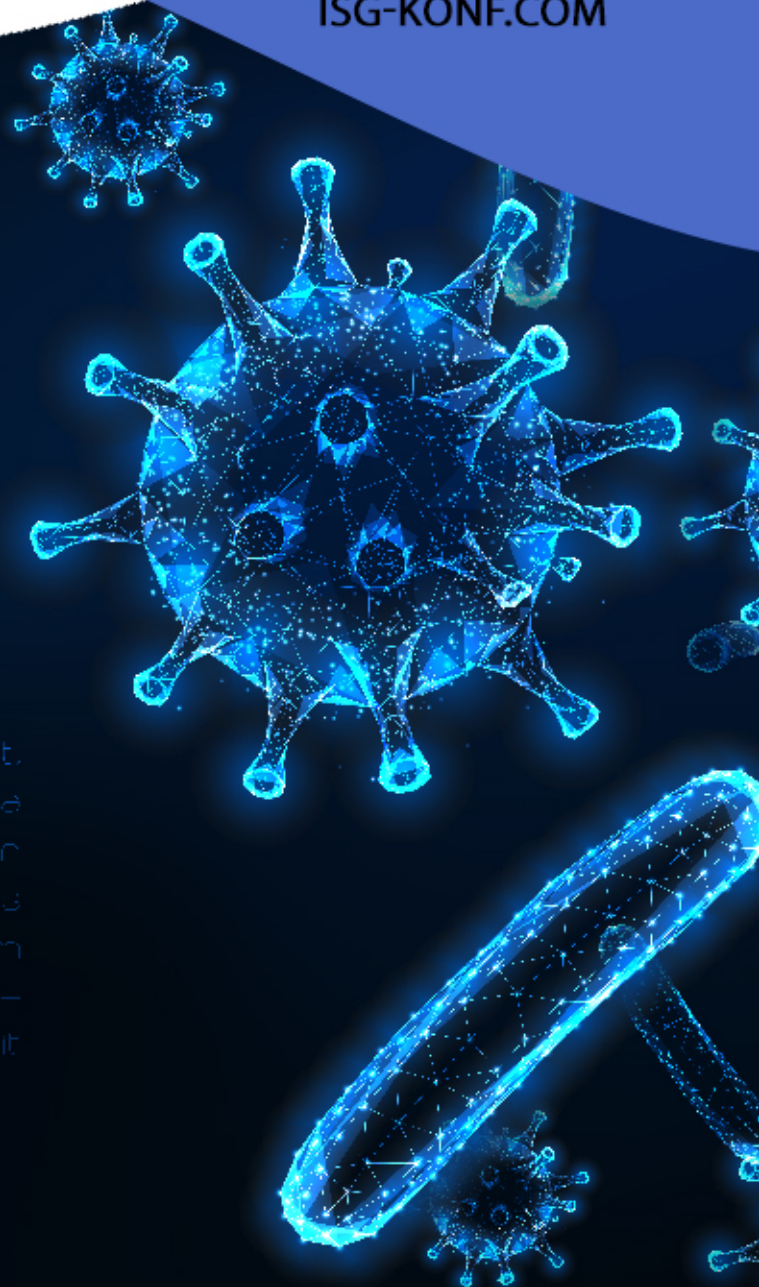
ВИДИБОРЕЦЬ С.В.
ДЕРПАК Ю.Ю.



International Science Group
ISG-KONF.COM

Microorganisms

ipsum dolor sit amet, consectetur adipiscing elit,
is mod tempor incididunt, ut labore et dolore magna
enim ad minim veniam, quis nostrud exercitation
conis nisi ut aliquo ex ea commodo consequat. Duis
dolor in reprehenderit in voluptate velit esse cillum
fuga nulla pariatur. Excepteur sint occaecat cupid-
e non proident, sunt in culpa qui officia deserunt mollit
iure laborum.



ОСНОВИ ТРАНСФУЗІЙНОЇ ІМУНОЛОГІЇ

ISBN 979-8-88862-826-3

DOI 10.46299/979-8-88862-826-3

ВИДИБОРЕЦЬ С.В.
ДЕРПАК Ю.Ю.

ОСНОВИ ТРАНСФУЗІЙНОЇ ІМУНОЛОГІЇ

Навчально-методичний посібник

Boston: Published by Primedia eLaunch

2022

ББК 54.11я73
В14

ISBN 979-8-88862-826-3
DOI: 10.46299/979-8-88862-826-3

Рецензенти:

в.о. директора ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України»,
д.мед.н., ст.н.с. **Н.В. Горяїнова**
завідувач кафедри сімейної медицини
Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика,
д.мед.н., професор **Л.В. Хімїон**

Рекомендовано до видання експертною проблемною комісією
НУОЗ України імені П. Л. Шупика за спеціальністю 14.01.31 – гематологія та
трансфузіологія
(протокол №2022.11.8 від 8 листопада 2022 року).

Видиборець С.В., Дерпак Ю.Ю.

Основи трансфузійної імунології: навчально-методичний посібник. - Boston:
Published by Primedia eLaunch. 2022. **181** p.

У навчально-методичному посібнику систематизовано і узагальнено дані вітчизняної і зарубіжної літератури присвяченої питанням трансфузійної імунології. Із сучасних позицій викладено дані щодо антигенної структури крові людини та ролі антигенів і антитіл у забезпеченні імунологічної стабільності організму. Наведено опис ізосерологічних методик. Висвітлено питання застосування трансфузійних середовищ, профілактики і лікування посттрансфузійних ускладнень. Видання розраховане на лікарів усіх спеціальностей практичної ланки охорони здоров'я, насамперед, трансфузіологів, гематологів, онкологів, хірургів, терапевтів, сімейних лікарів і всіх фахівців, яким доводиться займатися проблемами трансфузій компонентів крові в клінічній практиці, а також науковців, студентів медичних університетів, слухачів кафедр системи післядипломної підготовки лікарів, викладачів медичних ВЗО.

ББК 54.11я73
В14

ISBN 979-8-88862-826-3
DOI: 10.46299/979-8-88862-826-3

© Видиборець С.В., Дерпак Ю.Ю.

ЗМІСТ

	<i>Стор.</i>
Передмова	6
Розділ 1. ТРАНСФУЗІЙНА ІМУНОЛОГІЯ ЯК НАУКОВО-ПРАКТИЧНА ДИСЦИПЛІНА. ОСНОВНІ ІСТОРИЧНІ ВІХИ РОЗВИТКУ	10
Розділ 2. БУДОВА І ФУНКЦІЇ ІМУННОЇ СИСТЕМИ	19
2.1. Центральні та периферичні органи імунної системи	19
2.2. Клітини імунної системи	22
2.2.1. Субпопуляції Т-клітин	23
2.2.1.1. Деякі диференціювальні антигени Т-лімфоцитів	24
2.2.2. Субпопуляції В-клітин	25
2.3. Клітини імунологічної пам'яті	28
2.4. Індукція і регуляція імунної відповіді	28
2.4.1. Антигени	28
2.4.1.1. Класифікація антигенів	29
2.4.2. Формування імунної відповіді гуморального типу	31
2.4.3. Антитіла	33
2.4.4. Імунна відповідь клітинного типу	34
2.5. Імунітет і резистентність організму	35
Розділ 3. АНТИГЕННА СТРУКТУРА КЛІТИН КРОВІ ЛЮДИНИ. СЕРОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ	39
3.1. Антигенна структура еритроцитів крові. Сучасна номенклатура антигенів еритроцитів	43
3.2. Антигени системи АВО	46
3.2.1. Химеризм близнят	50
3.2.2. Феномен цис-АВ	50
3.3. Методи визначення груп крові за системою еритроцитарних антигенів АВО	51
3.4. Імунні антитіла системи АВО	58
3.5. Визначення імунних антитіл системи АВО	59
3.5.1. Визначення повних імунних антитіл системи АВО за реакцією сольової аглютинації	59
3.5.2. Визначення неповних ізоімунних антитіл системи АВО за непрямою пробою Кумбса	61
3.5.3. Визначення гемолізину системи АВО	62
3.6. Система видільництва	63
3.7. Антигенна система Люїс	64
3.8. Антигенна система MNSs	65
3.9. Антигенна система Р	65
3.10. Система антигенів Резус	66
3.10.1. Сучасні методи визначення групи крові за антигенами резус	69
3.10.2. Методики визначення резус-належності крові	70
3.11. Система антигенів Келл	73

3.12. Інші системи антигенів еритроцитів	73
3.13. Поліаглютинабельні еритроцити	73
3.13.1. Феномен Хюбнера-Томсена-Фриденрейха	74
3.13.2. Тк-антиген еритроцитів	74
3.13.3. Тп-антиген еритроцитів	74
3.13.4. Еп-антиген еритроцитів	75
3.13.5. Кd-антиген та Sd-антиген еритроцитів	75
3.14. Антигенні системи ферментів еритроцитів	75
3.15. Проведення проби на індивідуальну сумісність крові донора і реципієнта	76
3.15.1. Проба на індивідуальну сумісність крові за антигенами системи АВО	76
3.15.2. Проба на сумісність крові за антигенами системи резус із застосуванням 33% розчину поліглюкіну	77
3.15.3. Проба на сумісність за антигенами системи резус не замінює, а доповнює пробу на сумісність за антигенами системи АВО	77
3.15.4. Проба на індивідуальну сумісність крові із застосуванням центрифугування	77
3.15.5. Проба на індивідуальну сумісність крові з використанням розчину желатини	78
3.15.6. Проба на індивідуальну сумісність крові із використанням антиглобулінового реагенту	79
3.15.7. Методика проведення непрямого антиглобулінового тесту з розчином LISS	81
3.15.8. "Спін"-метод для оцінки результатів прямого і непрямого антиглобулінових тестів	81
3.16. Біологічна проба при проведенні трансфузії	82
3.17. Антигени лейкоцитів	83
3.17.1. Визначення лейкоцитарних антигенів	85
3.17.2. HLA-антигени і схильність до захворювань	87
3.18. Антигени тромбоцитів	88
3.18.1. Визначення антитромбоцитарних антитіл	89
3.19. Білковий склад та антигенні системи плазми крові	90
3.19.1. Система імуноглобулінів	91
3.19.2. Маркери системи комплемента	93
3.19.3. Система альбуміну	94
3.19.4. Система α 1-антитрипсіну (система Pi)	95
3.19.5. Система гаптоглобіну	95
3.19.6. Система ліпопротеїдів	96
3.19.7. Система трансферину	97
3.19.8. Система глікопротеїну Gc	100
3.19.9. Маловивчені та непідтверджені з точки зору генетичного поліморфізму сироваткові протеїни	100

Розділ 4. ІМУНОГЕМАТОЛОГІЯ ТРАНСФУЗІЙ ГЕМОКОМПОНЕНТІВ І ЗАСТОСУВАННЯ ПРЕПАРАТІВ КРОВІ	105
4.1. Переливання трансфузійних середовищ, що містять еритроцити	105
4.1.1. Характеристика середовищ, що містять еритроцити та особливості їхнього призначення	105
4.1.2. Показання до переливання еритроцитів	108
4.1.3. Критерії ефективності переливання еритроцитів	109
4.1.4. Особливості переливання еритроцитів у педіатрії та неонатології	109
4.2. Трансфузії концентрату лейкоцитів	112
4.3. Трансфузії концентрату тромбоцитів	113
4.4. Трансфузії плазми	123
4.5. Переливання альбуміну	127
4.6. Гемофілія, переливання кріопреципітату та застосування факторів зсідання крові	130
4.6.1. Рекombінантний фактор зсідання крові VIIa	134
Розділ 5. ПОСТТРАНСФУЗІЙНІ УСКЛАДНЕННЯ	136
5.1. Гострий гемоліз	137
5.2. Відтерміновані гемолітичні реакції	139
5.3. Бактеріальний шок	139
5.4. Реакції, що обумовлені наявністю антилейкоцитарних антитіл	140
5.5. Анафілактичний шок	140
5.6. Гостре волемічне перевантаження	141
5.7. Синдром масивних трансфузій	141
5.8. Трансфузійно-трансмисивні інфекції, що передаються при трансфузіях компонентів крові	143
Розділ 6. АУТОДОНОРСТВО КОМПОНЕНТІВ КРОВІ І АУТОГЕМОТРАНСФУЗІЇ	159
6.1. Методи проведення аутологічних трансфузій	159
Розділ 7. ТРАНСПЛАНТАЦІЯ ГЕМОПОЕТИЧНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН	163
7.1. Різновиди трансплантації гемопоетичних стовбурових клітин	163
7.2. Процес добору донора гемопоетичних стовбурових клітин	164
7.3. Одержання периферичних стовбурових клітин крові	165
7.4. Режим кондиціонування	166
7.5. Показання до трансплантації гемопоетичних стовбурових клітин	167
7.6. Ускладнення, пов'язані із трансплантацією гемопоетичних стовбурових клітин	168
7.6.1. Ускладнення раннього посттрансплантаційного періоду	168
7.6.2. Ускладнення пізнього посттрансплантаційного періоду	171
ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	173
Додаток. Інформована згода на проведення трансфузії.	180
Конфлікт інтересів.	181
Відомості про авторів	181

ПЕРЕДМОВА

Трансфузійна імунологія (син.: імуногематологія, ізосерологія) як науково-практична дисципліна є однією із найважливіших галузей медичних знань для трансфузіологів і гематологів, хірургів і терапевтів, акушер-гінекологів, анестезіологів і реаніматологів, педіатрів і сімейних лікарів, кардіохірургів і торакальних хірургів, імунологів і генетиків, лікарів швидкої допомоги тощо. Її досягнення застосовують як у зонах стихійного лиха та ураженнях при техногенних катастрофах, так і у приймальних відділеннях, операційних і палатах інтенсивної терапії лікувальних закладів. Впродовж останнього часу значно удосконалились і одночасно спростилися технології отримання компонентів крові та удосконалились методи визначення груп крові, докорінно змінилися уявлення про антигенну структуру крові, антитіла системи крові, імунологічні та інфекційні ускладнення трансфузійної терапії, змінилась трансфузіологічна тактика – від переливання цільної крові до гемокомпонентної терапії і від останньої – до застосування вискоефективних препаратів із крові, вірусологічна і бактеріальна безпека застосування яких гарантується сучасними технологіями виробництва.

Одним із найважливіших досягнень минулого ХХ століття є усвідомлення світовою спільнотою потенційної небезпеки необґрунтованого впровадження досягнень біології в практичну медицину. Гарантії своєї безпеки людство вбачає у створенні морально-етичних бар'єрів, що мають бути підкріплені правовими актами. Морально-етичні норми в медицині і впровадження новітніх технологій у обстеження пацієнтів і лікувальний процес регламентує біомедична етика.

На сьогодні бурхливого розвитку набули гематологія, медична генетика, трансплантологія, імунологія, біохімія, фізіологія що послужило поштовхом для подальшого становлення трансфузіології. У 80-і роки минулого століття було розроблено і впроваджено принцип застосування гемокомпонентної терапії у трансфузіологічній практиці, на відміну від раніше існуючого застосування цільної крові. Переливання компонентів крові значно зменшувало трансфузіологічний ризик виникнення ускладнень у клінічній практиці. Всесвітньою організацією охорони здоров'я (ВООЗ) було прийнято «Кодекс етики для кроводач і переливання крові» - документ, що декларційно регламентував безпечну участь у здаванні крові для донорів і гарантії від заподіяння шкоди при переливанні крові і її компонентів реципієнту. Але останні два десятиріччя внесли свої корективи до лікарської тактики застосування трансфузійної терапії. Людству стало відомо про нові хвороби, що можуть передаватися при застосуванні крові і її компонентів – ВІЛ/СНІД-інфекція, захворювання, що викликаються вірусами герпесу, лихоманок, пріонові хвороби тощо. Означене суттєво змінило лікарську тактику застосування компонентів крові. Окрім імунологічних ускладнень, що можуть виникати при застосуванні трансфузійних середовищ, відомих раніше інфекційних ускладнень (малярія, сифіліс, гепатити), зайшла мова про цілий новий клас інфекційних хвороб, що можуть передаватися із компонентами

крові – трансфузійнотрансмісивні інфекції. У всьому світі наразі загально визнано: у клінічній практиці повинні застосовуватися тільки ті компоненти і препарати крові, біологічна, і, насамперед, вірусологічна безпека яких для реципієнтів і обслуговуючого медичного персоналу може бути гарантована технологією отримання. Цілком очевидно, що у найближчому майбутньому, у практиці трансфузійної медицини буде здійснено перехід від застосування компонентів крові до призначення препаратів крові спрямованої дії, технології отримання яких будуть гарантувати безпеку для реципієнта і персоналу, який здійснює процедуру їх переливання. Прикладом впровадження новітніх технологій в клінічну трансфузіологічну практику препаратів спрямованої дії може бути застосування факторів згортання крові, наприклад, фактора VIII. Останнім досягненням генної інженерії є синтез і поява на світовому фармацевтичному ринку препарату фактора згортання VIIa, який, на наш погляд, є перспективним засобом у лікуванні гемофілії, а, можливо, і інших геморагічних захворювань і станів. На жаль, новітні технології отримання сучасних препаратів крові є дорогими, що, очевидно, буде обмежувати їхнє широке застосування у клінічній трансфузійній практиці. Але перехід від гемокомпонентної терапії до застосування препаратів крові, технології отримання яких будуть гарантувати вірусологічну безпеку для реципієнтів і персоналу, є перспективним і незворотним.

В Україні до недавнього часу науково-методичне керівництво діяльністю установ служби крові здійснювалося ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України» (м.Київ) та ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України» (м.Львів). В останні 5-7 років відбулась значна реорганізація служби крові України у відповідності до вимог імплементації країни до ЄС і світових стандартів. Дана робота проводилася за участю співробітників кафедри гематології і трансфузіології НУОЗ України імені П.Л. Шупика, Було отримано «Сертифікат про визнання» Американського міжнародного альянсу охорони здоров'я (АМАОЗ). Сертифікат було вручено 6 грудня 2017 р. в м. Києві під час проведення Підсумкової зустрічі зацікавлених сторін служби крові та навчального тренінгу з «Управління запасами в службі крові» на якому були присутні представники МОЗ України, ДОЗ м. Києва, головні лікарі та уповноважені особи з якості центрів крові і завідувачі відділень трансфузіології закладів охорони здоров'я м. Києва, Київської, Житомирської, Рівненської, Львівської та Одеської областей і представники неурядових організацій, з якими співпрацює АМАОЗ. У «Сертифікаті про визнання» АМАОЗ, який здійснює в рамках міжнародної технічної допомоги проект «Надання технічної допомоги зі зміцнення служб переливання крові в певних країнах за Надзвичайним президентським планом США по боротьбі зі СНІДом (PEPFAR)» відповідно до Угоди № 1U2GGH00861-01 від 12.09.2017 року з Федеральним агентством Центру контролю та профілактики захворювань США (CDC), бенефіціаром якої виступає Міністерство охорони здоров'я України. Зазначено, що АМАОЗ визнає внесок кафедри гематології і трансфузіології в реалізацію проекту за напрямками догляду за донорами, менеджменту якості, належного застосування компонентів крові та підтверджує

її успішність і досягнення. Для імплементації проекту між МОЗ України і АМАОЗ укладено Меморандум про співробітництво від 18.02.2015 року. В рамках проекту АМАОЗ надає технічну допомогу демонстраційним закладам переливання крові, з якими було укладено окремі меморандуми про співробітництво (м. Києва, Київської, Житомирської, Рівненської, Львівської та Одеської областей). Співробітниками кафедри гематології і трансфузіології за час співпраці МОЗ України з АМАОЗ проведено більше 10 навчальних вебінарів з менеджменту якості в службі крові, прочитано на місцях 13 навчальних лекцій з належного застосування компонентів крові, У співавторстві з американськими колегами (L. Botos, D. Ou, D. Gadlem, T. Shallert, D. Stenli), представниками АМАОЗ в Україні та трансфузіологами із пілотних областей було видано два навчальні посібники: «Донорство: залучення донорів крові та її компонентів» (2014) і «Менеджмент якості в службі крові» (2016, 2017 (перевидання)). Було видано навчальний посібник «Організація трансфузіологічної допомоги в лікувальних закладах» (2018, 2019 (перевидання)).

Підготовка фахівців за спеціальністю “Трансфузіологія” здійснюється на кафедрі гематології і трансфузіології НУОЗ України імені П.Л.Шупика та на однопрофільних кафедрах у Харківському медичному університеті та Львівському медичному університеті ім. Данила Галицького.

У навчально-методичному посібнику узагальнено практичний досвід, що накопичено колективами базових станцій переливання крові, відділень гематології і кафедри гематології і трансфузіології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л.Шупика, а також систематизовано і узагальнено нові дані вітчизняної та зарубіжної наукової літератури останніх років, що присвячена проблемам імуногематології. Коротко викладені відомості про будову антигенів та структуру антитіл, висвітлені нові дані щодо номенклатури клітинних антигенів та антигенів білків плазми, відображені нові дані щодо особливостей та поліморфізму антигенів систем АВ0 та резус, інших антигенів системи крові. Особливу увагу приділено можливостям сучасних імуногематологічних методів дослідження в трансфузіології. Окреслені проблеми застосування компонентів крові у сучасній клінічній практиці, означена трансфузійна тактика при гострих крововтратах, ДВЗ-синдромі, гіпоплазіях кровотворення, гемофілії тощо. Наведено дані щодо основних посттрансфузійних ускладнень та лікувальної тактики у разі їх виникнення, відображено нові підходи до профілактики алоїмунізації та інфекційних ускладнень у реципієнтів – застосування аутодонорства та реінфузій крові.

Трансфузійна імунологія є наукою, що динамічно розвивається. Досягнення її швидко накопичуються і автори розуміють, що на час написання цієї роботи, очевидно, з'явилися нові дані та факти, що підносять розвиток медичної науки на якісно новий щабель. Сподіваємось, що систематизація самого сучасного матеріалу із величезного об'єму знань, якими наразі володіє імуногематологія у вигляді навчально-методичного посібника, буде служити покращанню якості ізосерологічних та імуногематологічних досліджень, підвищенню імунологічної та біологічної безпеки гемотрансфузійної терапії і, в

кінцевому результаті, буде спрямовано на покращання здоров'я народу України.

Видання розраховане на лікарів-трансфузіологів, гематологів, дитячих гематологів, реаніматологів, онкологів, імунологів, терапевтів, акушер-гінекологів, хірургів та інших спеціалістів, які в повсякденній практичній діяльності застосовують гемотрансфузійну терапію як метод лікування, слухачів кафедр системи післядипломного навчання, студентів і викладачів медичних ВНЗ.

Автори сподіваються, що навчально-методичний посібник допоможе фахівцям практичної ланки охорони здоров'я успішно вирішувати цілий ряд проблем із застосуванням гемокомпонентної терапії. Обсяг посібника, на жаль, не дозволяє охопити всі проблеми імуногематології, гематології та трансфузійної терапії. Автори усвідомлюють, що їх робота не претендує на повне висвітлення проблеми, може спонукати дискусію з тих чи інших тверджень та узагальнень, а тому з щирою вдячністю приймуть усі зауваження та побажання, які обов'язково будуть враховані при перевиданні посібника.

Розділ 1

**ТРАНСФУЗІЙНА ІМУНОЛОГІЯ ЯК НАУКОВО-ПРАКТИЧНА
ДИСЦИПЛІНА. ОСНОВНІ ІСТОРИЧНІ ВІХИ РОЗВИТКУ**

Природно, що до трансфузій крові та її компонентів слід ставитись як до складної операції, яку можна порівняти із пересаджуванням живої рідкої тканини від донора до реципієнта. Складність такої маніпуляції обумовлена не тільки вимогами сучасних знань до забезпечення певних технічних процедур, але і, перш за все, досить складним поліморфізмом антигенної будови клітин і плазми крові. Не дивно, що у структурі ускладнень, що можуть виникати під час виконання гемотрансфузій, переважна більшість (до 97%) належить таким, що пов'язані з антигенною несумісністю компонентів крові реципієнта і донора, тобто вони імунологічної природи.

Трансфузійна імунологія (син.: імуногематологія, ізосерологія) є медичною науково-практичною дисципліною, що вивчає антигенну структуру крові, її значення в фізіології і патології людини. Імуногематологія розвивається у тісній співпраці з гематологією і трансфузіологією, іншими клінічними дисциплінами, генетикою і біологією, імунологією і антропологією, судовою медициною і лабораторною справою.

Науково-технічний прогрес, упровадження в майже всі напрямки діяльності людини інформаційних технологій, крупні наукові відкриття в області біології, генетики, імунології, гематології, фізіології і біохімії, досягнення у створенні нових медичних технологій для лікування грізних захворювань мали значущий вплив на розвиток трансфузіології як науково-практичної дисципліни. Сформоване на кінець минулого століття уявлення про трансфузіологію як галузь медичних знань, було закономірним підсумком розвитку вчення про переливання крові. Стало очевидним, що трансфузіологія є одним із напрямків розвитку медицини, що включає значно більше проблем, ніж просто питання пов'язані із заготівлею, переробкою, сертифікацією і клінічним застосуванням донорської крові, її компонентів і препаратів.

Загальна (теоретична) трансфузіологія, використовуючи останні досягнення медичної науки, займається вивченням груп крові, їх значенням в фізіології та патології людини, теоретичними розробками стратегії наукових досліджень в галузі тощо. Головним завданням виробничої трансфузіології, що представлена установами служби крові, є своєчасне забезпечення лікувально-профілактичних закладів гемотрансфузійними засобами і препаратами крові у необхідних обсягах для надання якісної медичної допомоги населенню. Сьогоднішня клінічна трансфузіологія – це наука про управління функціями організму шляхом спрямованого впливу на морфологічний склад і фізіологічні властивості системи крові і позаклітинної рідини за допомогою парентерального (внутрішньосудинного) введення органічних і трансфузіологічних засобів.

Наразі до царини трансфузійної медицини слід віднести не тільки означені вище розділи, а і всі екстракорпоральні процедури, методи і способи

роботи із кров'ю як біологічною тканиною – різноманітні варіанти афереза, інтра- і екстракорпорального опромінення крові, гемодіаліз, штучний кровообіг, гемофільтрацію, гемосорбцію тощо. Настала необхідність заново осмислити історію розвитку трансфузійної медицини. Це необхідно, насамперед, для того, щоб узагальнити досягнення минулого і сучасного етапів її розвитку і на підставі наявних теоретичних наукових досягнень і успіхів медичної практики спрогнозувати її подальший поступ і розвиток.

Історичний шлях розвитку трансфузійної медицини як науки триває декілька століть. Він був тернистим, насиченим подіями із різкими змінами успіхів і застою, признання і забуття. Початковим хронологічним етапом розвитку трансфузіології слід вважати період від глибокої древності до 1628 р. Як відомо, практично всі намагання внутрішньосудинного введення крові людині закінчувалися ускладненнями і часто – загибеллю пацієнта. Першу успішну спробу переливання крові людині було здійснено відразу після відкриття англійським лікарем William Harvey кола кровообігу (1628). До цього медики проводили експериментальні переливання крові тваринам. Частіше донорами і реципієнтами були вівці та собаки. Перше успішне офіційно зареєстроване переливання крові тваринам було проведено в Англії: лікар Richard Lower (1665) зберіг життя собаці при переливанні крові від інших собак. В 1667 році Jean-Baptiste Denis у Франції та Richard Lower в Англії незалежно один від іншого повідомили про успішні переливання крові від ягнят людям. Але часто таке лікування закінчувалося летально для пацієнтів. Тому з часом переливання крові від тварин людям було заборонено церквою і законодавством через смертельні наслідки.

У Філадельфії американський лікар P. S. Physick (1795) виконав першу трансфузію людської крові, однак дані про її результати не були опубліковані. У 1818 році британський акушер J. Blundell здійснив перше успішне переливання людської крові пацієнтці для лікування післяпологової крововтрати. Чоловік хворої виконував роль донора, за допомогою шприца із вени руки якого лікар вилучив приблизно чотирі унції (близько 120 см³) крові та успішно перелив її хворій дружині. У період між 1825 і 1830 р.р. J. Blundell виконує 10 переливань крові, п'ять із яких виявилися успішними. Результати переливань були оприлюднені в пресі. James Blundell займався винахідницькою діяльністю. Він винайшов різноманітні інструменти та пристрої для виконання переливань крові і навів перші описання показань до трансфузій. У школі Св.Георгія у Лондоні S. A. Lane (1840) за методичною допомогою лікаря J. Blundell виконав перше успішне переливання цільної крові для лікування хворого гемофілією. В 1867 році англійський хірург J. Lister запропонував використовувати антисептики для запобігання інфекційних ускладнень при переливанні крові.

Але перші джерела розвитку трансфузіології як науки відносять до рубежу XIX і XX століть, коли геніальний австрійський вчений Карл Ландштейнер у 1901 році опублікував ґрунтовну працю "Про аглютинабельні можливості нормальної крові людини", де вперше навів дані про відкриття у людини трьох груп крові. Робота побачила світ у віденському медичному

часописі "Wien. Klin. Wschr.". Через рік співробітники К. Ландштейнера А. Decostello та А. Sturli відкрили четверту групу крові цієї ізосерологічної системи. Особливість четвертої групи крові полягала у тому, що сироватка крові осіб цієї групи не вступала в реакцію аглютинації з еритроцитами крові вже відомих груп крові А, В, С. Її визначили як групу АВ. У 1906 році чеський вчений J. Jansky запропонував підрозділяти групи крові відповідно до вмісту в них відповідних антитіл – ізоаглютининів. Він же запропонував цифрове номенклатурне позначення груп крові – I, II, III, IV. Паралельно з'явилась цифрова номенклатура груп крові Moss, яка протиставлялась класифікації Jansky. Щоб уникнути непорозумінь і плутанини з групами крові людини за пропозицією E. Dungern, L. Hirsfeld (1910, 1911) відкритим К. Ландштейнером та його співробітниками групам крові було присвоєно позначення за допомогою літер – А, В, 0 та АВ. До написання груп крові було введено також ізоаглютиніни, причому антитіла анти-А позначались α , а анти-В – β . У остаточному варіанті чотири групи крові були систематизовані та позначені таким чином: $O_{\alpha\beta}$, A_{β} , B_{α} , АВ. Антигенна система АВ0 була не випадково відкрита раніше серед груп крові людини. Антигени АВ0 є найсильнішими за аглютинабельними властивостями і у найбільшій кількості представлені на еритроцитах. Означені факти свідчать про визначальну біологічну роль і значущість антигенів системи АВ0 у підтриманні постійних параметрів внутрішнього середовища і реалізації швидкої реакції на потраплення до організму людини чужерідних агентів, що несуть на собі ознаки генетично чужої інформації, насамперед, при переливанні несумісних компонентів крові. Впровадження в клінічну практику і експериментальну медицину трансфузій крові показало, що кров від інфікованих донорів може бути небезпечною для реципієнта. Стало відомо, що із кров'ю при переливанні можуть передаватися малярія і сифіліс.

Значною віхою у розвитку вивчення груп крові системи АВ0 була розробка та висунення F. Bernstein (1924) трьохалельної теорії успадкування антигенів цієї системи. F. Bernstein висунув теорію походження антитіл крові людини. Він вважав, що антитіла утворюються внаслідок мутацій гена, що відповідає за синтез певного антигену. Однак, не всі імуногенетики розділяють цей погляд. Переважна їх більшість на теперішній час схиляється до точки зору A.S. Wiener (1954) та U. Galili et al. (1988), згідно якої ізогемаглютиніни є результатом тривалої імунізації групспецифічними факторами, що поширені у довкіллі, насамперед, серед бактерій і паразитів.

У 1927 році К. Landsteiner та P. Levine за допомогою антитіл, що отримали при імунізації кролика, виявили нові еритроцитарні антигени, які потім об'єднали в антигенну MNSs. У цьому ж році названі дослідники при імунізації кроликів еритроцитами людини відкрили антигени, які позначили як систему P.

Наступною подією, що мала непересічне значення для трансфузіології, було відкриття в 1940 році К. Landsteiner та А. Wiener антигена, який позначили як "резус-антиген". Це відкриття дало поштовх новій хвилі досліджень антигенів системи крові. Стало відомо, що антигенна система резус

відрізняється від системи АВ0 тим, що природні антитіла до відсутнього у даного індивіда антигена не циркулюють. Майже через сорок років після відкриття еритроцитарної антигенної системи резус, стало відомо, що слабкі варіанти D-антигена обумовлені тим, що у певної кількості людей на еритроцитах субстанція D кількісно представлена у меншій кількості (N.Cunningham et al., 1985; D. Boscstelle et al., 1986). Майже водночас було відкрито нову різновидність D-антигена, що може виявлятися у D-негативних осіб із частотою 10,3%. Новий фактор системи резус позначили як D_{e1} (J. Okubo et al., 1984).

А.Е. Mourant (1946) та Р.Н. Andresen (1947) відкрили групові еритроцитарні антигени системи Lewis. Антигенна система Lewis генетично тісно пов'язана із системою еритроцитарних антигенів АВ0. Антигени системи Lewis є водорозчинними субстанціями, що виявляються в плазмі крові, слині або еритроцитах. Фактори системи Lewis не виявляють в спермі.

В 1946 році також було відкрито і антигени системи Kell (R.R.A. Coombs, А.Е. Mourant, R.R.Rice). На сьогодні відомо, що еритроцитарні антигени цієї антигенної системи відіграють помітну роль у виникненні імунологічних ускладнень при переливанні еритроцитів та походженні імунологічних конфліктів, насамперед, виникнення гемолітичної хвороби у новонароджених.

Антигени еритроцитів, що належать до антигенної системи Duffy було відкрито М. Cutbush, Р.Л. Mollison в 1950 р.

У 1953 році М. Stefanini відкрив специфічні тромбоцитарні антигени, а роком пізніше J. Dosse – лейкоцитарні антигени. У 1956 році Р. Grubb встановив, що існують відмінності у антигенній структурі білків сироватки крові людини, а починаючи з 1963 року було відкрито значну кількість генетично поліморфних ферментних систем еритроцитів крові людини. Ці відкриття дали новий значний імпульс для розвитку серології груп крові. У 1962 році було виявлено вірус гепатиту В (HBV), що внесло певні корективи в трансфузіологічну тактику та діяльність лабораторної ланки установ служби крові. Перша назва антигена даного вірусу – “австралійський антиген” – пов'язана з його виявленням у сироватці крові австралійських аборигенів. Пізніше він був ідентифікований як поверхневий антиген HBV (HB_sAg). Особливістю HBV є висока інфекційність. Інфекційність сироватки крові зберігається навіть за розведення 10⁷-10⁸ при t 30-32⁰С протягом 6 місяців, а при обробці сухим жаром - 160⁰С протягом 1 години. Кінець 70-х років слід вважати закінченням періоду застосування у клінічній світовій практиці цільної крові. На жаль, в лікувальних закладах України до теперішнього часу існує практика застосування цільної крові.

В 70-90-і роки клінічну трансфузіологію можна охарактеризувати як таку, при якій віддавали перевагу застосуванню компонентів і препаратів донорської крові (форменні елементи крові, свіжозаморожена плазма, альбумін, імуноглобуліни, фактори зсілання крові тощо). Одночасно все поширенішим ставало застосування кровозамінників. Розробляли і впроваджували в практику схеми парентерального харчування при різних захворюваннях і патологічних станах. Виконувалися науково обгрунтовані рекомендації кровозберігаючих

технологій в хірургічну, акушерську, гінекологічну, травматологічну практику - аутодонорство, аутогемотрансфузії, реінфузії інтра- і постопераційної крові тощо. При лікуванні захворювань почали застосовувати новітні трансфузіологічні технології – гравітаційну хірургію крові, різноманітні варіанти гемаферезу, гемодіалізу, штучного кровообігу. Для цього розробляли нове устаткування, що гарантувало високу якість трансфузіологічних процедур і було безпечним для реципієнта. Для трансфузіології, як і для медицини в цілому, гостро постають проблеми біомедичної етики. Провідними спеціалістами-трансфузіологами світу був розроблений «Кодекс етики кроводачі та безпеки трансфузій для реципієнта», що був рекомендований ВООЗ для впровадження в діяльність служби крові в усьому світі. Впровадження комп'ютерних технологій в процеси заготівлі та переробки крові суттєво змінили відносини в системі "донор-лікар-реципієнт", сформувалися нові аспекти правових відносин між донором і закладами служби крові. Останні мають давати юридично підтверджені гарантії безпеки участі у донорстві кожному громадянину. Вимогою часу того періоду розвитку трансфузіології стало положення про те, що трансфузійні процедури мають бути безпечними для реципієнта. У цей період визначалися принципи профілактики і лікування ускладнень, що могли виникати після гемотрансфузії. Розроблялися науково обгрунтовані принципи трансфузіологічної тактики і лікування гострої крововтрати. У трансфузіологічній імунології на перший план висувалися питання, що пов'язані із безпосереднім забезпеченням імунологічної безпеки трансфузій. Принципово важливим для трансфузіології було впровадження в практику гібридомних моноклональних антитіл, рекомбінантних діагностичних систем нового покоління для визначення груп крові. Досягнення медичних біотехнологій дали змогу І.Л. Чертикову і співавт. (1987) і D. Bourel et al. (1987) отримати моноклональні антитіла проти групових антигенів крові та розробити технології їх виробництва.

Наразі суттєво змінилось уявлення про антигени, розроблена їх номенклатура, досліджено і показано роль у фізіології та патології людини. Найдосконаліше дослідження стосовно розподілу груп крові на Землі зробив W. Boyd (1969). В Україні також проводилося вивчення геногеографії груп крові людини (Е.І. Данілова, 1971). На той час було запропоновано територію України розподіляти на п'ять геногеографічних зон: Центральноросійську (Київська, Житомирська, Полтавська, Черкаська, Вінницька області та частина Хмельниччини); Деснянську (Чернігівська та переважна більшість території Сумської областей); Поліську (Волинська, Тернопільська, Рівненська, переважна більшість території Львівської областей та правобережне Полісся); Південно-Східну (Одеська, Херсонська, Миколаївська, Донецька, Кіровоградська, Запорізька, Луганська, Дніпропетровська та Харківська області); Карпатську (Закарпатська, Івано-Франківська та Чернівецька області). Найпоглибленіше вивчення розподілення еритроцитарних антигенів у різних геногеографічних зонах України проведено Л.І.Тимошенко (1982) та Л.І.Тимошенко, Л.М. Лавровською (1986). Частота фенотипів АВО серед населення України та м. Київ і їх зв'язок із захворюваннями вивчала Г.М.

Дизик (1990). Установлено, що переважаючим фенотипом серед населення України, зокрема, мешканців Києва, є фенотип А(II) – відповідно 40,87% та 38,01%, потім група крові 0(I) – 30,76% та 31,5%, група В(III) – 19,5% та 19,17%, а фенотип АВ(VI) – у 8,85% та 11,3%. За даними досліджень Л.І.Тимошенко, Л.М. Лавровської (1986) антиген D виявляли у 86,05% населення України.

Досягнення генетики останнього часу внесли суттєву корективу у розуміння складної антигенної структури клітин і білків крові. Під антигенною системою розуміють сукупність антигенів еритроцитів, або лейкоцитів, тромбоцитів, ферментів чи білків плазми крові, що успадковується алейними генами. Число можливих комбінацій генів, що відповідають за групові ознаки компонентів крові та її фенотипи є настільки різноманітним, що антигенна структура крові кожної людини є неповторною і характеризує її генетичну індивідуальність.

Сучасна класифікація антигенів системи HLA налічує їх понад 100. Номенклатуру відповідних генів цієї системи регулярно переглядають на Міжнародних робочих нарадах з типірування тканин. Нині діє номенклатура антигенів системи HLA, що прийнята на Міжнародній робочій нараді з типірування тканин у Парижі (1996).

У 1998 році оприлюднено нову номенклатуру та класифікацію антигенів еритроцитів, згідно якої всі антигени еритроцитів належать до однієї із трьох категорій: система антигенів еритроцитів, колекція антигенів еритроцитів, серія антигенів еритроцитів. Наразі трансфузіологи вважають, що кров слід розглядати як генетично детерміновану поліморфну тканину, на клітинах, білках і ферментах які представлено понад 500 антигенів (групових факторів). Останнє десятиріччя минулого століття для трансфузіологічної імунології у світі характеризувалося створенням банків даних про типірування за еритро- і лейкоцитарними антигенами донорів крові. Впроваджувалися результати стандартизованих імунологічних досліджень в практику лабораторної ланки служби крові та клініку – гелевий метод визначення еритроцитарних антигенів, проби Кумбса, експрес-тести тощо, уніфіковувалися тести на збудників трансфузійнотрансмісивних інфекцій. Впроваджувалися полімеразна ланцюгова реакція для скринінгової діагностики в трансфузіології, що значно розширило можливості ідентифікації збудників трансфузійнотрансмісивних інфекційних захворювань. Серед великого кола наукових і практичних проблем трансфузійної медицини останнього десятиріччя центральне місце займали питання пов'язані із забезпеченням гарантій безпеки трансфузій для реципієнта. В середині 90-х років Радою Європи сформульовано положення про нову медичну спеціальність – «Трансфузіологію» і спеціаліста з трансфузійної медицини. В 1993 році в Україні спеціальність «Трансфузіологія» включено до номенклатури лікарських спеціальностей. Станом на той час суттєво змінилася лабораторна ланка служби крові, діяльність якої раніш зводилася до серологічних визначень груп крові та постановки реакцій, що забезпечують сумісність за переливання крові. На сьогодні, із розширенням знань про трансфузійнотрансмісивні інфекції, біологічну небезпеку при роботі з кров'ю,

нові досягнення імуногематології, лабораторна ланка установ служби крові, окрім серологічних досліджень займається скринінгом і діагностуванням трансфузійнотрансмісивних інфекцій. При організації проведення трансфузійної терапії у клінічній практиці є актуальними визначення ступеню ризику виникнення пострасфузійних ускладнень, у разі їх розвитку - ідентифікація збудника, визначення ступеню його патогенності, можливості персистенції чи здатності викликати субклінічний перебіг захворювання, розробка заходів профілактики можливих інфекційних ускладнень.

З позицій сучасних уявлень про структуру гемотрансмісивних, їх поділяють на чотири великі групи: *вірусні* (ВІЛ-I та ВІЛ-II; Т-лімфотропний вірус людини I типу (HTLV-I) та II типу (HTLV-II); віруси гепатитів А, В, С, D, Е, F, G, TTV, SEN-V; віруси звичайного герпесу I та II типів, вірус вітряної віспи – оперізуючого лишая (герпесвірус людини III типу), цитомегаловірус (CMV) або герпесвірус людини типу V, вірус Епштейна-Барр (EBV) або герпесвірус людини IV типу, віруси герпесу людини VI, VII, VIII типів, парвовірус B19 тощо); *бактеріальні* (збудники сифілісу та фрамбезії, бруцельозу, рикетсиозів, прокази, сальмонельозу, малярії, токсоплазмозу, лейшманіозу, бабезіозу, тріпаносомозу тощо); *обумовлені гельмінтами* (шистосомоз, філяріоз, дірофіляріоз тощо); *інфекції, що можуть стати значимі як гемотрансмісивні у майбутньому* (пріонні хвороби; такі, що викликані бактеріями, які здатні утворювати L-форми; вірусні лихоманки, енцефаліти тощо).

Установами служби крові в Україні здійснюється тестування заготовленої крові на наявність збудників гепатитів В і С, ВІЛ-I і ВІЛ-II, сифілісу. Почалось впровадження тестування на виявлення антитіл до CMV.

Заклади служби крові у світі оснащуються високорентабельним, автоматизованим устаткуванням (сепараторами крові), розроблюються і впроваджуються стандарти, що забезпечують гарантії високої якості компонентів крові, які при цьому отримуються – концентрат тромбоцитів, концентрат лейкоцитів, збіднена лейкоцитами свіжозаморожена плазма і еритроцитні трансфузійні середовища. Розроблюються методи фракціонування білків плазми з ціллю отримання препаратів спрямованої дії. Кріобіологія забезпечує впровадження в практику методів тривалого зберігання компонентів крові при ультранизких температурах. В установах служби крові впроваджуються методи автоматичної реєстрації процесу взяття, переробки, зберігання і застосування компонентів крові на основі інформаційних технологій. Реалізується завдання комп'ютеризації і впровадження системи штрих-кодування. Розроблюються методи інактивації інфекційних агентів ГТІ фізико-хімічними технологіями і медикаментозними засобами в періоди заготовки і переробки донорської крові на компоненти і препарати.

Останнім часом у світі було створено цілий ряд синтетичних, рекомбінантних і біотехнологічних лікарських засобів, що є перспективними для впровадження в практику трансфузійної медицини: еритропоетин (ЕРО), що здатний стимулювати еритропоез і продукцію еритроцитів; гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор людини неглікірований (r-Hu-

G-CSF), що стимулює вироблення гранулоцитів/нейтрофілів, моноцитів, макрофагів; фактор росту і диференціювання мегакаріоцитів людини (r-Hu-MGDF), що здатний стимулювати продукцію тромбоцитів; тромбоцитопоетин людини (r-HU-TPO) також стимулює тромбоцитопоез; інтерлейкін-2 людини (r-Hu-IL-2), застосовують для стимулювання тромбоцитопоезу та як імуномодулятор; фактор росту стовбурових клітин (r-Hu-SCF), що стимулює продукцію клітин-попередниць кровотворення; фактор VIIa – фактор зсідання крові, що застосовується для замісної терапії і терапії геморагічних синдромів; фактор VIII зсідання крові, що на сьогодні на світовому фармацевтичному ринку представлений близько десяти комерційними препаратами, застосовується для замісної терапії при лікуванні гемофілії; фактор IX (Benefix) – фактор зсідання крові, що застосовують для замісної терапії; інтерферон альфа-2a, інтерферон бета-1a, інтерферон бета-1b, інтерферон гамма-1b – названі препарати є імуномодуляторами; гемоглобін (Optro або r-Hb1.1) – переносник кисню. Цілком очевидно, що список рекомбінантних препаратів людини в перспективі буде значно розширено. Серед винайдених та розроблених впродовж останнього часу синтетичних кровозамінників слід назвати перфторвуглецеві емульсії (PFC), що починають поступово впроваджуватися у лікувальну практику. Розроблені і кровозамінники на основі гемоглобіну: піридоксильований полімер гемоглобіну людини (PNP), полімеризований гемоглобін людини (PolyHeme), полінітроксил-гемоглобін людини (PNP), полімеризований очищений гемоглобін великої рогатої худоби (HemoPure HBOC-201 Oxyglobin). Останній, виходячи із проблеми пріонових хвороб, очевидно, є не перспективним.

Виходячи із викладеного, можна стверджувати, що найближчим часом саме молекулярна біологія, генна інженерія, а також інформаційні, біо- і медичні технології будуть визначальними важелями розвитку трансфузіології, як і медицини в цілому. Вже сьогодні за допомогою біотехнологічних методів створені і випущені перші комерційні препарати, які донедавна вироблялися виключно із донорської крові. Можна сподіватися, що удосконалення технологій отримання трансфузійних середовищ із такими важливими властивостями як перенесення кисню до периферичних тканин і вуглекислого газу зворотно, дозволить отримати препарати, що не мають побічної дії, зокрема, імуногенної активності. На сьогодні проводяться наукові дослідження щодо отримання універсальних еритроцитів, які б втрачали групові антигенні властивості після спеціальної обробки. Перспективним напрямком є застосування в клінічній практиці лімфоцитів, отриманих із периферичної крові методами гемафереза. Вони можуть слугувати як клітини-носії генів, що мають підвищену протипухлинну активність, це відкриє нову еру у лікуванні злоякісних новоутворень. Перший законопроект, що дозволяє клонування тканин людини було прийнято у січні 2001 р. у Великій Британії. Він принципово змінив ситуацію в трансфузійній медицині, розширив можливості для біотехнології виробництва трансфузійних середовищ.

Вищесказане дозволяє говорити про те що в історії розвитку трансфузійної медицини з початком прийдешнього століття настав новий етап,

принципи якого можна в рамках нової парадигми сформулювати як перехід від гемокомпонентної терапії до препаратної трансфузійної терапії. Перспективи розвитку трансфузіології в майбутньому, очевидно, ознаменуються поетапним переходом від гемокомпонентної терапії до застосування препаратів із донорської крові і трансфузійних середовищ, що отримуватимуться шляхом біотехнологічного і синтетичного виробництва із поступовим витісненням і заміщенням останніми донорських препаратів. Цілком очевидно, що одним із напрямків у трансфузійній медицині, що матимуть право на самостійне існування, особливо при планових оперативних втручаннях, є різні варіанти аутодонорства. Реалізація нової концепції у трансфузійній медицині – застосування препаратів крові у поєднанні із використанням всіх можливостей аутодонорства, в перспективі, на наш погляд, дозволить практично повністю вирішити проблему ізосенсибілізації і передачі збудників гемотрансмісивних інфекцій із кров'ю. Найближчим часом, впровадження методів ДНК- і РНК-генодіагностики збудників гемотрансмісивних захворювань в лабораторну службу центрів і станцій переливання крові дозволить виявляти інфікованих донорів у серонегативний період, що значно зменшить вірогідність інфікування реципієнтів і медичного персоналу.

Для керівників установ служби крові у нашій державі настав час визначити нові пріоритетні напрямки своєї діяльності, поставити нові задачі, що стосуватимуться не тільки отримання, переробки, зберігання і забезпечення гарантованої якості компонентів донорської крові, але і переходу на нові технології заготівлі компонентів і виробництва препаратів крові, що базуються на сучасних досягненнях генної інженерії і біотехнології. Керівникам закладів служби крові необхідно своєчасно потурбуватися не тільки про скоріше переоснащення технологічних процесів на станціях переливання (банках) крові, а і про професійну підготовку і перепідготовку персоналу.

Розділ 2**БУДОВА І ФУНКЦІЇ ІМУННОЇ СИСТЕМИ**

Перш ніж говорити про імунітет, імунологічну толерантність, імуногематологію необхідно зупинитись на загальних уявленнях про структуру і функції імунної системи. На теперішній час імунну систему розглядають як систему контролю, яка забезпечує індивідуальність і цілісність організму. Імунокомпетентна система – це сукупність лімфоїдних органів, тканин і клітин, що забезпечують біохімічну, структурну і функціональну індивідуальність організму шляхом елімінації із нього носіїв генетично чужорідної інформації. На підставі того, що імунна система забезпечує дві принципово різні форми реакцій, говорять про два види імунітету: гуморальний і клітинний, між якими існує надзвичайно тісний взаємозв'язок. Слід пам'ятати, що імунна система не завжди виконує тільки захисні функції. За її участю в організмі виникають патологічні процеси гіперчутливості негайного і сповільненого типу.

2.1. Центральні та периферичні органи імунної системи

Імунна система представлена сукупністю лімфоїдних органів загальною масою 1-2,5 кг, які не мають анатомічного зв'язку, а її чітке функціонування забезпечується за рахунок рухливих клітин, медіаторів і інших факторів. До імунної системи входять центральні та периферичні органи. До центральних належать тимус (вилочкова залоза), Bursa Fabricii (лімфоїдне утворення в кишковопорожнинних птахів), які забезпечують клітинний і гуморальний імунітет. Периферичні органи включають мигдалики, селезінку, лімфатичні вузли, апендикулярне охвістя, лімфоїдні елементи внутрішніх органів, крові і кісткового мозку. Імунна система включає також дифузно розсіяну у слизовій оболонці і підслизовій основі внутрішніх органів лімфоїдну тканину і чисельні лімфоцити, що знаходяться у крові, лімфі, тканинах і органах, де вони виконують функцію пошуку, виявлення і знищення генетично чужорідних агентів. Лімфатичні капіляри, лімфатичні судини, протоки і стовбурі є структурами, по яким тканинна рідина, що іменується лімфою, тече до лімфатичних вузлів, а від них до нижніх відділів шиї, де вливається у кровообіг. Через лімфатичні вузли, які разом із лімфатичними капілярами утворюють лімфатичну систему, профільтровується і знову повертається у кров'яне русло тканинна рідина із всіх ділянок тіла. Лімфатичну систему слід розглядати як важливу складову частину імунної системи.

Тимус є лімфоепітеліальним органом. Дозріває на 5-й рік життя, сягає максимуму розвитку до 30 років і надалі інволюціонує до старості. Тимус є центральним органом імунологічного нагляду і складається із чисельних дрібних часточок, у кожній із яких можна розрізнити корковий і мозковий шари. Корковий шар густо заповнений лімфоцитами, на які діють "тимічні" фактори, які виділяються епітеліальними клітинами цього шару. У ньому відбувається утворення Т-лімфоцитів, тимусних факторів, які керують Т-

клітинами дистанційно. Лімфоцити коркового шару характеризуються вираженим анізоцитозом. Великі лімфоцити знаходяться переважно у зовнішній зоні кори. У внутрішній зоні кори знаходиться велика кількість малих лімфоцитів, які мають Т-клітинні антигени. Переважна кількість малих лімфоцитів гине у тимусі. У мозковому шарі міститься небагато, але вже зрілих Т-лімфоцитів. Вони можуть покидати вилочкову залозу і включатись у циркуляцію. В тимусі існує бар'єр (аналогічний гематоенцефалічному) між циркулюючою кров'ю і корковим шаром. Внаслідок чого у контакт з антигенами вступають тільки клітини мозкового шару. Тимус тонко реагує на зміни фізіологічного стану і патологічні процеси. При вагітності він тимчасово зменшується у 2-3 рази. Має певне відношення до утворення "фактору росту", бере участь в регулюванні і диференціюванні соматичних клітин у плода. Регулює співвідношення кількості Т-лімфоцитів до решти клітин. Так, у ембріона таке співвідношення становить 1:30, а у дорослих людей – 1:1000. Важливою відмінною особливістю тимуса є постійно високий рівень мітозів, який не залежить від антигенного подразнення.

Бурса Фабриціуса – фолікуло-епітеліальний орган. Виявлена у птахів, регулює гуморальні імунологічні реакції. У ній формуються В-лімфоцити аналогічно тому, як у тимусі дозрівають Т-лімфоцити. У людини функцію бурси виконують кістковий мозок, лімфатичні утворення кишечника, насамперед, хробакоподібне охвістя і інші лімфоїдні структури.

Селезінка заселяється лімфоцитами у пізньому ембріональному періоді і після народження. Вони накопичуються в периваскулярному просторі і є попередниками білої пульпи селезінки, у якій розрізняють тимус залежні і тимуснезалежні зони, які заселяються відповідно Т- і В-лімфоцитами. Т-клітини розміщуються переважно в периартеріальних областях, а В-клітини в лімфоїдних муфтах і фолікулах. Антигени з током крові досягають селезінки, фіксуються на дендритних клітинах і в маргінальній зоні, звідки вони транспортуються до білої пульпи і розміщених у ній центрів розмноження. Дані антигени індукують утворення лімфобластів в тимусзалежній зоні селезінки, а в тимуснезалежній зоні відмічають проліферацію лімфоцитів і утворення плазматичних клітин. Селезінка здійснює контроль за цитологічним складом крові, вилучаючи із кровотоку еритроцити, лейкоцити, які втратили функціональну активність, а також утворює нові лімфоцити у відповідь на чужерідні антигени, що потрапили із кровотоку.

Лімфатичні вузли розміщені по ходу лімфатичних судин. Вони складаються із капсули мозкового і кркового шару. У корі виділяють тимусзалежні (паракортикальні) і тимуснезалежні (гермінтативні) центри. Ретикулярні клітини утворюють синуси, які фільтрують лімфу, яка дренує тканини організму і може містити чужерідні антигени. У лімфовузлах відбувається дозрівання лімфоцитів, синтез антитіл, затримання чужерідних антигенів, пухлинних клітин, руйнування відпрацювавших свій термін еритроцитів тощо. Залежно від виду антигенної дії зміни можуть виявлятися у різних зонах лімфатичного вузла. При реакціях клітинного типу в паракортикальній зоні лімфатичного вузла вже протягом доби можна виявити

бластні клітини, проліферація Т-лімфоцитів продовжується декілька днів. Якщо антигени викликають імунну реакцію гуморального типу, то морфологічно значимі зміни відбуваються у тимуснезалежній (зовнішній) ділянці кори. При цьому, антиген, що накопичується на ретикулярних клітинах лімфоїдного фолікула, індукує проліферацію в зародкових центрах, а через декілька днів починається міграція плазматичних клітин із коркової зони у мозкову.

Лімфоцити потрапляють в лімфатичний вузол по аферентним лімфатичним судинам, проникаючи через стінку посткапілярної венули з високим ендотелієм. На ендотеліальних клітинах, які вистилають такі венули, розміщені спеціальні рецептори, які направляють відповідну популяцію лімфоцитів у лімфатичний вузол. Переміщення лімфоцитів між тканинами, кровоносним руслом і лімфатичними вузлами дозволяє антигенчутливим клітинам виявляти антиген і скупчуватись у тих місцях, де відбувається імунна реакція, а поширення по організму клітин пам'яті і їхніх нащадків дозволяє лімфоїдній системі організувати генералізовану імунну відповідь. Вже через добу після того як антиген опинився в лімфатичному вузлі чи селезінці, реагуючі на нього клітини із циркулюючого пула лімфоцитів накопичуються в місцях локалізації антигена, інтенсивно проліферують, і із лімфатичного вузла через 3 доби виходять активовані бластні лімфоїдні клітини.

Кров також відносять до периферичних лімфоїдних органів. У ній циркулюють різні популяції та субпопуляції лімфоцитів, а також моноцити, нейтрофіли і інші клітини. Загальна кількість циркулюючих лімфоцитів становить 10^{10} .

Мигдалики є парним лімфоїдним органом, що розміщений позаду глоточно-щічного звуження і попереду глоточно-носового звуження. Положення даного органа, який винесений на периферію і розміщений на границі дихального і травного трактів, надає йому особливу роль інформаційного центра про антигени, що потрапляють в організм із їжею, водою, повітрям. Сумарна площа всіх крипт мигдаликів становить близько 300 см^2 , що забезпечує достатню рецепцію антигенів. Дифузна (міжвузликова) тканина мигдаликів є тимусзалежною зоною, а центри розмноження лімфоїдних вузликів виконують функцію В-зони. Мигдалики знаходяться у тісному функціональному взаємозв'язку з тимусом, і їх видалення сприяє більш ранній його інволюції. У мигдаликах синтезуються IgA, IgM, IgG і інтерферон, що забезпечує неспецифічну антиінфекційну резистентність.

Апендикулярне охвістя гістоморфологічно складається із купола з короною, фолікулів, що розміщені під куполом, тимусзалежною зоною і зв'язаною із нею слизовою оболонкою у формі грибоподібних виступів. В куполі розміщені бласти і лімфоцити, в кроні і тимусзалежній зоні – малі лімфоцити, а в фолікулах – клітини зародкових центрів. Купол апендикса, очевидно, виконує функцію центрального лімфоїдного органа, а у фолікулах розмножуються сенсibilізовані кишечними бактеріями В-клітини. У тимусзалежній зоні, яка знаходиться біля основань лімфоїдних вузликів, співвідношення В- і Т-лімфоцитів складає 1:14 – 1:20. Дані клітини і реагують бластною трансформацією на Т-мітогени, антигени. У хробакоподібному

охвісті синтезуються і антитіла місцевого значення. Зовсім недавно встановлено, що апендикс регулює колонієрезистентність бактерій в кишечнику. Апендектомія призводить до пригнічення мікрофлори, яка є природнім антагоністом вірулентних збудників кишкових захворювань. Лімфоцити апендикса комітуються антигенами “мешканців” кишечника, мігрують в інші лімфоїдні утворення, насамперед селезінку, і сприяють формуванню загальної реакції імунної системи.

2.2. Клітини імунної системи

Дія імунних механізмів базується на реакціях двох типів: клітинних і гуморальних. Клітинні реакції забезпечують захист організму від внутрішньоклітинних і грибкових інфекцій, внутрішньоклітинних паразитів і пухлинних клітин. Гуморальні реакції спрямовані проти позаклітинних бактерій і вірусів. У клітинних реакціях беруть участь тимусзалежні лімфоцити (Т-клітини), а в гуморальних – тимуснезалежні лімфоцити (В-клітини). Крім лімфоцитів в імунних реакціях беруть участь допоміжні клітини: макрофаги і моноцити. Останні здатні захоплювати антиген, переробляти його і здійснювати презентацію лімфоцитам, а також впливати на процеси дозрівання лімфоцитів і підтримувати (як клітини-ефектори) реакції імунологічного захисту.

Головними учасниками розгортання імунологічних реакцій і відповіді на чужерідні агенти є лімфоцити. Популяція лімфоцитів ділиться на 2 класи: Т-лімфоцити (дозрівають у тимусі) і В-лімфоцити (утворюються в кістковому мозку). Самими ранніми родоначальниками лімфоцитів є популяція стовбурових клітин (CD34+), із якої утворюються окремо попередники Т- і В-лімфоцитів – це так звані пре-Т і пре-В-клітини. Вони направляються у відповідні центри, де дозрівають, обростаючи рецепторами, набувають здатності реагувати із антигенами, тобто стають імунокомпетентними. У циркуляцію із тимуса виходить лише 0,9-8% клітин, решта – “старіють” у вилочковій залозі. Т-клітини становлять переважну більшість всіх лімфоїдних клітин – 70%, постійно циркулюють, проходячи десятки разів через периферичні органи імунної системи. До тимуса Т-лімфоцити із периферичного кровотоку ніколи не повертаються, але постійно ним контролюються. На теперішній час відомо дві субпопуляції Т-лімфоцитів: Т₁-незрілі та Т₂-зрілі. Т₁-незрілі лімфоцити головним чином розміщуються в селезінці, є короткоживучими (до декількох днів), малоактивні, нециркулюючі, високочутливі до кортикостероїдів і радіації. Т₂-зрілі лімфоцити є “довгожителами” (понад 100 днів), циркулюючі і рециркулюючі, малочутливі до кортикостероїдів і радіації, високоактивні. Т-лімфоцити “заселяють” Т-залежні зони периферичних лімфоїдних органів імунної системи. В них вони зустрічаються з антигенами і диференціюються на ряд субпопуляцій, які виконують строго специфічні функції. На своїй поверхні Т-лімфоцити несуть специфічні рецептори для розпізнавання антигенів. Рецептор уявляє із себе гетеродимер, який складається із трансмембранних α - і β -поліпептидних

ланцюжків, кожний із яких має варіабельну і константу ділянки. Варіабельна ділянка зв'язується із антигенами і молекулами МНС. Структурна основа процесу впізнавання антигену лімфоцитами до теперішнього часу остаточно не встановлена. У всіх імунокомпетентних Т-лімфоцитів антигенний рецептор нековалентно, але достатньо міцно зв'язаний у комплекс з молекулою ТЗ (CD3), що складається із п'яти пептидних ланцюжків, яка бере участь у передачі сигналу від впізнаючого антиген гетеродимера всередину клітини.

2.2.1. Субпопуляції Т-клітин

Т-хелпери є регуляторними клітинами. Без них неможлива трансформація В-лімфоцитів в плазматичні клітини, які виробляють антитіла. Вони здатні посилювати клітинні реакції імунної системи. Знищення даної субпопуляції лімфоцитів, наприклад при ВІЛ/СНІД-інфекції, значно ослаблює захисні можливості організму. Т-хелпери експресують мембранну молекулу CD4, яка виконує дві ключові функції в активації Т-лімфоцитів, забезпечуючи взаємодію за зразком “клітина-клітина” за рахунок адгезивних властивостей молекули та трансдукцію сигналу в клітину після такого зв'язування. CD4 є афінною до молекул МНС II класу, вона стабілізує зв'язування Т-клітинного рецептора Т-хелперів із антиген-презентуючою клітиною. Це спрощена схема клітинної взаємодії, насправді однієї описаної взаємодії недостатньо для здійснення міцної міжклітинної адгезії і індукції сигналу. Взаємодія здійснюється за участю різноманітних допоміжних молекул адгезії із яких важливими є молекули CD28 Т-лімфоцитів і молекули В7 (CD80 або CD86) антиген-презентуючої клітини. При кооперації Т- і В-лімфоцитів, коли на В-клітині експресована молекула В7 (CD80), процес перебігає паралельно і аналогічно іншому ключовому зв'язуванню – CD40 на В-клітині із лігандом CD40L на Т-лімфоцитах. CD4+ Т-хелпери в теперішній час розподіляють на три типи. Т-хелпери I типу, які забезпечують розвиток імунної відповіді у сповільненому вигляді, здатні до цитотоксичності, можуть синтезувати ІЛ-2, γ -інтерферон, фактор некрозу пухлин, активують макрофаги. Тобто, Т-хелпери I типу фактично є хелперами клітинної відповіді. Т-хелпери II типу, які беруть участь в імунологічних реакціях негайного типу, стимулюють утворення мастоцитів і еозинофілів, синтез ІgE і інших класів імуноглобулінів, здатні синтезувати ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-6, ІЛ-10, ІЛ-13. Т-хелпери II типу є хелперами гуморальної відповіді. Т-хелпери III типу здатні секретувати лімфокіни. Лімфокіни забезпечують активацію або сприяють активації інших Т- і В-клітин, які здатні впізнавати антиген в комплексі із власними білками МНС класу II. Дані клітини здатні індукувати реакції гіперчутливості сповільненого типу.

Т-ефектори здійснюють клітинні імунні реакції. Вони бувають антиген-специфічними і антиген-неспецифічними.

Т-кіллери або цитотоксичні Т-клітини впізнають антиген в комплексі із власними МНС-молекулами класу I. Описано Т-кіллери, що специфічні до МНС-молекул класу II. Т-кіллери знищують злоякісні, трансплантовані, мутантні, модифіковані, старіючі, уражені бактеріями чи вірусами клітини.

Т-індуктори супресії. Так називають клітини, які здатні індукувати перетворення інших Т-клітин в Т-супресори. Індукторна супресія даних клітин базується на їхній здатності секретувати фактори супресії, які побудовані із двох ланцюжків, одна із яких зв'язує антиген, а інша є продуктом генів МНС.

Контрсупресорні Т-клітини упереджують інактивацію Т-хелперів і Т-індукторів супресорними ефекторними Т-клітинами. Про ці клітини відомо небагато: вони специфічні стосовно антигена і відіграють важливу роль у розвитку імунологічної пам'яті при активній супресії.

Т-супресори – клітини, які генетично запрограмовані для супресивної активності, відповідають переважно на продукти генів МНС класу I. На теперішній час описано велику кількість супресорних Т-клітин, які відрізняються одні від інших. В цілому, Т-супресори здатні гальмувати занадто сильні і затяжні імунологічні реакції. Вони бувають специфічними і неспецифічними. Їхня дія поширюється на В-клітини, 0-лімфоцити, макрофаги, Т-ефектори, Т-хелпери. Порушення їх функції призводить до аутоімунних і алергічних захворювань. Т-супресори експресують на мембрані молекулу CD8, яка здійснює дві важливі функції – забезпечує участь у міжклітинній взаємодії і трансдукцію сигналу. Останнім часом CD8 Т-лімфоцити функціонально відносять до цитотоксичних Т-лімфоцитів, які розпізнають антигени в комплексі з молекулами головного комплексу гістосумісності на мембрані клітин-мішеней. Такі лімфоцити необхідні для боротьби із внутрішньоклітинними інфекціями. При виконанні своєї функції вони продукують γ -інтерферон, фактор некрозу пухлин, тобто беруть участь у здійсненні імунних реакцій, які перебігають за участю Т-хелперів I типу.

Т-лімфоцити також розподіляють на два типи за експресією Т-клітинного рецептора. Т-лімфоцити, які несуть Т-клітинний рецептор-альфа/бета, здатні експресувати CD4 і CD8. Вони мають пізню тимусзалежну експресію в онтогенезі і знаходяться в периферичній крові, селезінці і лімфовузлах. Т-лімфоцити, які несуть Т-клітинний рецептор-гама/дельта, мають експресію CD4-/CD8- або CD4-/CD8+, локалізуються в шкірі, кишковому епітелії, очеревині. Вони мають ранню тимусзалежну експресію в онтогенезі.

На теперішній час відомо понад 10 типів Т-клітин, а в майбутньому їх кількість ще більше зросте. Спільним для різних класів Т-клітин є те, що антиген впізнають різні рецепторні молекули.

2.2.1.1. Деякі диференціювальні антигени Т-лімфоцитів

Застосовуючи сучасні методи біохімічного, серологічного і молекулярного аналізу клонованих популяцій Т-клітин, можна виявити відмінності між рецепторними молекулами. Не дивлячись на те, що Т- і В-клітини досить легко диференціюються за поверхневими маркерами (CD3 на Т-клітинах і поверхневі імуноглобуліни на В-клітинах), вважаємо за доцільне навести дані стосовно найважливіших диференціювальних антигенів Т-лімфоцитів.

CD2 – це антиген, який виявляють на всіх зрілих периферичних Т-лімфоцитах. Саме він забезпечує утворення розеток з еритроцитами барана (методика виявлення Т-клітин). CD2 бере участь у процесі неспецифічної активації Т-клітин, що відіграє важливу роль при дозріванні клітин у тимусі, оскільки проліферація тимоцитів індукується до початку експресії специфічного антигенного рецептора.

CD3 – це зв'язаний з мембраною білковий комплекс, що складається із п'яти глікопротеїнів і сполучений із антигенспецифічним рецептором (Ті). Комплекс CD3+Ті і є антигенспецифічним клітинним рецептором периферичних Т-лімфоцитів людини. Зв'язування антигена, асоційованого з детермінантами МНС, є специфічним сигналом для активації зрілої Т-клітини. При цьому CD3 бере участь у передачі сигналу всередину клітини. Безпосереднім результатом зв'язування антигена з рецептором є поступання в клітину іонів Ca^{2+} , що запускає каскад специфічних реакцій.

CD4 – антиген глікопротеїнової природи, який експресується на 2/3 периферичних лімфоцитів. На етапі дозрівання клітин у тимусі CD4 експресується всіма клітинами, а в ході їх диференціювання залишається тільки у субпопуляції, яка перестала експресувати CD8-антиген. В периферичній крові приблизно 5% Т-лімфоцитів несуть одночасно маркери CD4 і CD8. Зрілі CD4+-Т-клітини включають Т-лімфоцити, які функціонально характеризують як хелпери і індуктори. При контакті Т-лімфоцитів з антигенпрезентуючою клітиною, CD4 виступає у ролі специфічного місця зв'язування детермінант білкових молекул МНС класу II. Особливе значення має факт зв'язування молекулою CD4 оболонкових білків вірусу імунодефіциту людини.

CD8 – антиген, що експресується на поверхні близько третини периферичних Т-клітин, які дозрівають із CD4+/CD8+-Т-лімфоцитів. Субпопуляція CD8+-Т-клітин включає цитотоксичні і супресорні Т-лімфоцити. При контакті із клітинами-мішенями CD8 виступає у ролі рецептора неpolіморфних детермінант білків МНС класу I.

CD45R – антиген, що присутній приблизно на 50% Т-лімфоцитів. Він експресується також В-клітинами і моноцитами. Клітини CD4+/CD45R ідентифікують як індуктори супресорів, що дає змогу не напряду визначати також функціонально активні індуктори хелперів.

CD25 – глікопротеїн, який ідентифіковано як низькоафінний рецептор до ІЛ-2. Разом із білком 75К антиген CD25 утворює високоафінний рецептор ІЛ-2. CD25 експресується на активованих Т-лімфоцитах.

Окрім названих антигенів на Т-лімфоцитах присутні і інші: CD1, CD6, CD7, CD26, CD28, CD29, CD39, рецептори до еритроцитів барана, лектину, Fc-фрагменту антитіл, які відіграють важливу роль в процесах індукції і регулювання імунної відповіді.

2.2.2. Субпопуляції В-клітин

Термін “В-клітина” утворено за першою літерою англійської назви органів, у яких формуються ці клітини – Bursa of Fabricius у птахів і Bone

тагов у людини і інших ссавців. Диференціювання стовбурових клітин в В- і Т-лімфоцити відбувається після потрапляння їх у особливе, індукуюче диференціювання мірооточення кісткового мозку. У диференціюванні В-клітин, яке повністю відбувається у кістковому мозку, виділяють дві фази: антигензалежну і антигеннезалежну. Під впливом локального мікрооточення попередники В-лімфоцитів, які називають великими пре-В-клітинами, діляться, утворюючи пре-В-клітини. В цитоплазмі пре-В-клітин містяться важкі ланцюжки імуноглобулінів класу М, дещо пізніше у них з'являється здатність синтезувати і легкі ланцюжки. Це обумовлено виникаючою несинхронністю в фазу перебудови генів Ig і їх експресією. Пре-В-клітини не мають поверхневих Ig. Цей етап іменують антигеннезалежною фазою диференціювання В-клітин. Під час її перебігу виникає велика кількість різноманітних клонів пре-В-клітин, які не мають імуноглобулінових рецепторів, що здатні взаємодіяти із антигеном.

Пізніше постмітотичні пре-В-клітини перетворюються в малі незрілі В-клітини, на мембрані яких вже містяться молекули IgM. Перетворення пре-В-клітин у незрілі В-клітини, що здатні синтезувати IgM, починається ще в печінці ембріона, потім переміщається в кістковий мозок, де і триває протягом всього життя. Із кісткового мозку незрілі В-клітини попадають у кровообіг, звідки мігрують у селезінку, лімфатичні вузли інші лімфоїдні органи, де заселяють В-залежні зони. Важлива властивість незрілих В-клітин – це підвищена чутливість до зшивання їхніх поверхневих молекул (IgM). Цим упереджується розвиток аутореактивних клонів В-клітин, оскільки зразу ж інактивуються незрілі В-клітини, а зрілі під впливом означеного стимулу швидко входять в клітинний цикл і розмножуються.

Одним із найважливіших поверхневих компонентів В-клітин є молекули HLA-DR – генетично поліморфні глікопротеїни, які служать впізнавальними елементами при взаємодії В-клітин із активованими антигеном Т-клітинами. Така взаємодія призводить до активації В-клітин. У людини HLA-DR-молекули експресуються як на В- так і на пре-В-клітинах. Експресія означеного антигену припиняється при диференціюванні В-клітин в плазматичні. В середині кожного клону частина В-клітин переключається із експресії імуноглобулінів М і D, на експресію імуноглобулінів G, A, E. В-лімфоцити одночасно можуть експресувати до трьох ізотипів імуноглобулінів.

Кількість В-клітин і тривалість їх життя менші, ніж у Т-лімфоцитів. Серед В-лімфоцитів розрізняють дві субпопуляції. Перша – з фенотипом CD5 продукує переважно IgM, локалізується переважно в черевній і плевральній порожнинах. Основні клітини, які забезпечують весь гуморальний імунітет, проходять весь процес лімфопоезу спочатку в печінці, потім в кістковому мозку і локалізуються в периферичній лімфоїдній тканині. В-лімфоцити є прямими попередниками антитілоутворюючих клітин. В нормі вони продукують антитіла у невеликій кількості. Специфічність їх дуже велика, що дає змогу зв'язуватись практично із будь-яким чужерідним білком. Під впливом специфічного антигена В-лімфоцити диференціюються на плазмобласти, юні і зрілі плазмоцити. Зрілі плазмоцити здатні синтезувати специфічні антитіла зі

швидкістю 50000 молекул за год. Потім антитіла виходять на поверхню лімфоїдної клітини і поступово потрапляють у кровообіг. Через 18-20 год можуть з'явитися нові рецептори на поверхні плазмоцита, а в процесі синтезу може відбутися зміна класу антитіл, що виробляються, але із збереженням їх специфічності.

Відомо 5 основних класів імуноглобулінів: IgG, IgM, IgA, IgD і IgE.

IgM є “важкими” імуноглобулінами, які першими з'являються після антигенного подразнення. IgM є низькоактивними, серед них розрізняють два субкласи: IgM₁ та IgM₂. Період напіврозпаду IgM у людини складає близько 5 діб. Мають 10 валентностей. Питома вага IgM у структурі всіх імуноглобулінів становить близько 10%.

IgG – це високоактивні імуноглобуліни, що у процесі імунологічної відповіді синтезуються пізніше IgM. В основному, IgG утворюються при повторній імунізації. Відомо 4 субкласи IgG: IgG₁, IgG₂, IgG₃ та IgG₄, всі вони - двовалентні. Період напіврозпаду IgG у людини складає близько 23 діб. Питома вага IgG у структурі всіх імуноглобулінів становить близько 75%.

IgA також є високоактивними. Утворюються при антигенному подразненні. Відомо два субкласи IgA: IgA₁ та IgA₂. Період напіврозпаду IgA у людини складає близько 6 діб. Питома вага IgA у структурі всіх імуноглобулінів становить 15-30%. Розрізняють 3 типи IgA: 1 – сироватковий мономерний IgA, який складає до 80% всіх IgA сироватки крові; 2 – сироватковий димерний IgA; 3 – секреторний IgA – SIgA. SIgA є надзвичайно активними. За структурою SIgA є димерами із двох мономерів IgA, які сполучені секреторним компонентом, що секретується епітеліальними клітинами. За допомогою секреторного компоненту IgA може фіксуватися на клітинах слизових оболонок. IgA виявляють у слині, секретах травного тракту, грудному молоці, секреті бронхів. Секреторні імуноглобуліни пригнічують процеси прикріплення мікробів до слизових, мають виражену противірусну активність.

Функція IgD до тепер недостатньо вивчена. Зустрічаються IgD у хворих із хронічними запальними процесами та множинною мієломою. Період напіврозпаду 3 доби. Загальна їх кількість не перевищує 1%. Очевидно IgD відіграють роль Ig-рецепторів при диференціюванні В-лімфоцитів.

IgE виконують роль реагінів. Вони забезпечують алергічні реакції негайного типу. Період напіврозпаду становить близько 2,5 діб. Концентрація у сироватці надзвичайно низька.

Вважається, що найактивніше із антигенами зв'язуються IgG, але слід підкреслити, що авідність імуноглобулінів залежить не тільки від класу, а і від характеру антигена. Так, IgM більш авідні при зв'язуванні з крупними антигенами (еритроцитарними, фагами, вірусами), а IgG більш успішно зв'язуються простішими за структурою білковими антигенами.

На поверхні В-лімфоцита є ряд рецепторів: антигенспецифічні рецептори, рецептори до факторів росту і диференціювання, Fc-рецептори, рецептори до комплекта.

2.3. Клітини імунологічної пам'яті

Відомо, що імунізація супроводжується виникненням імунологічної пам'яті. Завдячуючи останній відбувається скоріша чи повільніша, інтенсивна чи ні імунна відповідь організму на повторну зустріч із гомологічним антигеном. Формування імунологічної пам'яті здійснюється на рівні популяції Т- і В-клітин. Прийнято вважати, що великі дози антигенів сприяють імунній відповіді, а більш низькі – імунологічній пам'яті. Малі дози індукують Т-пам'ять, більш високі – В-пам'ять. Клітини, які забезпечують імунологічну пам'ять представляють довгоживучу популяцію, а максимальне їх накопичення відбувається через 3 тижні після імунізації.

У 1973 р. було відкрито так звані нульові клітини, що не мають маркерів ні Т- ні В-лімфоцитів. Їх популяція є досить різномірною. Вона включає недозрілі попередники основних популяцій лімфоцитів, які поповнюють пул Т- і В-клітин, що витрачаються в процесі життєдіяльності. В периферичній крові такі 0-лімфоцити становлять, в середньому, 14,5%. Частина їх є антитілозалежною популяцією з кілерними функціями і властивостями НК-клітин. 0-лімфоцити відрізняються від Т- і В-лімфоцитів тим, що вони розпізнають антиген без обмеження за системою HLA і не утворюють клітин пам'яті. Найважливішою різновидністю нульових клітин є НК-клітини, які здатні руйнувати клітини-мішені, наприклад пухлинні чи інфіковані вірусом клітини, без участі антитіл. Дані клітини циркулюють тільки в крові та локалізуються переважно в печінці і децидуальній оболонці вагітної матки. Вони здатні продукувати цитокіни - γ -інтерферон, фактор некрозу пухлин, ІЛ-5, ІЛ-8, тим самим забезпечувати перебіг багатьох імунологічних реакцій. Обидві субпопуляції НК-клітин можуть розвивати цитотоксичність, причому НК-клітини крові в реальних умовах обумовлюють розвиток антитілозалежної цитотоксичності, а НК-клітини, які локалізуються в матці і печінці, беруть участь у забезпеченні толерантності до харчових алергенів і антигенів плода. Окрім означених, цитотоксичною активністю наділені нелімфоїдні елементи: моноцити, макрофаги, еозинофіли, нейтрофіли, які несуть на своїй поверхні рецептори до Fc-фрагмента. Блокада цих рецепторів імунними комплексами може призвести до втрати цитотоксичності.

2.4. Індукція і регуляція імунної відповіді

Основним фактором індукції і регуляції імунної відповіді є антиген. Первинний контакт антигена із імунокомпетентними клітинами (В- і Т-лімфоцити) формує в кінцевому результаті імунну відповідь, яка включає два типи імунних реакцій – гуморальні та клітинні.

2.4.1. Антигени

Антигени – це високомолекулярні сполуки, які специфічно стимулюючи імунокомпетентні клітини, викликають імунну реакцію і взаємодіють з

продуктами цієї реакції – антитілами і активованими лімфоцитами. Антигенами називають молекули, які індукують імунну відповідь (імуногени), а також молекули, які реагують із антитілами або активованими Т-лімфоцитами.

Імуногенність антигена визначається цілим рядом факторів: молекулярною масою, хімічною неоднорідністю, генетичною чужерідністю, дозою, способом потрапляння в організм, наявністю ад'ювантів. Так, низькомолекулярні речовини (ліпіди, амінокислоти, моносахариди тощо) не є імуногенами. Сполуки із молекулярною масою 5-10 кД мають слабо виразні імуногенні властивості, а сильними імуногенами є речовини з молекулярною масою в декілька млн дальтон. Низькі дози антигена індукують синтез невеликої кількості антитіл, які відрізняються високою афінністю. Із збільшенням дози антигену виразність імунологічної відповіді зростає, але дуже великі кількості антигену можуть викликати стан імунологічної толерантності. Виразніша імунна відповідь на антигени, що потрапляють парентерально, а наявність ад'ювантів – речовин, які посилюють імуногенність антигена, сприяє посиленню імунологічної відповіді. Формування імунологічної відповіді визначається і генетично обумовленою здатністю організму реагувати на чужерідні речовини, оскільки даний процес контролюється Іr-генами (immune response), які розміщені в D/DR ділянці головного комплексу гістосумісності (МНС).

2.4.1.1. Класифікація антигенів

За походженням антигени можуть бути *природними* (антигени клітин крові і тканин, білки, вуглеводи, нуклеїнові кислоти, бактеріальні ендо- і екзотоксини тощо), *штучними* (динітрофеніліровані білки, вуглеводи), *синтетичними* (синтезовані поліамінокислоти, поліпептиди тощо).

За хімічною природою: *білки* (сироваткові, яєчні, молочні; гормони, ферменти тощо); *вуглеводи* (декстран, леван тощо); *поліпептиди* (полімери α -амінокислот, кополімери глутаміну і аланіну тощо); *ліпіди* (лецитин, холестерин тощо – можуть виступати у ролі гаптена, а з'єднавшись із білками сироватки вони набувають антигенних властивостей); *нуклеїнові кислоти* (ДНК, РНК); *кон'юговані сполуки* (динітрофеніліровані білки).

За генетичним співвідношенням “донор-реципієнт”: *аутоантигени* (походять із тканин власного організму); *ізоантигени* (походять від генетично ідентичного сингенного донора); *алоантигени* (походять від неродичевого донора того ж виду); *ксеноантигени* (походять від донора іншого виду).

У разі, коли антигени викликають імунну відповідь у організмі їх іменують *імуногенами*, а якщо контакт з антигеном супроводжується зниженням реактивності організму, то такі антигени іменують *толерогенами*.

Антигени, що проникають в організм людини мають унікальну властивість – зв'язуватись з лімфоцитами і/або активувати їх. Згідно клонально-селекційної теорії (висунута Бернетом в 1959 р.), за нормального розвитку в організмі виникає набір із тисяч дуже невеликих за кількістю субпопуляцій лімфоцитів, які мають на зовнішній мембрані рецептори лише до однієї

антигенної детермінанти. Імунна відповідь виявляється специфічною тому, що антиген, який проникає в організм вибірково зв'язується тільки з тими клітинами, на поверхні яких є відповідні рецептори. З рештою клітин даний антиген не взаємодіє.

Взаємодія антигена з лімфоцитом індукує активацію останнього, що є пусковим механізмом цілого каскаду реакцій, які спричинюють поділ клітин і їх диференціювання. В процесі диференціювання лімфоцитів відбувається виникнення і розвиток таких ефекторних функцій як антитілоутворення у В-клітин, поява цитотоксичної активності у частини Т-клітин. Тобто, зв'язування антигена індукує активацію лімфоцитів. Під активацією лімфоцитів розуміють доволі складний процес переходу клітини із фази G_0 в фазу G_1 , який викликається взаємодією із стимулюючим агентом, наприклад, мітогеном чи антигеном. Термін "лімфоцит у спокої" стосується лімфоцитів, що знаходяться в фазі G_0 , характеризується низьким рівнем метаболічної активності (низька швидкість синтезу білка і РНК, відсутність синтезу ДНК). Згідно клонально-селекційної теорії, клітини, які вступають у взаємодію з антигеном, знаходяться в стані спокою. Внаслідок стимуляції у лімфоциті поряд із зростанням метаболічних процесів, починають відбуватись зміни, характерні для процесів дозрівання. Останні є різними для різних субпопуляцій лімфоцитів. Як наслідок, кожна субпопуляція лімфоцитів набуває властивих тільки для неї поверхневих антигенів і специфічних функцій.

На теперішній час вивчення послідовності процесів активації лімфоцитів перебуває на стадії накопичення наукових фактів, але вже можна її представити наступним чином. Рецептори на поверхні лімфоцита зв'язують стимулюючий антиген і зшиваються один з іншим. Утворюються невеликі кластери зшитих рецепторів, які є найефективнішими при передачі активуючого сигналу. Дані кластери підвищують проникливість мембрани лімфоцита для одновалентних катіонів. Це призводить до реполяризації мембрани і локального підвищення рівня Na^+ із внутрішнього боку мембрани і активації Na^+-K^+-ATP фази. Внаслідок зшивання рецепторів лімфоцита паралельно активізується мембранна метилтрансфераза, яка каталізує утворення відповідної кількості мнометилфосфатидилетаноламиду, що супроводжується підвищенням текучості мембрани і її локальною перебудовою. Остання спричинає дифузію іонів Ca^{2+} в лімфоцит. Внаслідок підвищення концентрації Ca^{2+} всередині лімфоцита, активізується фосфоліпаза A_2 , яка каталізує утворення лізолецитину і арахідонової кислоти із фосфатидилхоліну. Означені зміни відбуваються протягом перших 30 хв після контакту лімфоцита з антигеном. Одночасно іони Ca^{2+} активують і інший цитоплазматичний фермент, який розщиплює фосфатидилінозитіол. Арахідонова кислота, яка вивільнюється при цьому за участю ліпоксигенази і циклоксигенази, розщиплюється до лейкотриєнів і простагландинів. Продукти даної реакції регулюють синтез ДНК і РНК, впливають на зв'язування іонів Ca^{2+} та активність аденілатциклази. Лізолецитин за допомогою іонів Ca^{2+} активує гуанілатциклазу, що призводить до збільшення концентрації цГМФ, який в свою чергу активує протеїнкіназу, трансферази жирних кислот і ферменти, які посилюють синтез мембранних

фосфоліпідів. Важливою ланкою є активація протеїнкіназ, які посилюють біосинтез мРНК, поліамінів і перенесення метильних груп. Оскільки транспорт глюкози в клітину є Ca^{2+} -залежним процесом, то збільшення концентрації іонів Ca^{2+} посилює її проникнення в лімфоцит. Глюкоза є початковим матеріалом для активізації чисельних енергозалежних процесів у клітині. Посилення транспорту амінокислот і нуклеотидів супроводжується підвищенням утворення полісом і збільшенням синтезу рибосомної і матричної РНК, ДНК і білка. Такою є спрощена схема якісних змін у лімфоцитах при їх активації антигеном.

2.4.2. Формування імунної відповіді гуморального типу

На першому етапі формування імунної відповіді іде розпізнавання антигена лімфоцитами. Т-незалежний антиген, що потрапив в організм, зв'язується з рецепторами мембрани В-лімфоцита. Рецептор представлений IgM. Взаємодія антигена із рецептором і його зв'язування є сигналом до подальшої проліферації і диференціювання В-лімфоцита. Залежно від природи антигена відбуваються характерні зміни антигенних рецепторів. До взаємодії з антигеном чи комплексом антиген-антитіло, антигенні рецептори розміщувались рівномірно по всій площині клітини, а після сполучення – вони концентруються на одному з полюсів клітини, утворюючи так звані “шапочки”. Далі В-лімфоцит звільняє свою мембрану від “шапочок” шляхом відторгнення або піноцитозу. Через декілька годин втрачені мембраною лімфоцита антигензв'язуючі рецептори знову синтезуються і вмонтовуються в мембрану.

На другому етапі відбувається міжклітинна кооперація. До індукції імунної відповіді підключаються антигенпрезентуючі клітини (макрофаги, моноцити, дендроцити, інтерстиціальні клітини, клітини Лангерганса, епідерміс, ендотелій) і Т-лімфоцити. Оскільки не всі антигени після зв'язування з рецепторами В-лімфоцитів можуть індукувати їх проліферацію і диференціювання, у більшості випадків для індукції необхідна міжклітинна кооперація. Антиген поглинається і перероблюється переважно клітинами, що здатні до фагоцитозу і піноцитозу. Антигенпрезентуючі клітини за допомогою лізосомальних гідролаз розщиплюють антиген, а потім виводять на свою поверхню продукти його розщеплення. Останні значно імуногенніші, ніж нативний антиген. На поверхні антигенпрезентуючої клітини продукти розщеплення антигена (антигенні детермінанти) з'єднуються з білками антигенної природи МНС класу II. Потім відбувається презентація комплексу “антигенні детермінанти-білок” Т-лімфоциту. Субпопуляції Т-лімфоцитів (Т-хелперів і Т-індукторів) мають спеціалізовані рецептори для антигенів МНС класу II. Презентація антигенної детермінанти антигенпрезентуючими клітинами призводить до міжклітинної кооперації і формуванню подвійного сигналу. У кооперуванні антигенпрезентуючих клітин і Т-лімфоцитів беруть участь ряд медіаторів, насамперед ІЛ-1 і інтерферон. ІЛ-1 виробляється макрофагами і виступає у ролі додаткового сигналу для Т-індукторів і Т-хелперів, а інтерферон, що виробляється Т-лімфоцитами, активує макрофаги.

Таким чином, більшість антигенів стають імуногенними тільки після переробки макрофагами і представлення лімфоцитам. При порушенні функції макрофагів антигени можуть виступати як толергени. Доведено, що сполуки, які здатні пригнічувати активність макрофагів і інших антигенпрезентуючих клітин, у переважній більшості викликають супресію імунної відповіді.

Імунна відповідь на Т-залежні антигени розпочинається із активації Т-індукторів. Після переробки Т-залежного антигена антигенпрезентуюча клітина здійснює його презентацію Т-індуктору, який відразу починає синтезувати і секретувати ІЛ-2 – універсальний стимул для активації ефекторних Т-лімфоцитів незалежно від їх типу. Дія ІЛ-2 спрямована на клітини-попередниці відповідних ефекторних лімфоцитів, результатом чого є запуск диференціювання і проліферації антигенстимульованого клону. Презентація антигена призводить до стимулювання індукторних клітин і експресії рецепторів для ІЛ-2, а продукція ІЛ-2 в свою чергу сприяє їх власній активації. Презентуючі антиген клітини взаємодіють з антигенспецифічними лімфоцитами через їх рецептори і стимулюють Т-індуктори і попередники ефекторних Т-лімфоцитів. Стимульовані індуктори починають синтезувати ІЛ-2, активуючи таким чином коперованих з ними через антигенпрезентуючі клітини антигенстимульованих попередників інших типів Т-клітин. Нестимульовані лімфоцити не мають на поверхні рецепторів до ІЛ-2 і не можуть бути ним активовані.

Оптимальна імунна відповідь реалізується лише при взаємодії Т- і В-клітин. В-лімфоцити розпізнають детермінанти гаптена, а Т-клітини – носія (шлепера). Вторинна імунна реакція на гаптен є можливою тільки у випадку, коли після контакту з антигеном утворюються клітини пам'яті, що специфічні як до гаптена, так і носія. В-клітини можуть також здійснювати презентацію антигена в комплексі з білками МНС класу II, а оскільки Т-лімфоцити (індуктори і хелпери) несуть аналогічні рецептори, то між В- і Т-лімфоцитами виникає достатньо міцний зв'язок.

Окрім означеного, на В-клітину діють розчинні медіатори Т-хелперів – антигенспецифічні і антигеннеспецифічні хелперні фактори. Антигеннеспецифічні хелперні фактори виробляються і секретуються стимульованими антигеном і активованими ІЛ-2 Т-лімфоцитами. Фактор діє безпосередньо на В-лімфоцити, які стимульовані антигеном. Його дія полегшується завдяки зформованому антигенному місточку між В- і Т-лімфоцитами. Активація В-лімфоцитів Т-клітинами може відбуватись за участю макрофагів, що здійснюють презентацію антигена. Антигенспецифічні В- і Т-лімфоцити через рецептори зв'язуються із одним і тим же макрофагом, що також забезпечує оптимальні умови для міжклітинної кооперації.

На третьому етапі формування імунної відповіді гуморального типу розпочинається біосинтез антитіл. Активуються структурні гени, які кодують синтез константного і варіабельного фрагментів імуноглобулінів. Перед транскрипцією відбувається об'єднання цих генів у єдину структуру ДНК, яка потім постачає мРНК для всього поліпептидного ланцюжка. Біосинтез імуноглобулінів відбувається у відповідності до структури мРНК на полісомах.

Утворені важкі (H) і легкі (L) ланцюжки Ig виділяються в ендоплазматичний ретикулум, де вони швидко сполучаються в комплексні молекули – мономери Ig. Останні транспортуються до мембрани клітини і вмонтовуються в неї. Клітини, що утворюють антитіла, синтезують також і J-ланцюжки. Які необхідні для синтезу полімерних Ig (IgM).

Первинна імунна відповідь перебігає наступним чином. В латентній фазі відмічають циркуляцію у крові лише вільних антигенів, а антитіла відсутні, оскільки всі утворені антитіла зв'язуються з антигенами, утворюючи імунні комплекси. Останні елімінуються організмом. Латентна фаза триває близько тижня. Наступною є log-фаза. Вона характеризується синтезом специфічних антитіл і збільшенням їхньої кількості у сироватці крові. При досягненні максимального рівня синтез антитіл може припинитись, а внаслідок катаболізму імуноглобулінів їх концентрація поступово зменшується.

Вторинна імунна відповідь виникає при повторному контакті організму з антигеном. Порівняно із первинною, вона характеризується коротшою латентною фазою, інтенсивним антитілоутворенням і більш високим максимальним рівнем антитіл. Їх високий рівень у крові можна виявити навіть через декілька місяців. Це обумовлено утворенням довгоживучих клітин пам'яті (малі лімфоцити), які залучаються до проліферації і синтезу антитіл при повторному контакті з антигеном.

2.4.3. Антитіла

Антитіла – це імуноглобуліни, що утворилися при взаємодії В-клітин з антигеном і специфічно з ним реагують. Антитіла синтезуються В-лімфоцитами і плазматичними клітинами. Молекули антитіл мають Y-подібну форму і складаються із двох важких (H) і двох легких (L) ланцюжків. Кожна молекула антитіла має два однакові антигензв'язуючі фрагменти Fab (fragment antigen binding) і один Fc-фрагмент (fragment crystallizable), за допомогою якого антитіла комплементарно зв'язуються з Fc-фрагментом клітинної мембрани.

Кінцеві ділянки легких і важких ланцюжків молекули імуноглобуліна достатньо варіабельні, а окремі області цих ланцюжків відрізняються особливо виразною різноманітністю (гіперваріабельність). Решта молекули відносно незмінна в плані структури (константна). Залежно від будови константних ділянок важких ланцюжків імуноглобуліни розподілено на класи (5 класів) і підвиди (8 підвидів). Саме константні ділянки важких ланцюжків суттєво відрізняються у різних класів імуноглобулінів, що в кінцевому результаті визначає особливі властивості кожного класу. Так, IgM активізують систему комплемента, IgE зв'язуються із специфічними рецепторами на поверхні тучних клітин і базофілів, ініціюючи цим вивільнення медіаторів і фізіологічно активних сполук, IgA секретуються у різні біосубстрати організму, забезпечуючи секреторний імунітет, IgD функціонують як мембранні рецептори для антигена, а IgG проявляють різноманітні види активності, в тому числі проникаючи через плаценту. Молекули кожного класу імуноглобулінів

можуть існувати у вигляді вільних антитіл і у вигляді фіксованих на поверхні клітинної мембрани молекул.

Для антитіл є властивими наступні біологічні властивості. *Специфічність* – здатність імуноглобулінів реагувати тільки з певним антигеном, що обумовлено наявністю антидетермінант (антиепітопів), які сполучаються з детермінантами (епітопами) антигена. *Валентність* – визначається кількістю антидетермінант у молекулі (частіше бівалентні, але зустрічаються 5- і 10-валентні). *Авідність* характеризує міцність зв'язку антигена із антитілом. Завдячуючи полівалентності антигена зв'язок між двома антигенами здійснюється за допомогою декількох антитіл. *Афінність* – характеризує міцність сполучення між детермінантами (епітопом) антигена і антидетермінантами (паратопом) антитіла. *Гетерогенність* – неоднорідність, яка обумовлена наявністю трьох видів антигенних детермінант: ізотипічні – характеризують належність імуноглобуліна до певного класу; алотипічні – відповідають алельним варіантам імуноглобуліна; ідіотипічні – відображають індивідуальні особливості імуноглобуліна.

Конструкція активних центрів антитіл, які реагують із одним і тим же антигеном може бути неоднаковою (навіть за умови, що антитіла відносяться до одного класу, субкласу і алотипу). Такі відмінності в структурі антитіл називають ідіотипом. До кожного ідіотипу можна отримати антитіла, активний центр яких називають антиідіотипом. Систему ідіотипів і антиідіотипів виявлено у структурі рецепторів Т- і В-лімфоцитів і антигенспецифічних розчинних факторів Т-клітин. Антиідіотипічні антитіла є важливим фактором регулювання імунної відповіді. Антиідіотипічні антитіла здатні викликати імунну відповідь, що аналогічна тій, яку викликають антигени. Антиідіотипічні антитіла можуть використовуватись для створення вакцин.

Велика кількість специфічностей антитіл залежить від особливостей будови варіабельних ділянок важких і легких ланцюжків. Число варіантів специфічності із урахуванням можливих комбінацій ланцюжків складає понад 10 млн.

Визначення антитіл різних класів у сироватці крові має важливе значення для діагностики інфекційних, аутоімунних захворювань, імунологічних ускладнень. Так, антитіла IgM появляються у гострому періоді інфекційних захворювань, а антитіла IgG утворюються у більш пізній період і тривалий час можуть бути присутніми в крові.

2.4.4. Імунна відповідь клітинного типу

Імунна відповідь клітинного типу базується на активності Т-лімфоцитів. Так, одні Т-лімфоцити (кілери) безпосередньо впливають на антиген, а інші – опосередковано, через лімфокіни. В індукції клітинної імунної відповіді важливу роль (як і у реакціях гуморального типу) відіграють макрофаги, які переробляють антиген, який потім активізує Т-лімфоцит. Макрофаги виділяють медіатори, що стимулюють проліферацію і диференціювання Т-клітин. Паралельно здійснюється диференціювання клітин в Т-ефектори або в Т-

клітини пам'яті. Імунізацію, яка викликана контактом з антигеном і пов'язану з розвитком імунної відповіді клітинного типу, прийнято називати сенсibiliзацією. Даний термін застосовують як для позначення самого процесу, так і для характеристики обумовленого ним стану.

При формуванні імунної відповіді клітинного типу в першу чергу активуються антигеном і макрофагальними факторами Т-індуктори, які починають синтезувати ІЛ-2, який стимулює інші Т-клітини. Імунні реакції клітинного типу відіграють важливу роль у багатьох захисних реакціях організму і при різних видах патології. Серед них виділяють: реакції клітинного типу на внутрішньоклітинні мікроорганізми; цитотоксичні ефекти лімфоцитів на клітини трансплантованих органів і тканин; руйнування пухлинних клітин активованими Т-лімфоцитами; реакції гіперчутливості сповільненого типу; реакції клітинного типу при аутоімунних захворюваннях.

Для імунних реакцій клітинного типу характерна загальна властивість: Т-лімфоцити у означених реакціях виступають в кінцевому результаті як клітини-ефектори, які на відміну від плазматичних клітин, можуть знову перетворюватись в малі лімфоцити – клітини пам'яті. Дія Т-лімфоцитів-ефекторів може базуватись на прямій цитотоксичності (кілери) і на активності виділяємих лімфокінів.

При сенсibiliзації відбуваються характерні зміни в лімфатичних вузлах. Уже через кілька днів після контакту з антигеном малі лімфоцити тимусзалежної зони перетворюються в імунобласти. Це крупні клітини з базофільною цитоплазмою. Ще через декілька днів із імунобластів утворюються малі лімфоцити, які заповнюють паракортикальну зону. Такі зміни є відображенням клональної проліферації антигенспецифічних лімфоцитів. Через лімфокіни до даного процесу залучаються і інші лімфоцити.

В цілому, регулювання імунної відповіді здійснюється на різних рівнях за участю антигенів, Т-хелперів, Т-супресорів, макрофагів, антигенпрезентуючих клітин, антитіл, імунних комплексів, Т-індукторів тощо. Немаловажну роль у регуляції імунної відповіді відіграють генетичні фактори – структурні гени, які кодують синтез поліпептидних ланцюжків імуноглобулінів. На імунні процеси регулюючий вплив має також і головний комплекс гістосумісності (МНС).

2.5. Імунітет і резистентність організму

Як вказувалось вище, імунна система забезпечує захист організму від речовин чи істот, які несуть на собі ознаки генетично чужерідної інформації: вірусів, бактерій, трансплантованих, пухлинних і старіючих клітин, високомолекулярних сполук тощо, тобто здійснює імунологічний нагляд. За походженням антиінфекційний імунітет класифікують на видовий (спадковий) і набутий. Суть видового (спадкового) імунітету полягає у біологічних особливостях даного виду тварин чи людини. Він неспецифічний, стійкий, успадковується. Видовий імунітет пов'язаний із особливостями генотипу конкретного виду. Набутий імунітет не є спадковим і набувається в процесі життєдіяльності. Він специфічний і у ряді випадків нестабільний. Набутий

іmunітет може бути штучним і природним, а кожний із них – активним і пасивним. Природний активний іmunітет утворюється після перенесених інфекцій і триває місяці, роки або все життя. Природний пасивний іmunітет виникає вслід за отриманням материнських антитіл через плаценту, з молозивом і зникає після періоду лактації. Штучний активний іmunітет формується під впливом вакцин на багато місяців або років. Штучний пасивний іmunітет обумовлюється введенням готових антитіл у ін'єкційних формах і його тривалість визначається періодом напіврозпаду введених γ -глобулінів.

За якістю набутий іmunітет ділять на антитоксичний, антимікробний, інфекційний (нестерильний), противірусний.

Місцевий іmunітет забезпечує захист покривів організму, які мають безпосередній контакт із зовнішнім середовищем: бронхо-легенева, сечостатева системи, травний тракт. Місцевий іmunітет є складовою частиною загального іmunітету. Він обумовлений нормальною мікрофлорою, лізоцимом, комплементом, макрофагами, секреторними імуноглобулінами і іншими факторами.

Природня резистентність не є імунологічною реакцією, але захищаючи організм проти хімічних, фізичних, біологічних (інфекційних і неінфекційних) патогенних агентів, вона є зв'язуючою ланкою із специфічними іmunними механізмами. Природня резистентність включає як мінімум два механізми – природню стійкість і тахіфілаксію. Природня стійкість забезпечується механічними і біологічними бар'єрами, нормальною мікрофлорою, ферментними системами клітин, білками здатними брати участь у захисних реакціях (інгібітор гіалуронідази, α -1-антитрипсін, ліпопротеїни, комплемент, лізоцим, пропердин, інтерферон, трансферин, церулоплазмін, С-реактивний білок тощо), фагоцитами, природними кілерами, відповідними реакціями нервової і ендокринної систем, механізмами згортання крові і фібринолізу і т.п.

Серед факторів природньої резистентності виділяють: природні бар'єри – шкіра, слизові; систему фагоцитів, включаючи нейтрофіли і макрофаги; систему комплемента; інтерферони; систему нормальних кілерів, які не мають антигенної специфічності; речовини, що беруть участь у процесах фібринолізу, згортання крові, реакціях запалення.

Велика роль у формуванні антиінфекційної несприйнятливості відіграє запалення, утворення у його вогнищі фізіологічно активних сполук, що мають бактерицидну дію. Тахіфілаксія індукується при парентеральному і пероральному введенні в організм чужерідної сироватки, сольових розчинів, низькомолекулярних нуклеїнових кислот, ендотоксинів тощо. Ключовим компонентом тахіфілаксії є макрофаги.

T- і B-лімфоцити відповідають за високоспецифічні клітинні і гуморальні реакції іmunної системи. Клітинні механізми забезпечують захист від внутрішньоклітинних збудників (віруси, бактерії, рикетсії), а також від простіших і пухлинних клітин. Гуморальні іmunні реакції спрямовані у першу чергу проти позаклітинних вірусів і бактерій. T-кілери насамперед уражають внутрішньоклітинних паразитів. Це відбувається тому, що на мембранах всіх ядромістких клітин є унікальні за своєю будовою білкові молекули – антигени

гістосумісності, які “зчитуються” Т-лімфоцитами. У випадку виявлення чужерідних маркерів запускається каскад захисних імунологічних реакцій, які спрямовані на знищення носіїв чужерідних білків. До проникнення в клітину-мішень, віруси звільняються від своєї білкової оболонки. Вона зв’язується із антигенами гістосумісності і залишається на поверхні інфікованої клітини. Розпізнавши вірусний білок, Т-лімфоцит вбиває клітину разом із вірусом, який у неї проник.

Складний каскад реакцій, що спричинюють антитілоутворення, полягає у процесинзі і презентації антигена макрофагами, у результаті чого відбувається ферментативна деградація молекули антигена і утворення комплексу вивільнених із нього антигенних детермінант з HLA-DR-антигеном (Ia-антиген), який презентується на поверхні клітини. Процесинг займає для складних молекул антигенів 30-60 хв, а менш складних – 20-30 хв. Процесингований антиген на мембрані макрофага далі взаємодіє із Ia-молекулою HLA II класу головного комплексу гістосумісності, молекула якого складається із поліпептидних нековалентно зв’язаних α - і β -ланцюжків, асоційованих із Ia-ланцюжком. Антиген взаємодіє із неспералізованою ділянкою, що утворена α - і β -ланцюжками, який у свою чергу зв’язаний із спіральними областями ланцюжків. Даним комплексом макрофаг взаємодіє із антиген-специфічним рецептором Т-хелпера, асоційованим із CD3 молекулою. Визначальною для такої взаємодії є ідентичність лімфоцитарних і макрофагальних Ia-молекул. У разі відсутності ідентичності повноцінна взаємодія не відбувається. Означена взаємодія і асоціація рецептора для IL-1 і CD4-молекули Т-хелпера з α - і β -IL-1 та HLA-DR-антигеном макрофага викликає активацію Т-хелперів, які виділяють медіатори, що активують В-клітини. Так можна представити спрощену схему, за якою вступивший в контакт з Т-хелпером макрофаг взаємодіє із В-лімфоцитом. Останній отримує від Т-хелперної клітини, яка активована макрофагом, два сигнали – специфічний і неспецифічний. У результаті малий В-лімфоцит диференціюється до плазмоцита, який здатний синтезувати специфічні імуноглобуліни. Всі три види клітин, які задіяні у означеному процесі, в свою чергу, знаходяться під контролем Т-супресорів, які здатні у будь-який момент зупинити імунну реакцію, якщо вона виходить із під контролю.

Значення імунної системи у організмі важко переоцінити. Структури імунної системи присутні практично у всіх органах і тканинах. У відповідь на потрапляння в організм чужерідних сполук чи їх накопичення імунна система відповідає негайно. Важливо пам’ятати, що найбільш високі морфологічні показники імунної системи відмічають у дитячому і підлітковому віці. У подальшому, по мірі дорослішання, а потім старіння людини, в її організмі кількість лімфоїдної тканини, імунних структур зменшується. Лімфоїдна тканина заміщається жировою і сполучною тканинами, виникає як би віковий дефіцит імунних структур. Не випадково старі люди частіше і важче хворіють.

До імунних органів, їх реакції на постійні зміни умов життя і довкілля завжди були прикуті погляди науковців і практичних лікарів. Багато вже є відомим. Однак, по мірі накопичення нових наукових фактів, гіпотез,

залишається більше питань, ніж відповідей. Імунна система потребує подальшого вивчення, існуючі теорії вимагають ретельно обґрунтованих підтверджень, перевірок, доказів, особливо в області вивчення міжклітинної взаємодії, формування імунодефіцитних станів, аутоімунних процесів. Нові наукові дані імунології дадуть змогу цілеспрямовано і обґрунтовано вирішувати проблеми практичної медицини.

Розділ 3

АНТИГЕННА СТРУКТУРА КЛІТИН КРОВІ ЛЮДИНИ. СЕРОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Значний поліморфізм антигенної структури крові людини, чисельні особливості і функціонально-фізіологічні відмінності її антигенів, значно розширюють наші уявлення про еволюцію організму людини і дозволяють прослідкувати складні взаємозв'язки генетики антигенних систем крові з тією чи іншою генетичною патологією, відкривають нові горизонти пізнання інтимних механізмів функціонування систем організму людини. З розширенням наших уявлень про імуногенетику і серологію груп крові весь час і змінюється саме поняття "група крові". На сьогодні визначення "група крові" охоплює всі без винятку генетично спадкові фактори, що можуть бути виявлені в крові людини. Всі групові фактори крові об'єднують за певними ознаками: локалізації – клітинні і такі, що містяться в плазмі; біологічній функції, біохімічних характеристиках, способах виявлення тощо. Слід відмітити, що на сьогодні не всі фактори крові, що генетично успадковуються, вдається чітко об'єднати у певні антигенні системи. Спрощено генетично спадкові фактори, що виявляються в крові людини можна згрупувати (табл. 1).

Таблиця 1

Антигенна структура крові людини**I. Клітинні фактори:**

- 1.1. еритроцитарні (виявляються реакцією антиген-антитіло)
- 1.2. лейкоцитарні
- 1.3. тромбоцитарні
- 1.4. ферментні фактори клітин
- 1.5. гемоглобіни

II. Фактори плазми крові:

- 2.1. система гаптоглобіна
- 2.2. системи імуноглобулінів
- 2.3. системи Gc
- 2.4. ліпопротеїна
- 2.5. трансферину
- 2.6. альбуміну
- 2.7. системи Pi
- 2.8. системи комплементу
- 2.9. маловивчені фактори

Дані щодо локалізації генних локусів групових антигенних систем крові на хромосомах представлені в табл. 2.

Таблиця 2

Локалізація генних локусів групових систем крові на хромосомах

Хромосома	Генні локуси	Хромосома	Генні локуси
Хромосома 1	6-ФГД Резус α-фукоза Сцианна Rd (Радин) UMPK Даффи Пептидаза С	Хромосома 7 Хромосома 8 Хромосома 9 Хромосома 11	DIA ₂ (NADPH) GR (GSR) GALT ABO AK ₁ Or ЛДГ А
Хромосома 2	КЭФ (АСР1) МДГ Km Kidd	Хромосома 12 Хромосома 13	ЛДГ В Пептидаза В Ec D
Хромосома 3	Tf	Хромосома 14	Gm Am Pi
Хромосома 4	PLG MNS _s Gc Альбумін ФГМ ₂	Хромосома 16 Хромосома 18	PGP Hr _a GPT Пептидаза А
Хромосома 6	MCH C2 C4 Vf GLO ФГМ ₃	Хромосома 20 Хромосома 21 Хромосома 22	ADA SAHH SOD DIA ₁ (NADH)
Хромосома 19	Пептидаза D PGI C3 Apo E Le Se Lu Hh	Х-хромосома	Xg Xk Г-6-ФД

Розглядаючи групові антигенні системи крові необхідно дотримуватись хронології їх відкриття, а обсяг інформації про них ми будемо подавати керуючись їх значимістю.

Антигени клітин крові є вуглеводно-білковими комплексами, що входять до складного структурного архітектонічного ансамблю оболонки клітини. Схематично структуру антигену можна представити як компонент цитолемі

клітини, що за будовою складається із двох компонентів – гаптена і шлепера (носія). Гаптен розміщується по відношенню вмісту клітини у верхніх (зовнішніх) прошарках клітинної оболонки і є полісахаридним комплексом. Від будови гаптену залежить серологічна активність (антигенна специфічність) антигену. На поверхні гаптену розміщуються антигенні детермінанти (епітопи), що представлені молекулами вуглеводів. Поліморфізм антигенів всередині однієї антигенної системи залежить від можливих варіантів комбінації епітопів у гаптені. До епітопів на поверхні гаптена приєднуються відповідні однойменні специфічні антитіла. Носій (шлепер), що представлений білком, розміщується у внутрішніх прошарках клітинної оболонки, що обумовлює таку специфічну властивість антигена як імуногенність.

Імуногенність - це здатність антигенів індукувати синтез однойменних антитіл при потраплянні в організм індивідууму, який не має таких антигенів.

Групові антитіла крові (аглютиніни) є імуноглобулінами класів М та G, які на відміну від інших імуноглобулінів, специфічно взаємодіють тільки з груповими антигенами крові. Кожний відомий антиген виявляється за допомогою одноіменних антитіл (анти-А, анти-В, анти-D тощо). Групові аглютиніни класу IgG мають молекулярну масу 140-160 тисяч дальтон. Структура молекули антитіла складається із двох важких (H) та двох легких ланцюгів (L). Важкі H-ланцюги представлені більше ніж 400 амінокислотами, а легкі L-ланцюги - понад 200 амінокислотами. Між собою H і L ланцюги зв'язані сульфідним зв'язками. Частина молекули антитіла, що представлена кінцевими ланками L- та H-ланцюгів є активним центром антитіла. Означений фрагмент ще називають антидетермінантою або паратопом, за допомогою якого антитіло з'єднується із епітопами (антигенними детермінантами) групових антигенів крові. Кожне антитіло такого типу відповідно має два паратопа (активні центри), тобто є двохвалентним – має здатність сполучатися із двома відповідними антигенними детермінантами, що розміщені на двох однотипних клітинах. У шарнірній частині H-ланцюг є рухливим, тому паратопа можуть бути розміщені на різних відстанях один від одного (ближче або далі), що забезпечує оптимальні умови взаємодії із відповідними клітинами і розміщеними на їхній поверхні епітопами.

Групові антитіла класу IgM складаються з 5 фрагментів, кожен із яких має структуру, що подібна до будови антитіл класу IgG. Відмінність полягає у різній структурі важких H-ланцюгів. Молекулярна маса групових антитіл класу IgM сягає до 1 млн. дальтон. Відповідно до структури, кожне антитіло класу IgM має 10 активних центрів, але дійсно спроможні вступати у сполучення з антигенами – п'ять. Механізм взаємодії антитіл з відповідними антигенами досить складний. Стандартно виділяють дві фази такої взаємодії: сполучення та проявлення.

У першу фазу перебігу реакції антиген-антитіло паратопа антитіла підходять до епітопів на поверхні клітини і фіксується на них. Далі настає друга фаза - проявлення, під час якої відбувається склеювання (аглютинація) клітин або їх руйнування (цитоліз). Процес аглютинації полягає у тому, що тисячі аглютинінів (антитіл), що одним паратопом фіксуються на клітині, а іншим

(вільним) активним центром - взаємодіють із епітопами сусідніх клітин, таким чином відбувається їх склеювання до купи. Процес цитолізу є складнішим, і спрощено його перебіг можна представити наступним чином. Після фіксування аглютининів на поверхні відповідних клітин до Fc-фрагмента приєднується білок із сироватки крові – комплемент, який руйнує клітинну оболонку. Спостерігається руйнування (лізис) клітини, наприклад, гемоліз еритроцита. Для повноти уявлення про цей процес скажемо, що гемоліз еритроциту відбувається тоді, коли на його поверхні фіксується не менше як 30 комплексів антитіло-комплемент. У тих випадках, коли антитіла сполучаються з антигенами білків крові - утворюються великі шматки білкових конгломератів (преципітати), а реакція, відповідно, називається - преципітації. Слід підкреслити, що для перебігу другої фази реакції взаємодії антиген-антитіло важливе значення мають температура, іонна сила, рН середовища, наявність активного комплекменту, певне співвідношення кількості антитіл і відповідних клітин тощо.

Залежно від взаємодії з видом клітин антитіла можна поділити на протиеритроцитарні, протилейкоцитарні, протитромбоцитарні, протибілкові. За механізмом дії – на аглютиніни, цитолізени та преципітини. Залежно від походження антитіл виділяють - природні (уроджені) – індивідуум має їх протягом усього життя, та набуті (іmunні) – з'являються внаслідок іmunізації чужими груповими антигенами крові. За напрямленістю дії антитіла можна поділити на: аутоантитіла, що спрямовані проти власних групових антигенів крові і антитіла проти групових антигенів, які відсутні у даної людини. Залежно від оптимального значення температури при якій спостерігають найбільшу активність антитіл, їх розподіляють на холододові - найактивніші за температури 20-25 °С і теплові – проявляють максимум активності при 37 °С і вище. І, нарешті, виділяють антитіла, що аглютинують клітини крові як в іонному (сольовому) так і колоїдному середовищах - повні антитіла, і їм в протывагу - антитіла, що аглютинують клітини крові тільки в колоїдному середовищі - неповні антитіла. Повні антитіла відносяться до антитіл класу IgM, а неповні – до класу IgG. Для виявлення групових антитіл застосовують стандартні еритроцити. Найпоширенішими серологічними реакціями виявлення групових антитіл є реакції: аглютинації в іонному (соляному) середовищі, аглютинації в колоїдному середовищі (реакція конглотинації), а також проба із антиглобуліновою сироваткою (проба Кумбса). Найчутливішою із них є проба Кумбса. Оскільки для аглютинації клітин крові при проведенні цієї реакції достатньо, щоб на кожній із них було зафіксовано від 300 молекул антитіл, в протывагу реакціям в іонному чи колоїдному середовищі, де потрібно щоб було сполучено декілька тисяч таких молекул на клітині крові.

Групові антигени та антитіла крові мають непересічне значення в фізіології і патології людини. Доведено вплив антигенних маркерів на плодовитість сімей, перебіг вагітності, здоров'я новонароджених, схильність до тих чи інших захворювань та їх перебіг, у виникненні яких не останню роль відіграє спадковість. Групові антигени крові є не тільки структурними

компонентами клітинної оболонки, а й формують рецепторний апарат клітин крові, визначають їх функціональні властивості. Надзвичайно важливе значення має визначення груп крові у трансфузіологічній практиці.

3.1. Антигенна структура еритроцитів крові. Сучасна номенклатура антигенів еритроцитів

Антигени, що формують еритроцитарні групи крові є складними сполуками, що “вмонтовані” до структури мембрани еритроцитів. Антигени на поверхні еритроцитів є складовою імунної системи. Вони мають здатність викликати продукцію відповідних антитіл у індивідумів, які не мають даного антигена (за умови адекватної імунологічної експозиції). До відсутніх у реципієнта антигенів можуть вироблятися антитіла і у подальшому стати причиною гемолітичних посттрансфузійних реакцій. У вагітних може виникнути імунна відповідь на чужеродні антигени еритроцитів плода і викликати їх внутрішньоутробне руйнування. Поява антигенів на еритроцитах, як і інших клітинах, є генетично детермінованою.

Накопичені за останні десятиріччя дані щодо антигенної структури еритроцитів вимагали розроблення єдиної номенклатури еритроцитарних антигенів. У 1980 році на конгресі у Монреалі Міжнародне товариство переливання крові (ISBT) запропонувало організувати групу з провідних спеціалістів в області імуногематології та трансфузіології для розробки сучасної номенклатури та класифікації антигенів еритроцитів, що ставило за мету удосконалення існуючої термінології еритроцитарних груп крові. В 1998 році було оприлюднено нову номенклатуру та класифікацію антигенів еритроцитів. Згідно її всі антигени еритроцитів належать до однієї із трьох категорій: система антигенів еритроцитів; колекція антигенів еритроцитів; серія антигенів еритроцитів. На теперішній час відомо близько 300 антигенів еритроцитів, визначено найімуногенніші серед них, охарактеризовані їх біохімічні властивості і клоновані кодуючі гени. Якщо антигени успадковуються автономно від решти, але всередині серії антигенів їх успадкування взаємопов'язано, таку групу антигенів називають антигенною системою. Відповідно до розробленої номенклатури, системам антигенів еритроцитів привласнені тризначні номери від 001 і далі. Розташування систем антигенів еритроцитів здійснено у хронологічному порядку їх відкриття. І якщо за станом на 1998 рік, згідно номенклатури еритроцитарних антигенів налічували 23 системи антигенів еритроцитів, то на сьогодні після внесених змін їх нараховують 29, частину із них наводимо (табл.3).

Номенклатура систем антигенів еритроцитів

НАЗВА СИСТЕМИ	СИМВОЛ ISTB	НОМЕР	КІЛЬКІСТЬ АНТИГЕНІВ
AB0	AB0	001	21
MNS MN	MNS	002	38
P	P1	003	3
Rh	RH	004	51
Lutheran	LU	005	20
Kell	KEL	006	24
Lewis	LE	007	5
Duffy	FY	008	6
Kidd	JK	009	3
Diego	DI	010	4
Cartwright	YT	011	2
Xg	XG	012	1
Scianna	SC	013	3
Dombrock	DO	014	5
Colton	CO	015	3
Landsteiner-Wiener	LW	016	3
Chido-Rodgers	CH/RG	017	9
Hh	H	018	1
Kx	KX	019	1
Gerbich	GE	020	7
Cromer	CROM	021	10
Knops	KN	022	5
Indian	IN	023	2
Ok	OK	024	2
Raph	MER2	025	1
JMN	JMN	026	1

Надалі по мірі надходження результатів нових наукових досліджень до номенклатури еритроцитарних антигенів продовжують вноситися зміни.

Літери алфавіту використані для позначення антигенів системи AB0 та резус. Частина антигенів і систем названі на честь імені першого власника антитіл до антигена: Даффі, Льюїс, Сціанна, Домброк, Колтон, Гербіх, Кромер, Кнопс, Дієго (все це імена людей, у яких вперше було виявлено антитіла до відповідних антигенів). Деякі назви систем походять від скороченого імені, наприклад, Келл від Kelleher. Деякі системи мають назву у вигляді символів, а для позначення системи Даффі (Fu), взято замість початкових, дві останні літери імені Duffy, щоб не виникло непорозумінь із вже існуючим на той час в системі резус сполученням D^u. Jk – ініціали дитини (John Kidd), яка народилася із гемолітичною хворобою, що була викликана невідомим раніше антигеном

Кідд на її еритроцитах. Ряд систем антигенів мають назву географічної місцевості, де вперше були описані, наприклад, Індіан, Бомбей. Назва антигену S системи MNSs походить від першої літери слова Sidney. Деякі групи крові названі на честь відкривших їх вчених, наприклад, Ландштейнер-Вінер. Окрім означеного, всередині системи усі антигени мають відповідні тризначні ідентифікаційні номери. Останні введені для автоматизованого зчитування.

Номенклатурою, що розроблена ISTB пропонується цифрове позначення антигенів, яке не відмінює існуючого буквового позначення. Наприклад, антиген D має позначення 004005, або RH001, або RH1. Згідно нової номенклатури антигенів, антиген H не відноситься більше до антигенної системи ABO. Він виділений в окрему антигенну систему антигенів еритроцитів 018H. Антигени системи Auberger об'єднані з системою антигенів еритроцитів Lutheran. Антигени системи Wright віднесені до системи Diego. Система антигенів P на сьогодні представлена одним антигеном P1. Такі зміни в номенклатурі відбулися в результаті розширення уявлень про гени, які кодують продукцію антигенів.

Колекції антигенів еритроцитів, об'єднують антигени, які біохімічно і серологічно зв'язані на рівні фенотипу, але не відповідають вимогам, які висуваються до систем антигенів у відношенні спільності генів, які кодують їх продукцію. Колекції, як і системи антигенів, позначають буквами або номерами від 205 до 210. Дані наведено в табл. 4.

Таблиця 4

Колекції еритроцитарних антигенів

Номер	Колекція		Антигени	
	Назва	Символ	Номер	Символ
205	Cost	COST	205001	Cs ^a
			205002	Cs ^b
207	Ii	I	207001	I
			207002	i
208	Er	ER	208001	Er ^a
			208002	Er ^b
209		CLOB	209001	P
			209002	p ^k
			209003	Luke
210			210001	Le ^c
			210002	Le ^d

Серії антигенів включають антигени, для яких на сьогодні не встановлені гени, що їх кодують. Серії антигенів представлені двома групами, що включають антигени з низькою та високою частотою, що виявляються у популяції. Серія антигенів, що зустрічаються рідко (менше 5%), мають номери від 701 (табл. 5). Серія антигенів, які зустрічаються в популяції часто (понад 95%), мають нумерацію від 901 (табл.6).

Таблиця 5

Серії антигенів еритроцитів, що зустрічаються рідко

Номер антигена	позначення	Номер антигена	позначення	Номер антигена	позначення
701002	By	701021	Je ^a	701045	Kg
701003	Chr ^a	701022	Hey	701046	BOW
701004	Sw ^a	701026	Fr ^a	701047	JONES
701005	Bi	701028	Li ^a	701049	HJK
701006	Bx ^a	701037	NELD	701050	HOFM
701014	Jn ^a	701039	Milne	701051	SARA
701015	Rd	701040	RASM	701052	LOCR
701017	To ^a	701041	SWI	701053	RET
701018	Pta	701043	OI ^a	701054	SIIN
701019	Re ^a	701044	JFV		

Таблиця 6

Серії антигенів еритроцитів, що зустрічаються часто

Номер антигена	позначення	Номер антигена	позначення	Номер антигена	позначення
901001	Vel	901007	JMH	901013	Duclos
901002	Lan	901008	Emm	901014	PEL
901003	At ^a	901009	AnWj	901015	ABTI
901005	Jr ^a	901012	Sd ^a		

3.2. Антигени системи АВО

Ген, що відповідає за синтез антигенів системи АВО розміщується на ділянці плеча q34 аутосомальної хромосоми 9. Згідно з загально визнаною теорією F. Bernstein, гени, що відповідають за реалізацію групових факторів на еритроцитах крові людини, розміщені в генних локусах двох гомологічних хромосом. За номенклатурою F. Bernstein, ген, від якого залежить поява ознаки А, позначений геном р. Інший ген, відповідальний за появу ознаки В, позначений геном q. Крім цих двох є рецесивний ген, його позначають як ген r. При гомозиготному рецесивному генотипі rr у індивідууму реалізується ознака - група крові О. Оскільки гени р та q кодомінанті між собою та домінують над рецесивним геном r, то генотипи pr та qr формують фенотипи - групи крові А та В. Генотип rq формує групу крові АВ.

Трьохаленна теорія F. Bernstein хоч і дає уявлення про характер наслідування ознак груп крові системи антигенів АВО, але не повністю відповідає теперішнім уявленням про поліморфізм цієї ізосерологічної системи. З відкриттям підгруп А генетична поліморфність системи АВО розширилась. З

відкриттям підгруп А трьохаленьна теорія наслідування груп крові системи АВО перетворилась в чотирохаленьну теорію.

Характер успадкування підгруп A_1 і A_2 генетично доведено (1930), причому ознака A_1 домінує над ознакою О, а ознаки A_1 і В та A_2 і В є між собою кодомінантними. Останнім часом виявлено і ряд інших ознак підгрупи А, а також В. Встановлено неоднорідність антигенів групи О. Антигени системи АВО є ди-, три-, і тетрасахаридними структурами, що знаходяться на кінцях поліпептидних ланцюгів, що зв'язані з мембраною еритроцитів за допомогою глікофінголіпідів і трансмембранних глікозилірованих білків, таких як Band 3, глікофорини, поліглікозилкераміди. Антигени системи АВО присутні не тільки на поверхні еритроцитів, а і в плазмі, секретах, поверхні епітеліальних і ендотеліальних клітин. Синтез антигенів АВО здійснюється за допомогою ферментів – глікозилтрансфераз, що приєднують сахаридний залишок до ланцюжка-попередника. Глікозилтрансферази, як правило, є строго специфічними, тобто відповідають за перенесення певного вуглевода. Наприклад, галактозилтрансфераза переносить галактозу, фукозилтрансфераза – фукозу.

Для визначення груп крові системи АВО в основному використовують сироватку крові людей, причому для виявлення фактора А беруть сироватку людей групи В, і навпаки. Ізогемаглютиніни не є гомогенними антитілами, а уявляють собою суміш гетерогенних антитіл. α -антитіла (анти-А) груп крові В та О складаються з двох основних фракцій - α_1 (анти- A_1), що реагують з еритроцитами A_1 і A_2 та всіх інших підгруп А. В сироватці групи крові О наряду з α -антитілами (анти-А) і β -антитілами (анти-В) є специфічні антитіла, що одночасно реагують з аглютиногенами як А так і В. Такі антитіла позначають анти-С, оскільки, на думку ряду дослідників, на еритроцитах груп крові А і В може бути додатковий антиген С. Розглянемо антигенну палітру систем еритроцитарних антигенів АВО.

Група крові O(I) зустрічається з частотою 50-55% серед населення Азії, 60-65% серед населення Центральної і Східної Європи, 65-70% серед населення Південної та Західної Європи, 90-95% серед населення Центральної та Південної Америки. Серед населення України, за даними Г.Н. Драник, Г.М. Дизик (1990), група крові O(I) зустрічається в 32,4-33,8%, а серед мешканців м. Києва 31,5%, Донецька 38%. В середині групи крові O виявлені підгрупи O_1 та O_2 . Ген O_1 є доміантним відносно гену O_2 . Серологічним реагентом, що дозволяє диференціювати підгрупи крові O_1 та O_2 є спеціальна імунна сироватка, яку отримують шляхом імунізації курей екстрактом із нирок морських свинок. За попередніми даними, частота варіанту антигену O_1^{variant} (O_1^v) становить 95%, а антигену O_2^{variant} (O_2^v) - 5% серед осіб, які мають групу крові O(I).

Група крові A(II). Таку групу крові мають 5% мешканців Центральної та Південної Америки, 25-30% - Центральної Європи, 40-45% - Північної Європи та Австралії. Серед населення України така група крові A(II) зустрічається у 37,6-40%, а мешканців Києва - 38,01%, Донецька - 37,9%.

Антиген A, яким позначають цю групу є надзвичайно неоднорідним. Серед осіб, що мають групу крові А(II), найчастіше зустрічається *антиген A₁* (до 88%). Цей антиген має найбільшу антигенну силу, що проявляється властивістю виразно аглютинуватися сироваткою людей з групами крові 0 та В.

Антиген A₂ мають до 12% осіб з групою крові А(II). Еритроцити, що містять антиген A₂ чітко аглютинуються сироватками анти-0 та анти-Н (еритроцити A₁ менш чітко реагують на ці сироватки). Сироватка людей з групою крові A₂ в 1-2%, та людей з групою крові A₂В містить антитіла анти-A₁. Це може спричинити помилку у визначенні групи крові A₂В (хибне визначення як В(III)) та A₂0 (хибне визначення як 0(I)). *Антиген A₃* зустрічається з частотою 1:1000-1:10000 серед осіб з групою крові А(I). По силі прояву властивостей відповідає антигену A₂ в групі крові осіб з фенотипом A₂В. Особливість аглютинації еритроцитів крові групи A₃ при аглютинації з сироваткою анти-А полягає в тому, що поряд із слабо аглютинованими еритроцитами спостерігається їх значна кількість не аглютинованих. Сироватка крові осіб з групою крові A₃ не містить антитіл анти-А, але може містити антитіла анти A₁. Слід мимохідь зазначити, що і в слині осіб з групою крові A₃, що є видільниками, міститься значно менше субстанції А порівняно із вмістом в слині видільників груп A₁ та A₂. Антиген A₃ відкрив V.Friedenreich в 1936 році. *Антиген A₃^w* має меншу силу виразності властивостей в порівнянні з A₃. Сироватка крові осіб з групою крові A₃^w не завжди містить антитіла α-1 (анти-A₁). Група крові A₃^w ідентифікується тільки імунними сироватками анти-А.

Антиген A₄. Еритроцити групи крові A₄ слабо аглютинуються імунною сироваткою анти-А. Наводять дані про те, що сила виразності властивостей антигену A₄ менше у вісім (8) разів порівняно з антигеном A₂. Є дані що серед жителів Англії антиген A₄ зустрічається з частотою 1:30000.

Антиген A₅ є варіантом антигену А. Сироватка осіб з підгрупою A₅ містить звичайні антитіла анти-В та слабкі анти-А. Існує думка про те, що останні антитіла є холододивними. Антиген А у слині осіб із групою крові A₅ виявляють з великими труднощами, причому розпізнати видільників і невидільників неможливо.

Антиген A_x. Існує припущення, що антиген A_x тотожний антигенам A₄, A₅, A₂ та A₀. Еритроцити з групою A_x слабо абсорбуються імунною сироваткою анти-А і зовсім не абсорбуються ізосироваткою α групи В. Слина осіб з підгрупою A_x, що є видільниками, містить групову субстанцію А.

Антиген A₀. Антигени A₀ реагують з сироватками групи крові О(I), але слабше, ніж еритроцити групи A₄. Еритроцити групи A₀ не взаємодіють навіть з високоактивними ізогемаглютинуючими сироватками α групи В. Слина осіб з фенотипом A₀ містить змінену субстанцію А, яка виявляється тільки реакцією затримки аглютинації.

Антиген A_m. Еритроцити крові групи A_m подібні до еритроцитів крові групи 0(I), але в слині осіб, які мають фенотип A_m знаходять субстанцію А. Є думка стосовно того, що поява антигена A_m зумовлена наявністю відповідного супресорного рецесивного алеля в генному локусі системи АВ0.

Антиген A_{end} . Еритроцити крові цього типу абсорбують сироватку анти-А, але в меншій мірі, ніж еритроцити крові фенотипів A_2B , A_3 та A_m . Еритроцити A_{end} добре аглютинуються фітоаглютиніном із насіння *Lex. Engroraens*. Слина осіб з підгрупою A_{end} містить субстанцію Н, та не містить субстанцію А та В.

Антиген A_{finn} . Цей антиген вперше було описано у 1973 році, як різновидність дуже слабких антигенів А, найчастіше зустрічається серед жителів Фінляндії. За властивостями антиген A_{finn} дуже подібний до A_{end} і їхнє розмежування вкрай маломожливе.

Антиген A_r . Йому не характерні для антигенів групи А властивості. Антиген A_r відносять до так званих парціальних антигенів. Наявність такого антигена A_r реалізується від дії супресорного гена локусу системи АВ0. Успадковується антиген A_r рецесивне.

Антиген A_{bantu} . За властивостями антиген A_{bantu} наближається до антигену A_3 . У сироватці крові осіб з фенотипом A_{bantu} наявні антитіла анти- A_1 , а в слині - відсутня субстанція А, а наявна - субстанція Н. Близько 4% африканців племені банту, які мають групу крові А(II) мають антиген A_{bantu} .

Антиген A_{lac} . Еритроцити групи A_{lac} абсорбуються фітогемаглютиніном анти-Адв із насіння *Dolichos biflorus* і виявляються тільки в реакції абсорбції-елюції. В сироватці крові осіб з фенотипом A_{lac} присутні антитіла анти- A_1 , анти- A_2 , анти-В.

Антиген A_{int} . Еритроцити крові даного фенотипу реагують із специфічними антитілами анти- A_1 значно слабше, ніж еритроцити A_1 . Особливістю цього антигена є властивість за різних часових відрізків змінювати силу своїх антигенних властивостей. Іноді сила проявлення означених антигенних властивостей A_{int} досягає такої, що він може помилково ідентифікуватись як антиген A_1 , а в подальшому у цієї ж особи антигенна виразність властивостей слабшає і без труднощів він визначається як A_{int} . Антиген A_{int} частіше зустрічається у негроїдних популяціях.

Антигени крові групи В(III). Серед населення України фенотип В у групах крові зустрічається з частотою 18-22%, зокрема, серед мешканців міста Києва у 19%, а Донецька - у 15,4%. Група крові В(III) серед жителів Центральної і Західної Європи зустрічається у 5-10%, у Східній Європі - 10-20%, у 5% населення Америки та 20-30% населення Азії. Антигени групи крові В не настільки поліморфні як антигени А. Сучасні досягнення в галузі імуногенетики та біотехнологій дозволили встановити, що у деяких осіб із групою крові В, для еритроцитів є властивою низька здатність до аглютинації під дією сироватки анти-В. Це дозволило встановити підгрупи антигена В. Так, для еритроцитів із *антигеном B_2* характерні низькі аглютинаційні властивості із сироваткою анти-В, порівняно із антигеном В. Ще більше знижені такі властивості у *антигена B_3* . У осіб із слабо вираженими властивостями антигена В у сироватці крові можуть бути наявні антитіла анти-В, а в слині таких осіб - групова субстанція В. При відсутності в сироватці антитіл анти-В у осіб із "слабкими" підгрупами антигена В можливе хибне тлумачення результатів визначення групи крові як 0(I). Існує підгрупа крові *B_m* . У осіб з такою підгрупою крові не удається встановити наявність антигена В в

еритроцитах, а виявляють субстанцію В у слині, волоссі та клітинах слизової оболонки ротової порожнини. У сироватці крові осіб із фенотипом B_m відсутні також і антитіла анти-А.

Вивчення поширеності груп крові у людській популяції показало, що група крові з фенотипом АВ(IV) зустрічається в Україні у 7,5-8,8%, у місті Києві його мають 11,3% мешканців, а у Донецьку - 14,2%. Значний поліморфізм антигенів підгрупи крові А, та неоднорідність вираженості властивостей антигенів підгруп крові В, створює різноманітну палітру антигенів, що формують фенотип АВ(IV). Залежно від вираженості аглютинаційної сили антигену А чи В можливі помилкові визначення груп крові, відповідно як А(II) чи В(III).

3.2.1. Химеризм близнят

Ті, кому часто доводилось визначати групи крові, могли спостерігати явище, коли у одної особи водночас визначається начебто дві групи крові. Встановити справжню групу крові у таких випадках дуже важко і існує велика вірогідність помилкового тлумачення отриманих результатів. Таке явище може спостерігатися у гетеро-(дизиготних) близнят. Воно пояснюється тим, що під час внутрішньоутробного розвитку можливий перенос еритроцитів та клітин еритроїдних попередниць від одного плода до іншого, і, навпаки, через анастомози в плаценті. Надалі протягом всього життя у таких осіб можуть утворюватись еритроцити власної групи крові і еритроцити групи крові свого гетерозиготного близнюка. Явище, що спостерігається у таких випадках при визначенні групи крові, називають химеризмом близнят. При мікроскопічному дослідженні аглютинації еритроцитів при цьому явищі виявляють у зависі еритроцитів поряд з добре аглютинованими клітинами, що утворюють конгломерати, і велику кількість еритроцитів, що не зліпилися. При химеризмі близнят справжня генетично детермінована група крові часто не може бути визначена за еритроцитами. У таких випадках додатково визначають склад слини даного індивіда на предмет наявності субстанцій антигенів системи АВ0. Слід нагадати що химеризм груп крові може спостерігатися при справжньому (verus) XX/XY-гермафродитизмі.

3.2.2. Феномен цис-AB

Цей феномен є рідкісним. Його поява обумовлена нерівномірним кросинговером між хромосомами, що несуть генетичну інформацію про антигени А та В, внаслідок чого відбувається часткове подвоєння генів на одній хромосомі. Вперше феномен цис-AB було описано в 1964 році польськими дослідниками, при обстеженні сімейної пари, в якій один із батьків мав групу крові A_2B , а інший – групу крові 0. Двоє дітей від них мали групу крові A_2B , а їх генотип був надзвичайно незвичним – $A_2B/0$.

Патофізіологічна роль антигенів А і В, полягає не тільки у виникненні посттрансфузіологічних реакцій та ускладнень, гемолітичної хвороби новонароджених, а і у виникненні ряду захворювань. Як вже вказувалось, антигени А і В експресуються не тільки на поверхні еритроцитів, а і на поверхні ендодермальних епітеліальних клітин, що вистилають дихальні шляхи, травний тракт, сечостатеві шляхи. При раку шлунка іноді виявляли зменшення експресії антигенів А і В. Було виявлено кореляцію між зменшенням експресії антигенів А і В та ступенем злоякісності і метастазуванням пухлин кишечника, легень, шийки матки, карциноми сечового міхура, раку гортані. Аналогічні результати отримано *in vitro* при порівнянні клітинних клонів, що походять із А-позитивних клітин карциноми прямої кишки: клон А(-), що втратив глікозилтрансферазу А, мав більшу проліферативну активність, порівняно із клоном А(+). Поки що не встановлено, як додавання N-галактозаміну чи галактози може впливати на проліферацію чи метастазування пухлин. Однією із найвірогідніших причин онкогенезу в слизових вважають зміни процесів глікозилування рецептора інтегріна. Механізм подавлення експресії антигенів А і В поки що незрозумілий, але порівняння клонів клітин А(+) та А(-) показало, що в А(-) клітинах підвищений ступінь метилування промоторної ділянки гена А, що спричинює пригнічення його транскрипції.

Добре відомим є і протилежне явище – експресія А-трансферази і поява антигена А в клітинах пухлин шлунка, кишечника, яєчника, слинних залоз, у хворих, які мали групу крові 0(I). Вважають, що єдиним вірогідним механізмом перетворення неактивної субстанції в А-трансферазу може бути елімінація при епслайсинзі екзону 6, який містить делецію, що призводить до відновлення рамки зчитування і синтезу укороченого, але активного ферменту. Люди з наявністю чи відсутністю антигенів А, В не відрізняються ні за фізіологічними властивостями, ні за тривалістю життя. Але існує точка зору, що нейтральна ознака, що не проявляє себе у стабільних умовах, може виявитися важливою і вирішальною для виживання популяції при несприятливому впливі зовнішніх факторів. Відомо, що чисельні бактерії і віруси мають антигенні структури, які ідентичні або подібні до антигенів А, В, Н та інших людини. Теоретично, індивідууми, що відрізняються по групах крові, перш за все АВ0 системи, можуть бути по-різному сприйнятливі до збудників захворювань.

3.3. Методи визначення груп крові за системою еритроцитарних антигенів АВ0

Система антигенів групи крові АВ0 представлена близько двадцятьма різними антигенами, які відрізняються за своєю структурою та аглютинаційними властивостями. Ізосерологічні дослідження, на яких базується визначення групової належності за системою антигенів АВ0, визначають два групових аглютиногени - А і В та два відповідних аглютиніни у плазмі - альфа (Анти-А) і бета (Анти-В). Різні поєднання цих антигенів і

антитіл утворюють чотири основні фенотипи груп крові за системою антигенів АВО: група 0(I) - обидва антигени відсутні; група А(II) - на еритроцитах є присутнім тільки антиген А; група В(III) - на еритроцитах є присутнім тільки антиген В; група АВ (IV) - на еритроцитах присутні антигени А і В. Унікальність системи АВО полягає в тому, що в плазмі у неімунізованих людей є природні антитіла до відсутнього на еритроцитах антигену: у осіб групи О(I) - антитіла до А і В; у осіб групи А(II) - анти-В-антитіла; у осіб групи В(III) - анти-А-антитіла; у осіб групи АВ(IV) немає антитіл до антигенів системи АВО.

У тексті, в подальшому, анти-А і анти-В-антитіла будуть позначатися як Анти-А і Анти-В.

Визначення групи крові АВО проводять шляхом ідентифікації специфічних антигенів і антитіл (подвійна або перехресна реакція). Анти-А і Анти-В виявляють у сироватці крові за допомогою стандартних еритроцитів А(II) і В(III). Наявність або відсутність на еритроцитах антигенів А і В встановлюють за допомогою моноклональних або поліклональних антитіл (стандартних сироваток, що гемаглютинують) відповідної специфічності.

Визначення групи крові проводять двічі: первинне дослідження - у лікувальному відділенні (бригаді заготівлі крові); дослідження, що підтверджує результат - у лабораторному відділенні.

Результат визначення групи крові записується в правому верхньому куті лицьового листа історії хвороби або в донорський журнал (карту) із зазначенням дати і засвідчується підписом лікаря, який проводив визначення.

Слід зазначити, що існують різні види (слабкі варіанти) як антигену А, так і антигену В. Найчастіше зустрічаються різновиди антигену А - А₁ і А₂. Поширеність антигену А₁ в осіб груп А(II) і АВ(IV) складає 80%, а антигену А₂ - біля 20%. Зразки крові з А₂ можуть містити анти-А₁-антитіла [2% у осіб з групою крові А₂(II) і 30% - у осіб з групою крові А₂В(IV)], які взаємодіють зі стандартними еритроцитами групи А(II). Наявність анти-А₁ виявляється при перехресному визначенні груп крові і при проведенні проби на індивідуальну сумісність.

Для диференційованого визначення варіантів антигену А (А₁ і А₂) необхідно використовувати специфічні реагенти (фітогемаглютиніни або моноклональні антитіла анти-А₁). Пацієнтам груп крові А₂(II) і А₂В(IV) потрібно переливати гемокомпоненти, що містять еритроцити, відповідно, груп А₂(II) і А₂В(IV). Також можуть бути рекомендовані трансфузії відмитих еритроцитів:

О(I) - пацієнтам з групою крові А₂(II);

О(I) і В(III) - пацієнтам з групою крові А₂В(IV).

Визначення групової належності крові за системою еритроцитарних антигенів АВО.

Групи крові визначають за допомогою стандартних сироваток (проста реакція) і стандартних еритроцитів (подвійна або перехресна реакція).

Групу крові простою реакцією визначають обов'язково двома серіями стандартних сироваток, що ізогемаглютинують.

Хід визначення:

Визначення групи крові проводять при достатньому освітленні і температурі від +15 до + 25°C на планшетах. На лівому боці планшета надписують О(I), у середині - А(II), на правому боці - В(III). У середині верхнього краю планшета зазначають прізвище донора або номер досліджуваної крові. Використовують активні стандартні сироватки трьох груп (О, А, В) із титром не нижче 1:32, двох серій. Сироватки розташовують у спеціальних штативах у два ряди. Кожній сироватці відповідає маркірована піпетка. Для додаткового контролю використовують сироватку групи АВ(IV).

На планшет наносять по одній-дві краплі стандартних сироваток у два ряди: сироватку групи О(I) - ліворуч, сироватку групи А(II) - у середині, сироватку групи В(III) - праворуч. Краплі крові з пальця або пробірки наносять піпеткою або скляною паличкою біля кожної краплі сироватки і змішують паличкою. Кількість крові повинна бути менше ніж сироватки в 8-10 разів. Після змішування тарілку або планшет обережно погойдують у руках, що сприяє скорішій і чіткішій аглютинації еритроцитів. По мірі появи аглютинації (але не раніше ніж через 3 хв.) до крапель сироватки з еритроцитами, де з'явилась аглютинація, додають по одній краплі 0,9 % розчину хлориду натрію і продовжують спостереження протягом 5 хв., після чого враховують результати реакції. Якщо аглютинація нечітка, до суміші сироватки і крові додають ще по одній краплі 0,9% розчину хлориду натрію, після чого аналізують отримані результати і роблять висновок про групову належність досліджуваного зразка крові (табл.7).

Таблиця 7

Дослідження групової належності зразка крові

серії	Стандартні сироватки			Цоліклони		Досліджувана кров належить до групи
	О(I)	А(II)	В(III)	Анти-А	Анти-В	
	-	-	-	-	-	О(I)
	-	-	-	-	-	
	+	-	+	+	-	А(II)
	+	-	+	+	-	
	+	+	-	-	+	В(III)
	+	+	-	-	+	
	+	+	+	+	+	АВ(IV)
	+	+	+	+	+	

Позначення: + - наявність аглютинації,

- - відсутність аглютинації

Результати реакції:

1. Відсутність аглютинації у всіх трьох краплях указує на те, що в досліджуваній крові немає аглютиногена, тобто кров відноситься до групи О(I).

2. Наявність аглютинації в краплях із сироватками О(I) і В(III) указує на те, що в крові є аглютиноген А, тобто кров відноситься до групи А(II).

3. Наявність аглютинації в краплях із сироватками групи О(I) і А(II) указує на те, що в досліджуваній крові є аглютиноген В, тобто кров відноситься до групи В(III).

4. Аглютинація у всіх трьох краплях указує на наявність у досліджуваній крові аглютиногенів А і В, тобто кров відноситься до групи АВ(IV). Однак у цьому випадку, з огляду на те, що аглютинація з усіма сироватками можлива за рахунок неспецифічної реакції, необхідно нанести на планшет або тарілку дві-три краплі стандартної сироватки групи АВ(IV) і додати до них 1 краплю досліджуваної крові. Сироватку і кров перемішують і результат реакції враховують через 5 хв. Якщо аглютинація не з'явилась, то досліджувану кров відносять до групи АВ(IV). Якщо ж аглютинація з'являється із сироваткою групи АВ(IV), то реакція є неспецифічною. При слабкій аглютинації і в усіх сумнівних випадках кров знову перевіряють із стандартними сироватками інших серій.

Визначення групової належності крові АВО із застосуванням подвійної реакції (за допомогою стандартних сироваток та стандартних еритроцитів)

Стандартні еритроцити є 10-20% зависом свіжих нативних еритроцитів (або відмитих від консерванту тест-клітин) групи О(I), А(II) і В(III) у 0,9% розчині хлориду натрію або цитратно-сольовому розчині. Нативні стандартні еритроцити повинні бути використані протягом 2-3 днів за умови збереження їх у ізотонічному сольовому розчині при температурі +4°. Консервовані стандартні еритроцити зберігають при температурі +4° протягом 2-х місяців і відмивають від консервуючого розчину перед використанням.

Ампули або флакони зі стандартними сироватками і стандартними еритроцитами розташовують у спеціальних штативах із відповідним маркіруванням. Для роботи з типіруючими реагентами використовують сухі чисті піпетки, окремі для кожного реагенту. Для промивання скляних (пластмасових) паличок і піпеток підготовляють склянки з 0,9% розчином хлориду натрію.

Для визначення групи беруть 3-5 мл крові в пробірку без стабілізатора. Кров повинна відстоятися протягом 1,5-2 годин при температурі +15 - +25°.

Хід визначення:

На планшет наносять по дві краплі (0,1 мл) стандартних сироваток груп О(I), А(II), В(III) двох серій. Відповідно до кожної групи сироваток розташовують по одній маленькій краплі (0,01 мл) стандартних еритроцитів груп О(I), А(II), В(III). У стандартні сироватки додають по одній краплі досліджуваної крові, а в стандартні еритроцити - по дві краплі досліджуваної сироватки. Кількість крові має бути у 8-10 разів меншою, ніж сироватки. Краплі перемішують скляною паличкою і, похитуючи планшет у руках протягом 5 хв, стежать за появою аглютинації. Якщо аглютинація нечітка, до суміші сироватки і крові додатково додають по одній краплі 0,9% розчину хлориду натрію (0,1 мл), після чого роблять висновок про групову належність (табл. 7).

Оцінка результатів визначення групи крові системи АВО.

1. Наявність аглютинації із стандартними еритроцитами А і В та відсутність аглютинації у трьох стандартних сироватках двох серій вказує на те, що в досліджуваній сироватці присутні обидва аглютиніни альфа і бета, а в досліджуваних еритроцитах немає аглютиногенів, тобто кров відноситься до групи 0(I).

2. Наявність аглютинації зі стандартними сироватками груп О(I), В(III) і з стандартними еритроцитами групи В(III) вказує на те, що в досліджуваних еритроцитах є аглютиноген А, а в досліджуваній сироватці - аглютинін бета. Отже, кров відноситься до групи А(II).

3. Наявність аглютинації зі стандартними сироватками груп О(I), А(II) і з стандартними еритроцитами групи А(II) вказує на те, що в досліджуваних еритроцитах є аглютиноген В, а в досліджуваній сироватці - аглютинін альфа. Отже кров відноситься до групи В(III).

4. Наявність аглютинації з усіма стандартними сироватками і відсутність аглютинації з усіма стандартними еритроцитами вказує на те, що в досліджуваних еритроцитах є обидва аглютиногени, тобто кров відноситься до групи АВ(IV).

Визначення групової належності крові за допомогою цоліклонів анти-А і анти-В

Цоліклони анти-А і анти-В (моноклональні антитіла до антигенів А і В) призначені для визначення групи крові за системою АВ0 замість стандартних сироваток. Для кожного визначення групи крові застосовують по одній серії реагенту анти-А і анти-В.

Хід визначення:

На планшет (платівку) наносять по одній великій краплі цоліклону анти-А і анти-В (0,1 мл) під відповідними надписами: "Анти-А" або "Анти-В". Поруч розміщують по одній маленькій краплі досліджуваної крові (співвідношення кров:реагент - 1:10), потім реагент і кров змішують і спостерігають за ходом реакції при легкому погойдуванні планшета або платівки.

Аглютинація з цоліклонами анти-А і анти-В за звичай настає в перші 5-10 сек. Спостереження продовжують протягом 2,5 хв, через можливість більш пізньої появи аглютинації з еритроцитами, які містять слабкі різновиди антигенів А або В.

Оцінка результатів реакції аглютинації з цоліклонами анти-А і анти-В подана в табл.7, у котру також включені результати визначення аглютининів у сироватці донорів за допомогою стандартних еритроцитів.

При підозрі на спонтанну аглютинацію у осіб із групою крові АВ(IV) проводять контрольне дослідження з 0,9% розчином хлориду натрію.

Реакція повинна бути негативною.

Цоліклони анти-А (рожевого кольору) і анти-В (синього кольору) випускаються як у нативній, так і ліофілізованій формі в ампулах по 20, 50, 100 і 200 доз із розчинником, який додається до кожної ампули по 2, 5, 10, 20 мл відповідно.

Додатковим контролем правильності визначення групи крові АВО реагентами анти-А і анти-В є моноклональний реагент анти-АВ. Реагент анти-АВ слід застосовувати паралельно як з імунними поліклональними сироватками, так і з моноклональними реагентами. В результаті реакції з реагентом анти-АВ розвивається аглютинація еритроцитів груп А(II), В(III) і АВ(IV); а еритроцитів групи О(I) - відсутня.

Причини помилок при визначенні групової належності крові за системою антигенів АВО.

Помилки при визначенні груп крові можна згрупувати наступним чином: технічні, обумовлені неповноцінністю стандартних сироваток і стандартних еритроцитів та такі, що залежать від біологічних особливостей досліджуваної крові.

1. До помилок із технічних причин відносяться:

- а) неправильне розташування сироваток на планшеті;
- б) неправильні кількісні співвідношення сироваток і еритроцитів;
- в) застосування недостатньо чистих планшетів та інших предметів, що контактують з кров'ю. Для кожної сироватки повинна бути окрема піпетка; для промивання піпеток варто застосовувати тільки 0,9% розчин хлориду натрію;
- г) неправильний запис досліджуваної крові;
- д) недотримання необхідного для реакції аглютинації часу; при поспішності, коли реакцію враховують завчасно, до 5 хв, аглютинація може не наставати, якщо в досліджуваній крові є слабкі аглютиногени; при перетриманні реакції понад 5 хв може відбутися підсушування крапель із країв, яке симулює аглютинацію, що також призведе до помилкового висновку;
- е) відсутність аглютинації через високу (понад 25°C) температуру навколишнього повітря. Щоб уникнути цієї помилки доцільно використовувати спеціально приготовлені сироватки для роботи в умовах жаркого клімату; робити визначення груп крові на тарілці або пластмасовій платівці, зовнішня поверхня дна яких контактує з холодною водою;

ж) неправильне центрифугування: недостатнє - може призвести до псевдонегативного результату, а надлишкове - до псевдопозитивного.

2. Помилки, які залежать від застосування неповноцінних стандартних сироваток і стандартних еритроцитів:

- а) слабкі стандартні сироватки з титром нижче 1:32 або з закінченим терміном придатності можуть викликати пізню і слабку аглютинацію;
- б) застосування зіпсованих стандартних сироваток або еритроцитів, які були приготовлені нестерильно і недостатньо законсервовані супроводжується виникненням неспецифічної "бактеріальної" аглютинації.

3. Помилки, що обумовлені біологічними особливостями досліджуваної крові:

3.1. Помилки, що обумовлені біологічними особливостями досліджуваних еритроцитів:

- а) пізня і слабка аглютинація пояснюється "слабкими" формами антигенів еритроцитів, частіше - наявністю в групах А и АВ слабого аглютиногена А₂.

При цьому, у випадку визначення групи крові без дослідження сироватки на наявність аглютининів (проста реакція) можуть спостерігатися помилки, внаслідок яких кров групи А₂В визначають як групу В(ІІІ), а кров А₂ - як групу 0(І). Щоб уникнути помилок при визначенні групи крові як донорів, так і реципієнтів, реакцію проводити з використанням стандартних еритроцитів (подвійна або перехресна реакція). Для ідентифікації аглютиногену А₂ рекомендується повторити дослідження з іншими видами (серіями) реагентів, використовуючи інший лабораторний посуд, із збільшенням часу реєстрації реакції. Специфічними реагентами уточнення групи крові при наявності слабких варіантів антигену А (А₁, А₂, А₃) методом прямої реакції аглютинації є цоліклон анти-А_{сд} і реагент анти-А₁;

б) "панаглютинація" або "аутоаглютинація" - спроможність зразка крові давати однакову неспецифічну аглютинацію з усіма сироватками і навіть із своєю власною. Інтенсивність подібної реакції після 5 хв слабшає, у той час як виразна аглютинація - підсилюється. Найчастіше зустрічаються у гематологічних, онкологічних, опікових хворих тощо. Для контролю аглютинації рекомендується тестування еритроцитів із стандартною сироваткою групи АВ (ІV) і фізіологічним розчином. При "панаглютинації" група крові може бути визначена після триразового відмивання еритроцитів. Для усунення неспецифічної аглютинації планшет поміщають у термостат при температурі +37° на 5 хв, після чого неспецифічна аглютинація зникає, а справжня - залишається. Доцільно повторити визначення з використанням моноклональних антитіл, застосування проби Кумбса. У тому випадку, коли відмивання еритроцитів не дає бажаного результату, необхідно повторно взяти зразок крові в попередньо зігріту пробірку, помістити пробу в термоконтейнер для підтримки температури +37° і доставити в лабораторію для дослідження. Визначення групи крові необхідно проводити при температурі +37°, для чого використовують реактиви, фізіологічний розчин і планшет, попередньо підігріті;

в) еритроцити крові складаються в "монетні стовпчики", що при макроскопічній оцінці можна прийняти за аглютинати. Додавання 1-2 крапель ізотонічного розчину хлориду натрію із наступним м'яким погойдуванням планшета, як правило, знищує "монетні стовпчики";

г) змішана або неповна аглютинація: частина еритроцитів аглютинуює, а частина - залишається вільною. Спостерігається у пацієнтів груп А(ІІ), В(ІІІ) і АВ(ІV) після трансплантації кісткового мозку або протягом перших трьох місяців після переливання крові групи 0(І). Різномірність еритроцитів периферичної крові чітко верифікується в гелевому тесті DiaMed.

3.2. Помилки, що залежать від біологічних особливостей досліджуваної сироватки:

а) виявлення антитіл іншої специфічності при рутинному тестуванні є наслідком попередньої сенсibilізації. Доцільно визначити специфічність антитіл і підібрати типізовані еритроцити без антигену, до якого виявлена

алоімунізація. Імунізованому реципієнту обов'язково проводять індивідуальний добір сумісної донорської крові;

б) при виявленні "монетних стовпчиків" стандартних еритроцитів у присутності сироватки, яка застосовується для тестування, аномальний результат доцільно підтвердити, використовуючи стандартні еритроцити групи O(I). Для диференціювання "монетних стовпчиків" і справжніх аглютинатів додають 1-2 краплі ізотонічного розчину хлориду натрію і погойдують планшет, при цьому "монетні стовпчики" руйнуються;

в) відсутність анти-А або анти-В-антитіл, що може спостерігатись у новонароджених і пацієнтів із пригніченням гуморального імунітету;

г) аглютинація стандартних еритроцитів, у тому числі групи O(I), у присутності досліджуваної сироватки пов'язана з присутністю специфічних і неспецифічних холодкових антитіл. Зникнення аглютинації при проведенні дослідження при температурі +37° верифікує неспецифічні холодкові аглютиніни. Якщо досліджувана сироватка взаємодіє з деякими зразками еритроцитів групи O(I) - це свідчить про присутність у сироватці специфічних холодкових антитіл. Для встановлення специфічності антитіл проводять тестування з панеллю еритроцитів, які типовані за системами P, MNSs тощо.

3.4. Імунні антитіла системи ABO

Антитіла системи ABO – ізогемаглютиніни α - і β - є нормальними (природними) вродженими антитілами. Їх відносять до повних антитіл – аглютинінів, що добре реагують в сольових середовищах, краще виявляються при температурі 18-24°C. Нормальні антитіла α - і β - легко абсорбуються із сироватки при додаванні групової субстанції Вітебського.

Додавання колоїдних речовин в хід реакції аглютинації не посилює активність даних антитіл. Їх не виявляють також і за допомогою непрямой реакції Кумбса. Вони чутливі до дії високих температур. Так, прогрівання протягом 10 хв. при 70°C призводить до повного їхнього інактивування.

Окрім нормальних антитіл α - і β - у людини протягом життя можуть з'являтися імунні антитіла системи ABO. Імунні антитіла можуть синтезуватися внаслідок ізоімунізації при парентеральному попаданні в організм несумісного групового антигена системи ABO, при іногрупній вагітності, помилковому переливанні несумісної крові за системою ABO, внаслідок проведення деяких щеплень та імунізації. При іногрупній вагітності за системою антигенів ABO, питома вага якої становить 11% в структурі гемолітичної хвороби новонароджених, імунні антитіла анти-А або анти-В є майже завжди присутніми в крові матері до моменту пологів. За звичай їхню наявність супроводжує високий титр нормальних антитіл α - і β - . При помилковому переливанні несумісної крові імунні антитіла анти-А і анти-В з'являються, в основному, на п'ятий-сьомий день, сягаючи максимуму на 15-20 день, після чого їхній титр, за звичай, падає. Титр нормальних антитіл α - і β - при цьому також значно підвищується і починає знижуватися після 25-30 доби.

Імунні антитіла анти-А і анти-В можуть бути повними і неповними. Вони активні при 37⁰С, можуть мати дещо вищий титр при проведенні реакції у колоїдному середовищі порівняно із реакцією у сольовому середовищі. Імунні антитіла анти-А і анти-В виявляються непрямую пробою Кумбса. Імунні антитіла не абсорбуються при додаванні групоспецифічної субстанції Вітебського. Вони є стійкими до дії температури і зберігають активність при прогріванні протягом 10 хв. при 70⁰С. Виявлення ізоімуних антитіл може мати важливе діагностичне значення, зокрема, для вирішення питання про причини пострасфузійних ускладнень і гемолітичної хвороби новонароджених. Найсуттєвішою демонстративною відмінністю нормальних антитіл α- і β- від імуних антитіл анти-А і анти-В є їхня поведінка при дії високої температури. Ця особливість лежить в основі їхнього виявлення за принципово різними методиками. Активність імуних антитіл проявляється здатністю викликати аглютинацію еритроцитів при проведенні реакції в сольовому середовищі, і як кінцевий результат – непрямій пробі Кумбса.

Окрім означених, внаслідок імунізації, що викликана вище вказаними причинами, можуть одночасно утворюватися гемолізину, яким притаманна групова специфічність.

3.5. Визначення імуних антитіл системи АВО

Для визначення нормальних антитіл α- і β- та імуних антитіл анти-А і анти-В необхідно мати наступне оснащення та реактиви: стандартні еритроцити групи А(II) та В(III) або суміш еритроцитів від 5-6 донорів окремо кожної групи; стандартна сироватка для проби Кумбса; ізотонічний розчин NaCl; центрифужні пробірки; пробірки висотою 2-2,5 см із внутрішнім діаметром 5-6 мм та гладеньким дном напівкруглої форми; пробірки висотою 4-10 см для проби Кумбса; білі пластинки із змочуваною поверхнею; штативи; термостат на 37⁰С; центрифугу; водяну баню на 70⁰С.

3.5.1. Визначення повних імуних антитіл системи АВО за реакцією сольової аглютинації

Стандартні еритроцити або суміш еритроцитів А(II) та В(III) двічі відмивають ізотонічним розчином NaCl за допомогою центрифугування. Із відмитої еритроцитної маси готують 2-3% завис кожної групи. Досліджувану сироватку кількістю 0,5-1мл розводять в 4 рази ізотонічним розчином NaCl для упередження коагуляції при нагріванні, потім розливають порівну у дві пробірки, одну із них прогривають протягом 10 хв. при 70⁰С, точно дотримуючись параметрів температури і часу. Отримують дві розведені у співвідношенні 1:4 порції сироватки – нативної і прогрітої.

Визначення антитіл починають із реакції аглютинації у сольовому середовищі у маленьких пробірках.

При дослідженні сироватки групи А(II) чи В(III) в штатив у ряд ставляють 12 маленьких пробірок. Штатив попередньо накривають листком

паперу, у якому попередньо проколюють отвори для розміщення пробірок. На папері надписують прізвища і групу крові осіб, сироватка яких підлягатиме дослідженню, групу крові стандартних еритроцитів і поруч із кожною пробіркою – ступінь розведення сироватки, що міститься в ній (1:4, 1:8, 1:16 і т.д. до 1:8000).

У всі пробірки кожного ряду, починаючи з другої, вносять по дві краплі ізотонічного розчину NaCl. Потім в першу і другу пробірки кожного ряду додають по дві краплі непрогрітої сироватки, яку розводять у чотири рази.

В другій пробірці кожного ряду сироватку змішують із ізотонічним розчином NaCl і дві краплі означеної суміші переносять у третю пробірку, із третьої, також після перемішування, в четверту – і т.д. – до останньої. Із останньої дві краплі вилучають. Таким чином отримують зразки сироватки із розведенням від 1:4 до 1:8000.

У другому штативі також готують зразки попередньо прогрітої сироватки із розведеннями від 1:4 до 1:128 (по шість пробірок), як правило, цього достатньо для проведення проби.

Після приготування зразків розведеної сироватки в усі пробірки додають по одній краплі 2-3% завису стандартних еритроцитів протилежної групи: при дослідженні сироватки групи В(III) – еритроцити групи А(II), при дослідженні сироватки групи А(II) – еритроцити групи В(III) і при дослідженні сироватки групи 0(I) в один ряд пробірок додають еритроцити групи А(II), а в інший – еритроцити групи В(III). Вміст пробірок ретельно перемішують, після чого штативи залишають у спокої на 1 год. : з нативною сироваткою – при кімнатній температурі, з прогрітою – при 37°C.

Результат оцінюють через годину за формою осаду еритроцитів на дні пробірки, продивляючи його за допомогою лупи над добрим підсвіченням знизу.

За наявності аглютинації осад розміщується нерівномірним прошарком у вигляді грудочок із загнутими доверху краями. При відсутності аглютинації осад еритроцитів розміщується рівномірним прошарком в центрі дна пробірки у вигляді правильно окресленого кола. Результат проби відмічають на папері біля відповідної пробірки знаком “+” або “-”.

Наявність аглютинації свідчить про присутність повних антитіл, а останнє розведення у якому їх виявляють – про їх титр. Титр антитіл нативної (непрогрітої) сироватки свідчить про наявність відповідної кількості аглютининів α - і β - , а титр антитіл прогрітої сироватки – про наявність відповідної кількості антитіл імунної природи анти-А чи анти-В. У випадках, коли аглютинація спостерігається в усіх пробірках, дослідження слід продовжити, з подальшим розведенням сироватки. Відсутність аглютинації в усіх пробірках свідчить про відсутність повних імунних антитіл. Якщо імунні антитіла не виявляють, то проводять непрямую пробу Кумбса.

3.5.2. Визначення неповних ізоімуних антитіл системи АВО за непрямою пробою Кумбса

Перед проведенням проби двічі відмивають стандартні еритроцити або суміші еритроцитів групи А(II) та В(III) ізотонічним розчином NaCl. На дні пробірок залишаються еритроцити, які використовують при проведенні дослідження.

При дослідженні сироватки групи А(II) та В(III) в штатив встановлюють 6 пробірок, а при дослідженні сироватки групи О(I) – два ряди по 6 пробірок, нумерують пробірки. Штатив попередньо накривають листком паперу, в якому роблять отвори для встановлення пробірок. На папері надписують прізвища і групу крові осіб, сироватка яких підлягатиме дослідженню, групу крові стандартних еритроцитів і поруч із кожною пробіркою – ступінь розведення сироватки, що міститься в ній (1:4, 1:8, 1:16 і т.д. до 1:8000).

В усі пробірки, починаючи із №2, вносять по три краплі ізотонічного розчину NaCl. В пробірки №1 та №2 додають по три краплі попередньо прогрітої сироватки, готують її розведення як це описано вище для методу сольової аглютинації. У пробірки пастеровською піпеткою додають по маленькій краплі (0,01 мл) еритроцитів протилежної групи, перемішують сироватку із еритроцитами. Штатив розміщують для інкубації в термосат на 45 хв. при 37°C. За означений час всі антитіла, якщо вони є у сироватці, фіксуються на еритроцитах. Після інкубації еритроцити відмивають, після чого в пробірки додають ізотонічний розчин NaCl, перемішують їх вміст і центрифугують. Здійснюють відмивання еритроцитів тричі. Надосадову рідину щоразу вилучають. Після відмивання еритроцитів у кожную пробірку додають 3-5 крапель ізотонічного розчину NaCl. Таким чином отримують приблизно 5% суспензію еритроцитів. Із кожною пробіркою беруть по одній краплі такого завису і переносять на площину білого кольору. Попередньо здійснюють нумерацію місць на площині відповідно до номерів пробірок. До кожною краплі на площині додають по одній краплі сироватки для проби Кумбса. Вміст крапель перемішують скляною паличкою. Площину періодично погойдують. Результат враховують через 10 хв. продивляючи весь означений час перебіг реакції. Оцінку результату здійснюють на підставі факту наявності чи відсутності аглютинації. Результат проби відмічають на папері біля відповідної пробірки знаком “+” або “-“. У разі позитивного результату додатково фіксують час появи аглютинації в секундах і хвилинах.

Наявність аглютинації свідчить про наявність відповідної кількості антитіл імунної природи анти-А чи анти-В неповної форми, а останнє розведення, в котрому вона проявляється – про їхній титр. У випадках, коли аглютинація спостерігається в усіх пробірках, дослідження слід продовжити, продовживши подальше розведення сироватки. Відсутність аглютинації в усіх пробірках свідчить про відсутність неповних імуних антитіл в досліджуваній пробі.

У процесі наведеного вище дослідження виявляються три види антитіл: нормальні повні антитіла α - і β - (термолабільні); імунні повні антитіла анти-А і анти-В (термостабільні); імунні неповні антитіла анти-А і анти-В (термостабільні). Виявлення імунних (термостабільних) антитіл повної або неповної форми свідчить про факт попадання в організм людини антигена, що несумісний за системою АВ0. Титр повних (термолабільних) α - і β - антитіл рідко перевищує такі показники: 1:8 – для імунних повних антитіл і 1:32 – для імунних неповних антитіл. Високий титр нормальних повних антитіл – аглютининів α - і β -, навіть при відсутності імунних термостабільних антитіл в момент дослідження свідчить про стан підвищеної сенсibiliзації організму і дозволяє висунути припущення про попередню сенсibiliзацію антигеном несумісним за системою АВ0. Відсутність імунних термостабільних антитіл анти-А і анти-В при титрі нормальних антитіл α - не вище, ніж 1:256 і β - не вище, ніж 1:128, свідчить про відсутність у людини ізоімунізації груповими факторами системи АВ0.

3.5.3. Визначення гемолізинів системи АВ0

Для визначення гемолізинів системи АВ0 необхідно мати: стандартні еритроцити групи О(I), А(II), В(III); ізотонічний розчин NaCl; пробірки місткістю 8-10 мл; маленькі пробірки висотою 4-5 см, діаметром 0,8-1 см; штативи; центрифугу; термостат 37⁰С. Стандартні еритроцити груп О(I), А(II), В(III), а також еритроцити особи, що обстежується, двічі відмивають ізотонічним розчином NaCl і готують із них 5% завис в ізотонічному розчині NaCl. Сироватку крові для проведення досліджень зберігають при температурі плюс 4⁰С-6⁰С не більше 48 годин. У попередньо пронумеровані 5 пробірок місткістю 8-10 мл готують робоче розведення досліджуваної сироватки в ізотонічному розчині NaCl (по 2 мл), починаючи від 1:2 до 1:32. В штатив установлюють по 5 маленьких пробірок: три ряди при дослідженні зразка сироватки групи А(II) або В(III) або чотири ряди – при дослідженні сироватки групи О(I). Пробірки номерують однаково в рядах відповідно до розведення сироватки в них.

Штатив попередньо накривають листком паперу, в якому проколюють отвори для встановлення пробірок. На папері надписують прізвище і групу крові особи, яка обстежується, групу крові стандартних еритроцитів і ступінь розведення сироваток від 1:2 до 1:32. Досліджувану сироватку переносять у маленькі пробірки таким чином, щоб у всіх перших було розведення 1:2, у других 1:4 і т.д. В усі пробірки додають по одній краплі 5% завису еритроцитів: у перший (контрольний) ряд пробірок додають еритроцити особи, сироватка якої обстежується; в другий (також контрольний) – еритроцити групи О(I); в третій ряд вводять еритроцити протилежної групи – тобто, коли досліджується сироватка групи А(II) – то вносяться еритроцити групи В(III), і навпаки – якщо В(III), то А(II). При дослідженні сироватки групи О(I) в третій ряд вводять еритроцити групи А(II), а в четвертий ряд – еритроцити групи В(III). Вміст пробірок ретельно перемішують стушуванням і штатив розміщують на 45 хв.

при 37°C. Після інкубації пробірки продивляються неозброєним оком при проходящому світлі і враховують результати реакції. В ході дослідження визначають наявність чи відсутність групових гемолізинів анти-А і анти-В. Результати оцінюють за співвідношенням кількості збережених еритроцитів у осаді та ступенем виразності гемолізу, про який судять за інтенсивністю фарбування надосадової рідини. Якщо еритроцити повністю збереглися в осаді, а надосадова рідина прозора, то означене є свідченням відсутності групових гемолізинів. Таку реакцію оцінюють знаком “-“. Коли осад еритроцитів частково зберігається, а надосадова рідина прозора і зафарбувалася в червоний колір (іноді тільки над осадом еритроцитів), - це значить, що в досліджуваній сироватці містяться групові гемолізینی (ступінь їхньої активності позначають знаком від “+” до “+++”). Якщо осад еритроцитів відсутній, а рідина зафарбована в червоний колір і прозора, то це свідчить про наявність в сироватці групових гемолізинів, що оцінюють як “++++”. Наявність гемолізу свідчить про вміст у сироватці гемолізинів, а останнє розведення, в якому його спостерігають – свідчить про їхній титр. Якщо гемоліз спостерігають у всіх пробірках, пробу слід повторити, продовживши розведення сироватки для встановлення останнього розведення у якому він спостерігається.

3.6. Система виділення

W.L.Moss (1910) вперше звернув увагу, що групові субстанції системи АВ0 виявляються не тільки на еритроцитах, а і у сироватці крові людини. Пізніше, за допомогою реакцій імунопреципітації та зв'язування комплекменту було виявлено і ідентифіковано групові антигенні субстанції в сироватці крові. Кількість тієї чи іншої антигенної субстанції в сироватці крові різних людей значно варіює. З часом було встановлено, що групові антигенні субстанції системи АВ0 можуть виявлятися або не виявлятися в усіх біологічних рідинах людини. Тобто, маючи ту чи іншу групову антигенну субстанцію у сироватці крові, індивід може її виділяти чи не виділяти із слиною, спермою, навколоплідними водами, сечею, слюзами тощо. На підставі цього, всіх людей поділяють на виділителів (75 – 78%) та невиділителів (22 – 25%), або секреторів (Se) та несекреторів (se). Здатність виділяти антигенні субстанції є генетично обумовленою, причому належність до виділення групових антигенів АВ0 є домінантною спадковою ознакою по відношенню до рецесивного успадкування невиділення. Онтогенетично здатність виділяти групові субстанції є сформованою вже до народження дитини. Відповідно до накопичених даних, секретори, які мають групи крові А₁, А₂, А₃ є видільниками групової субстанції А, а видільники з групою крові В виділяють групову субстанцію В, особи-секретори з групою крові АВ – як групову субстанцію А, так і В. Секретори з групою крові 0 є видільниками групової субстанції Н, яку, до речі, виділяють також усі секретори незалежно від їх групової належності. Кількість субстанції Н, яку виділяють секретори, найбільша у осіб з групою крові О, а найменша – у видільників з групою крові АВ.

Генетична система виділителства позначається як “Se-se”, а її генетичний локус розміщений в 19 хромосомі. Генетичний локус системи “Se-se” є тісно зщепленим із локусами антигенних систем Люїс (Le) та Лютеран (Lu). Ген Le кодується фукозилтрансферазою. До сімейства генів, що кодуються фукозилтрансферазами належить і ген H. Ген H кодує H-фукозилтрансферазу, яка експресується на клітинах еритроїдних попередниць і формує антиген H типу 2 на ланцюжку типу 2. Антиген H типу 2 в свою чергу є субстратом для синтезу A- та B-антигенів на еритроцитах. Ген Se експресується в епітелії і кодує іншу різновидність фукозилтрансферази. Субстратом для фукозилтрансферази Se є тип 1 ланцюжка, із якого вона формує антиген H типу 1. Саме даний тип антигену H секретується зі слиною, спермою, іншими біологічними рідинами та поступає у плазму, тканинну рідину, спинномозковий ліквор, навколоплідні води тощо. Якщо секретор має групу крові A(II), B(III), AB(IV), то трансферази A і B, що функціонують ще і в епітеліальних клітинах, використовують субстанцію H типу 1 і в слині та плазмі крові з’являються розчинні A- або/і B-антигени типу 1. Особи з фенотипом se/se є невидільниками. У них відсутні в плазмі і слині субстанції A, B, H. Ген Le кодує α -1-3/4-фукозилтрансферазу, яка здатна трансформувати як ланцюжки типу 1, так і ланцюжки типу 2, хоч і з меншою активністю. Комбінації ферментів Se, який приєднує фукозу до термінальної галактози, і Le, що приєднує фукозу до субтермінального N-ацетилгалактозаміну, формують Люїс-фенотип (див. нижче). Для встановлення категорії виділителства (Se чи se), як правило, використовують абсорбційні серологічні реакції.

3.7. Антигенна система Люїс

Антигенну систему Lewis було відкрито в 1946 році. Антигени системи Люїс не є строго еритроцитарними, оскільки секретуються епітеліальними клітинами і абсорбуються еритроцитами із плазми. У 1948 році R. Grubb встановив, що генний локус системи Lewis та системи Se-se є тісно поєднаними. Всі індивіди, які мають фенотип Le (a+b-) системи Люїс є невидільниками групових субстанцій системи AB0. Фенотип еритроцитів за системою Люїс визначається активністю двох пар генетично незалежних генів: Le/le і Se/se. Гени Le і Se кодуються фукозилтрансферазами. Символами le і se позначають відсутність даних ферментів. Сімейство генів фукозилтрансфераз знаходиться на хромосомі 19. Особи з фенотипом Le^{a+b-} мають алель Le, але не мають Se, їхня слина і плазма містять монофукозильовану структуру Le^a, із якої не можуть формуватися субстанції A і B. Особи з фенотипом Le^{a+b+} мають алелі Se і Le, їхня слина і плазма містять дифукозильовану структуру, із якої можуть формуватися антигени A і B (якщо індивіди відносяться до груп A(II) і B(III)). Символ Le^c застосовують для позначення антигенної детермінанти Люїс-негативних (le/le) невидільників (se/se), хоча структура її є ідентичною структури антигена I. Символом Le^d позначають антигенну детермінанту Люїс-негативних (le/le) видільників (Se), яка за будовою є антигеном H типу 1. Досить рідкісним є фенотип Le^{a-b-c-d-}, для якого є властивою зменшена або відсутня активність α -

(1-3)-фукозилтрансферази (виявлено в Індонезії) і фенотипи Бомбей і пара-Бомбей з неактивною Н-фукозилтрансферазою (виявлено в Індії, Південній Африці). Виявлення Lewis-антигенів Le^a , Le^b здійснюють ферментним методом, застосовуючи неповні стандартні антитіла анти- Le^a , та анти- Le^b . Процедура виявлення названих антитіл включає: приготування робочого ферментного розчину, обробку (ензимування) цим розчином досліджуваних та стандартних (контроль) еритроцитів та постановку реакції аглютинації ензимованих еритроцитів. Даних щодо поширеності фенотипів груп крові за системою антигенів Le серед населення України немає. Поширеність фенотипів системи Lewis серед донорів північного заходу Європейської території Російської Федерації складає : Le^{a-b-} - 20%, Le^{a+b-} - 35%, Le^{a-b+} - 70%, Le^{a+b+} - зустрічається досить рідко.

Патофізіологічне значення антигенів Le полягає у наступному. Антиген Le^b , що міститься на клітинах слизової оболонки шлунку та дванадцятипалої кишки є рецептором для бактерії *Helicobacter pylori*, яка викликає виразкову хворобу. Установлено, що частота виразкової хвороби серед осіб 0(I) Le^b достовірно вища, порівняно із іншими групами крові. Пояснюють це тим, що у людей А(II), В(III), АВ (IV) антиген Le^b є екранованим А- і В-антигенами і не може служити епітеліальним рецептором для *Helicobacter pylori*. Дослідження, що проводились *in vitro*, продемонстрували, що антигени Le можуть служити рецепторами для ряду патогенних мікроорганізмів, включаючи *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida albicans*. Антигени Люїс, як і антигени А, В, Іі експресуються на поверхні ендодермальних епітеліальних клітин, що вистилають травний тракт, дихальні і сечовидільні шляхи. Злоякісна трансформація цих тканин часто обумовлена порушенням процесів глікозилірування, що призводить до втрати нормальних і виникнення пухлино-асоційованих антигенів.

3.8. Антигенна система MNSs

Систему антигенів MNSs відкрито в 1927 році. Середня частота фенотипів у популяції складає – М- 30%, N – 20%, MN – 50%. Ідентифікація за даними антигенами широко застосовується в судово-медичній експертизі.

3.9. Антигенна система Р

Фактор Р було відкрито в 1927 році одночасно з ізосерологічною системою MN. До 1955 року еритроцитарну систему антигенів Р вважали простою однофакторною системою крові. В теперішній час, після відкриття цілого ряду нових антигенів, вона є складною та багатофакторною. В історичному плані розширення уявлень про систему антигенів Р розпочалося в 1951 році, коли P.Levine et al. Відкрили у сироватці крові однієї жінки на ім'я Джей (Jay), яка хворіла на аденокарціному шлунка та мала групу крові 0, Р- незвичайні антитіла, які реагували майже з усіма досліджуваними зразками еритроцитів крові. Після інактивації сироватки крові цієї хворої вона

продовжувала аглютинувати еритроцити всіх досліджуваних зразків. Дослідники висловили припущення, що мова іде про антитіло проти надзвичайно поширеного еритроцитарного антигена, який назвали по імені хворої жінки Tj^a (tumor Jay), а антитіла, які виявлені в крові цієї жінки, антитілами анти-Tj^a. Належність антигена Tj^a до антигенної системи P було встановлено в 1955 році R. Sanger. Антигени системи P генетично реалізуються під дією алелей двох незалежних один від одного генних локусів, котрі, як і алелі АВН та Le, діють спочатку на загальну субстанцію антигена попередника. Під дією алеля P^k, який знаходиться в одному із генних локусів системи P, із субстанції антигена-попередника утворюється субстанція P^k, яка завдячуючи дії алеля P переходить в субстанцію P (P- глобозід). Під дією алеля P¹ із іншого генного локуса параглобозід субстанції P трансформується в субстанцію P¹. Згідно теперішнім уявленням, антигенна система P є продуктом взаємодії по крайній мірі двох глікозилтрансфераз, гени яких містяться в хромосомі 22. Фенотип P визначається комбінацією трьох антигенів – P¹, P, P^k. Близько 80% європеїдів і понад 90% негроїдів експресують антиген P¹, який за структурою є гліколіпідом. Попередником антигена P є глікосфінголіпід, а антиген P^k утворюється внаслідок приєднання галактози до лактозилкераміда. Ні P, ні P^k не є субстанціями для синтезу антигена P¹. Як свідчать дані останнього часу, чисельні олігосахаридні структури клітин людини є рецепторами для різноманітних інфекційних агентів. Патолофізіологічне значення антигену P полягає у тому, що він служить рецептором на поверхні клітин для парвовірусу B19.

3.10. Система антигенів Резус

У продовж довгої історії розвитку генетичної науки чи знайдеться ще одне таке відкриття, що буде за науковим та практичним значенням рівним відкриттю в крові людини антигенів системи резус. Певні труднощі представляє розуміння доволі своєрідної номенклатури генів, антигенів, фенотипів, генотипів, гаплотипів системи резус. На сьогодні існують дві принципово різні номенклатури, що відрізняються не тільки формально, але кожна з них по-своєму відображає різне розуміння генетичних взаємозв'язків окремих факторів системи резус один з одним. Це номенклатури A.S. Wiener та R.A.Fisher/ R.R.Rice. Не вдаючись в сутність цих двох протилежних генетичних концепцій про характер успадкування різних факторів системи резус, можна константувати, що загально уживана в країнах Європи номенклатура R.A.Fisher/ R.R.Rice є нагляднішою і більш доступною для розуміння, порівняно із номенклатурою A.S. Wiener, в якій використані різноманітні символи для найменування та позначення генів та антигенів. У табл.8 наводимо позначення генів та генних комбінацій системи резус.

Позначення генів (за A.S. Wiener) та генних комбінацій (за R.A.Fisher/ R.R.Rice) системи резус

A.S. Wiener	R.A.Fisher/ R.R.Rice	A.S. Wiener	R.A.Fisher/ R.R.Rice
r	cde	R ⁰	cDe
r ^I	Cde	R ^Z	CDE
r ^{II}	cdE	r ^{Iw}	C ^w de
r ^y	CdE	r ^{yw}	C ^w dE
R ¹	CDe	R ^{Iw}	C ^w De
R ²	cDE	R ^{Zw}	C ^w DE

Із комбінації двох будь-яких генів (за A.S. Wiener) або двох будь-яких поєднань генів (гаплотипів) (за R.A.Fisher/ R.R.Rice) можуть бути створені 36 різноманітних генотипів системи резус, або 78 різних генотипів з урахуванням фактора C^w.

Система резус є найполіморфнішою і складною системою, яка включає окрім основних антигенів – D, C, c, E, e, ще близько 40 рідкісних варіантів. На теперішній час відомо, що білки Rh, які представляють антигени резус, здатні експресуватися на мембрані еритроцита тільки в присутності допоміжного глікопротеїда Rh50. Амінокислотна послідовність останнього має на 40% гомологію з білками Rh, що вказує на спільне походження генів, які їх кодують. Білки Rh і Rh50 асоціюються в мембрані у тетрамірний Rh-комплекс, що складається із двох молекул Rh50 і двох молекул Rh. Білок Rh, що формує антиген D, називається RhD-білком. Молекула, до складу якої входить зразу два антигени – C або c, та E або e – називається RhCcEe-білком. Залежно від поєднання антигенів, існує декілька варіантів RhCcEe-білка: CE, Ce, cE, або ce. Всі білки Rh є високогомологічними, первинна амінокислотна послідовність RhD і RhCcEe відрізняється за 30-35 амінокислотними залишками, однак різні RhCcEe-поліпептиди ніколи не експресують антиген D, як і поліпептид Rh не експресує антигени C, c, E, e. Всі білки сімейства резус мають схожу конформацію в мембрані еритроцита. Молекула 12 разів пронизує мембрану, утворюючи на поверхні незначні петлі довжиною у декілька амінокислотних залишків. Число таких молекул на одному еритроциті складає 10-30 тисяч.

Генний локус RH, що знаходиться на хромосомі 1, включає 2 гени – RHD і RHCCeE, які розмежовані міжгенним інтервалом приблизно в 30 тисяч пар нуклеотидів. Ген спорідненого глікопротеїна Rh50 розміщений на хромосомі 6 і не входить в локус RH. У резус-негативних осіб, на еритроцитах яких немає антигена D, ген RHD відсутній на обох гомологічних хромосомах. Поліморфізм гена RHCCeE, що визначає здатність його алельних варіантів кодувати різні пари антигенів (CE, Ce, cE, ce), залежить від крапкових нуклеотидних заміन. Так, C/c-поліморфізм асоціюється із 6 нуклеотидними замінами, що визначають відмінності по 4 амінокислотах, а E/e- викликаний однією єдиною заміною.

Найімуногеннішим із 5 основних антигенів групи крові системи резус є антиген D. Імуногенність інших (мінорних) антигенів системи резус істотно меншає і слабшає в наступному порядку: $c > E > C > e$.

Імунна система резус-негативних осіб при контакті з антигеном D синтезує анти-D-антитіла, що важливо при алогенних гемотрансфузіях і вагітності резус-негативної жінки резус-позитивним плодом. Залежно від гаплотипу на мембрані еритроцитів звичайно експресовано 10000-30000 і більше молекул D.

Існує дві особливі категорії D-позитивних осіб, здатних утворювати анти-D-антитіла.

Перша - особи, еритроцити яких характеризуються значно зниженою експресією нормального D на мембрані, 100-500 молекул на клітину, - "слабкий" D (D^{weak}). Референс-методом виявлення слабого D є непрямий антиглобуліновий тест.

Друга - особи, еритроцити яких характеризуються експресією зміненого D (частковий D, $D^{partial}$). Передбачається, що білкова молекула D має чотири епітопи, що частково перекриваються: W, X, Y і Z. У деяких випадках має місце нестача одного або декількох епітопів. Імунна система осіб із частковим D здатна виробляти антитіла до відсутніх епітопів.

За сучасною класифікацією особи з частковим D, які здатні виробляти анти-D-антитіла, підрозділяються на сім категорій. Найбільшу частоту і практичне значення має категорія VI, еритроцити якої несуть тільки епітоп Z. Особи категорії VI можуть виробляти антитіла до незміненого D, і часткового D всіх інших категорій. Виявлення часткового D категорії VI здійснюється дослідженням резус-належності з використанням двох реагентів: моноклональних анти-D-антитіл класу Ig і поліклональних анти-D-антитіл класу Ig (або моноклональних анти-D-антитіл класу Ig).

Для зручності в повсякденній роботі імуногематологічних лабораторій слабкі варіанти антигену D, об'єднують у групу D^u , частота якої складає близько 1%. Ці еритроцити слабо або взагалі не аглютинуються повними анти-резус антитілами в реакції прямої аглютинації.

Регламентованим є спосіб визначення резус-належності з використанням стандартного універсального реагенту антирезус Rh(D). Первинно негативні зразки додатково досліджуються з використанням стандартного універсального реагенту анти-RhO'(DC) і зі стандартною сироваткою RhO''(DCE). Резус-негативними вважають донорів, кров яких не містить жодного з цих трьох антигенів (D, C, E).

Більш обґрунтованим є двоетапний спосіб визначення резус-належності крові. На першому етапі використовують цоліклон "Анти-D-супер" (моноклональні анти-D-антитіла класу Ig). На другому етапі резус-належність визначають у пробірці, застосовуючи стандартний універсальний реагент для визначення резус-чинника Rh(D), або в желатиновому тесті з використанням цоліклона "Анти-D" (моноклональні анти-D-антитіла класу Ig). Поєднання негативного результату на першому етапі і позитивного - на другому є ознакою часткового D, найвірогідніше - категорії VI.

У більшості випадків (порядку 90%) для часткового D категорії VI характерний генотип CcD^ue. За допомогою високоспецифічних моноклональних антитіл установлюється гетерогенність часткового D категорії VI.

Реципієнти, які мають антиген D^u, повинні бути віднесені до резус-негативних і їм повинна переливатись тільки резус-негативна кров, тому що нормальний антиген D може викликати у таких осіб імунну відповідь.

Особи з антигеном D^u кваліфікуються як резус-позитивні донори, тому що переливання їхньої крові може викликати імунну відповідь у резус-негативних реципієнтів, а у випадку попередньої сенсibiliзації до антигену D - важкі трансфузійні реакції. Тому кров донорів варто обов'язково тестувати на наявність D^u.

Вагітним жінкам із частковим D категорії VI, коли очікується народження дитини з повним D, доцільно призначення антирезусного імуноглобуліну.

Іноді у резус-позитивних хворих на гострий і хронічний мієлоїдний лейкоз, мієлофіброз спостерігають дві популяції еритроцитів – D(+) і D(-), або повну зміну резус фенотипу. Доведено, що втрата антигена D пов'язана із соматичною мутацією пухлинного клону – делецією єдиного нуклеотида в ділянці екзона 4 гена RHD.

На теперішній час відомим є рідкісний фенотип ресус-нуль, який характеризується відсутністю всіх антигенів ресус. У осіб із фенотипом ресус-нуль спостерігають гемолітичну анемію, сфероцитоз, зміни іонної проникливості еритроцитарної мембрани, відсутність експресії ряду молекул на поверхні еритроцитів. До тепер невідомо, відсутність ресус антигенів є причиною означених аномалій, чи воно саме є наслідком порушень структури еритроцитарної мембрани.

3.10.1. Сучасні методи визначення групи крові за антигенами ресус

Резус-належність крові хворих установлюють за наявності або відсутності антигену D. Щоб уникнути помилок при процедурі взяття крові і у ході визначень, рекомендують ресус-належності визначати двічі. Дослідження мінорних антигенів системи ресус, як правило, роблять при необхідності багатократних трансфузій, коли в сироватці реципієнта виявлені антитіла до антигенів системи ресус, а також - у вагітних жінок.

Результат визначення ресус-належності крові хворих реєструється в спеціальному журналі і на бланку з зазначенням дати та за підписом лікаря, який проводив визначення. Цей бланк вклеюється в історію хвороби із зазначенням дати і підписом лікаря, який проводить лікування.

Результат визначення ресус-належності крові донорів реєструється в спеціальному журналі та у донорській карті із зазначенням дати і за підписом лікаря, який проводив визначення, а також фіксується у протоколі переливання гемотрансфузійного середовища.

3.10.2. Методи визначення резус-належності крові

Реакція гемаглютинації на площині з використанням анти-D Ig (повні антитіла) моноклонального реагенту.

Визначення виконують у нативній крові, яку стабілізують за допомогою консерванту та у крові без антикоагулянту. Найбільш чітка реакція аглютинації спостерігається при використанні висококонцентрованих еритроцитів і температурі близько 37⁰, тому бажано використовувати підігріту платівку.

Хід визначення:

- на платівку з добре змочуваною поверхнею наносять велику краплю (0,1 мл) реагенту;
- поруч поміщають маленьку краплю (0,01-0,05 мл) досліджуваної крові;
- змішують кров із реагентом скляною паличкою;
- через 10-15 сек погойдують платівку протягом 20-30 сек;
- реакція аглютинації починає розвиватися через 10-15 сек, чітко виражена великопелюсткова аглютинація настає через 30-60 сек. Результат аглютинації варто враховувати через 3 хв, оскільки з еритроцитами, що несуть антиген D^u, реакція аглютинації відбувається повільніше.

Наявність аглютинації свідчить про присутність у досліджуваних еритроцитах антигену D (кров - резус-позитивна). Відсутність аглютинації свідчить про те, що досліджувані еритроцити не містять антигену D (кров резус-негативна). У випадку слабкої аглютинації роблять припущення про наявність на еритроцитах слабого антигену D і проводять дослідження фенотипу еритроцитів у непрямому антиглобуліновому тесті (непрямій пробі Кумбса) із застосуванням Ig (неповних) анти-D-антитіл. Відразу ж після визначення записують результати реакції.

Визначення слабких форм антигену D (D^u) на другому етапі дослідження реакцією конглютинації з желатином у пробірковому тесті за допомогою анти-D Ig (неповні антитіла) моноклонального реагенту.

Паралельно з дослідженням здійснюють постановку трьох контрольних проб: а) із стандартними резус-позитивними еритроцитами; б) із стандартними резус-негативними еритроцитами; в) із досліджуваними еритроцитами і розчином желатину, але без анти-D-антитіл.

Хід визначення:

- у пробірку вносять одну краплю (0,05-0,1 мл) еритроцитів із згустка зсілої крові або еритроцитів, відмитих від консерванту;
- додають 2 краплі (0,1 мл) 10% желатину, попередньо підігрітого при 45-50⁰ С до розрідження;
- додають одну краплю реагенту анти-D;
- перемішують суспензію;
- інкубують 10-15 хв у водяній бані або 30 хв у термостаті при 48⁰ С;
- додають 5-6 мл фізіологічного розчину;
- обережно перевертають пробірку 1-2 рази;
- візуально (неозброєним оком або використовуючи лупу) визначають наявність аглютинатів.

Аглотинація еритроцитів свідчить про присутність у них антигену D. У випадку чіткої аглютинації в зразку крові, резус-негативної за результатами дослідження, за допомогою анти-D Ig моноклональних антитіл роблять висновок про наявність антигену D^u. При нечіткій дрібнопіщаній аглютинації кров необхідно тестувати у непрямому антиглобуліновому тесті. Поряд із моноклональними реагентами можна використовувати стандартні алоімунні сироватки з неповними анти-D-антитілами.

При наявності неадекватних результатів контрольних проб визначення резус-належності варто повторити з використанням інших реагентів або зразків желатину. При аглютинації досліджуваних еритроцитів желатином за відсутності анти-D-антитіл можна зробити припущення про наявність на еритроцитах адсорбованих антиеритроцитарних антитіл анти-резус або іншої специфічності.

Визначення резус-антигенів за допомогою універсальних реагентів

Стандартний реагент антирезус Rh₀(D) містить поліклональні неповні анти-D-антитіла. Одночасно з дослідженням крові донорів виконують контрольні дослідження із стандартними резус-позитивними еритроцитами тієї ж групи або групи 0(I) і стандартними резус-негативними еритроцитами обов'язково одногрупними із досліджуваною кров'ю.

Хід визначення:

- на дно пробірки вносять 1 краплю стандартного реагенту антирезус;
- додають краплю досліджуваної крові (або еритроцитів);
- вміст пробірки перемішують струшуванням;
- повільно повертають пробірку, нахилиючи її майже горизонтально таким чином, щоб вміст розтікався по стінках. Такий розподіл крові по стінках пробірки робить реакцію більш виразною;
- аглютинація настає протягом першої хвилини, але для утворення стійкого комплексу антиген-антитіло і чітко вираженої аглютинації, а також через можливість уповільненої реакції за наявності антигену D^u, контакт еритроцитів із реагентом при перевертанні варто забезпечувати не менше 3 хв;
- для виключення неспецифічної агрегації еритроцитів у пробірку додають 2-3 мл фізіологічного розчину хлориду натрію і перемішують, не збовтуючи, шляхом 2-3 разового перевертання пробірки;
- оцінку роблять візуально.

Наявність аглютинації у вигляді великих пластівців з еритроцитів на фоні проясненої рідини свідчить про резус-позитивну належність досліджуваної крові.

Відсутність аглютинації (у пробірці гомогенно забарвлена рідина) - ознака резус-негативної належності досліджуваної крові.

Результат враховується після перевірки контрольних зразків при позитивному результаті зі стандартними резус-позитивними еритроцитами і відсутності аглютинації зі стандартними резус-негативними еритроцитами одногрупними з досліджуваною кров'ю за системою АВ0.

Непрямий антиглобуліновий тест (непряма проба Кумбса) з використанням (неповних) анти-D антитіл

Паралельно з дослідженням зразків крові проводять контрольне дослідження зі стандартними резус-негативними еритроцитами.

Хід визначення:

- із досліджуваної крові готують 2-5% завис відмитих еритроцитів. З цією метою вносять у пробірку 5 крапель (близько 0,25 мл) досліджуваної крові, три рази відмивають у 5-10 мл фізіологічного розчину; ресуспендують осад еритроцитів у 2-3 мл фізіологічного розчину або у 2-3 мл розчину низької іонної сили - LISS (у цьому випадку відбудеться міцніша і швидша фіксація антитіл на еритроцитах).

- маркірують чисту пробірку.

- вносять 1 краплю реагенту анти-D.

- додають 1 краплю 2-5 % суспензії досліджуваних еритроцитів.

- якщо еритроцити суспендовані у фізіологічному розчині - інкубують суміш при 37⁰ протягом 30-45 хв; якщо використовують еритроцити в LISS - 10-15 хв.

- відмивають еритроцити в 5-10 мл фізіологічного розчину: при використанні моноклональних анти-D-антитіл - одноразове відмивання, а при використанні поліклональних анти-D-антитіл - триразове. Варто мати на увазі, що сироватка крові в розведенні 1:4000 інактивує рівний об'єм антиглобулінового реагенту. Недостатнє відмивання може призвести до інактивації антиглобулінового реагенту і псевдонегативного результату тесту.

- вилучають фізіологічний розчин.

- додають 1 краплю антиглобулінового реагенту до осаду еритроцитів і ретельно перемішують.

- центрифугують 15-20 сек при 2000-3000 об/хв (900-1000g).

- ретельно ресуспендують осад еритроцитів і візуально визначають наявність або відсутність аглютинації. При наявності аглютинації кров є резус-позитивною. При відсутності - резус-негативною. Слабка аглютинація можлива при експресії антигену D^u.

- записують результати дослідження.

Аглютинація еритроцитів, оброблених протеолітичними ферментами,

Ig (неповними) анти-D-антитілами

Для посилення прямої аглютинації еритроцитів у сольовому середовищі використовують попереднє оброблення еритроцитів протеазами (протеолітичними ферментами): бромеліном, папаїном, трипсином та ін. При цьому підвищується чутливість методу, у тому числі й у відношенні слабких форм антигену D. Метод використовується в системах автоматизованого визначення груп крові. Особливістю цього тесту, що ускладнює його застосування для рутинного фенотипування еритроцитів, є феномен "зони" – інгібування аглютинації надлишковою кількістю антитіл. Для запобігання феномена "зони" необхідно забезпечити стандартність обробки еритроцитів ферментами і суворо дотримуватись концентрації анти-D-антитіл, яка рекомендована виробником.

3.11. Система антигенів Келл

Після фактора D, фактор Келл посідає друге місце в структурі трансфузійно небезпечних антигенів еритроцитів. Сенсibilізація фактором К сягає до 18% (9% від кількості первинних реципієнтів та 9% первинних вагітних). Система антигенів Келл є високополіморфною і включає понад 20 антигенів. Білок Келл має суттєву гомологію із ферментами сімейства цинкзалежних пептидаз, однак до теперішнього часу не з'ясовано, чи здатен він сам виконувати ензиматичну функцію. Із Глікопротеїном Келл асоціюється антиген Kx, ген якого розміщений на X-хромосомі. В рідкісних випадках внаслідок мутацій в цьому гені, що супроводжується відсутністю антигена Kx на еритроцитах, глікопротеїн Келл також не експресується. У чоловіків-носіїв мутації виникає синдром МакЛеода, який характеризується зменшенням тривалості життя еритроцитів, акантоцитозом, дистрофією м'язів, неврологічними порушеннями. У жінок, що мають мутантний ген, спостерігають дві популяції еритроцитів – нормальні і акантоцити, як наслідок інактивації однієї X-хромосоми в клітинах еритроїдних попередниць.

З метою запобігання посттрансфузійних ускладнень за антигеном К, необхідно видавати в лікувально-профілактичні установи тільки К-негативні еритроцитарні середовища. К-позитивним донорам слід рекомендувати інші види донорства (плазми, тромбоцитів тощо), а не еритроцитів. Для визначення антигена К в еритроцитах застосовують наступні методики: непряма реакція Кумбса, пробірочний метод з використанням желатину, експрес-метод на площині із сироваткою анти-К універсальною.

3.12. Інші системи антигенів еритроцитів

Антигени інших систем еритроцитів відіграють помітну роль в формуванні реакцій та ускладнень після гемотрансфузій за умови, що організм реципієнта раніше був сенсibilізований до означеного антигена. Слід відмітити, що в структурі причин виникнення гемолітичної хвороби новонароджених, окрім антигенів систем Резус (~88% випадків її виникнення) та антигенів системи АВ0 (~11% - в структурі етіологічних чинників), певне місце також посідають і антигени систем Lutheran, Kell, Lewis, Duffy, Kidd, Diego (~1%). Для упередження реакцій та ускладнень перед проведенням гемотрансфузії обов'язково здійснюють пробу на індивідуальну сумісність.

3.13. Поліаглютинабельні еритроцити

Поліаглютинабельними називають еритроцити крові людини, які аглютинуються переважною більшістю ізо- і гетероімунних антисироваток, що містять антитіла різноманітної серологічної специфічності, та більшістю фітогемаглютининів і лектинів рослинного походження, що мають суттєво різну серологічну спрямованість.

3.13.1. Феномен Хюбнера-Томсена-Фриденрейха

Причиною поліаглютинабельності еритроцитів при цьому синдромі є зміна поверхні еритроцитів під дією бактеріальної флори. Доведено, що внаслідок дії бактеріальної нейрамінідази відбувається відокремлення нейрамінової кислоти в еритроцитарних мембранах і як наслідок цього поверхня еритроцитів повністю трансформується. На поверхні еритроцитів “проявляються” криптантигени. Це антигенні рецептори, що в нормі зберігаються в глибині мембрани еритроцитів. У разі їхнього появлення на поверхні еритроцитів, вони здатні взаємодіяти майже із всіма антитілами будь-якої серологічної спрямованості. Криптантигени називають антигенними Т-рецепторами. Т-рецептори реагують із антитілами анти-Т, що містяться у плазмі крові практично всіх дорослих людей. Викладене вище і пояснює аглютинацію Т-трансформованих еритроцитів практично будь-якою сироваткою. Якщо означений процес відбувається в результаті мікробної контамінації крові *in vivo*, то розвивається гемолітична анемія мікробної етіології.

3.13.2. Тк-антиген еритроцитів

Тк-антиген також з'являється на поверхні мембрани еритроцитів внаслідок дії на них бактерій, а саме бактеріальної β -галактозидази. Подібного роду еритроцити аглютинуються лужним полібреном. Для еритроцитів, що мають трансформаторний Тк-антиген, є властивою сильна реакція із фітогемаглютиніном із насіння арахіса (*Arachis hypogaea*). Тк-активізовані еритроцити, на відміну від Т-активізованих, мають нормальний поверхневий заряд, оскільки в структурі їхньої оболонки кількість нейрамінової кислоти не зменшена.

3.12.3. Тп-антиген еритроцитів

Лабораторна діагностика присутності Тп-антигена еритроцитів є складною і трудомісткою. Для осіб, що мають на поверхні еритроцитів Тп-антиген, є характерним наявність у сироватці крові антитіл анти-Тп, які обумовлюють виникнення гемолітичної анемії. Абсолютно специфічним реагентом, що дозволяє диференціювати Тп-антиген серед феноменів поліаглютинабельності еритроцитів, є відповідним чином розведений екстракт фітогемаглютиніна із насіння *Salvia sclarea*, хоча анти-Тп специфічність мають і інші лектини, особливо лектин із *Salvia horminum*. Появлення Тп-антигена на поверхні еритроцитів пояснюють дією вірусних агентів на цитоархітектоніку плазмолемі еритроцитів. Є припущення, що формування Тп-антигенів здійснюється в еритропоетичних клітинах кісткового мозку, а не в еритроцитах периферичної крові.

3.13.4. Eп-антиген еритроцитів

Eп-антиген зустрічається на поверхні еритроцитів у переважної більшості людей. Відсутність названого антигена є генетично детермінованою і обумовлена гомозиготністю рецесивного алельного гена цієї системи. Переливання Eп-позитивних еритроцитів особам, які не мають Eп-антигена, супроводжується імунізацією і виробленням анти-Eп антитіл. Дослідження останнього часу показали, що першопричиною виникнення Eп-негативного фенотипу еритроцитів є генетично обумовлена відсутність в еритроцитарних мембранах глікопротеїнів, які містять нейрамінову кислоту.

3.13.5. Kd-антиген та Sd-антиген еритроцитів

Kd-антиген є генетично детермінованою ознакою, що успадковується з частотою 1:1000. Kd-антиген є A-подібною субстанцією, яка за наявності в еритроцитах антигенів B або 0 сприяє різкому підвищенню їхньої аглютинабельності і робить їх понадаглютинабельними. При наявності Kd-антигена еритроцити виразно аглютинуються протектином анти-A_{np}, фітогемаглютиніном із насіння *Dolichos biflorus* і навіть деякими сироватками крові групи AB0, але не аглютинуються ізосироватками анти-A. Sd-антиген є більш слабким варіантом антигена Kd.

3.14. Антигенні системи ферментів еритроцитів

Починаючи з 1963 р. було відкрито значну кількість генетично поліморфних ферментних систем еритроцитів крові людини. Для диференціювання групових ізоферментів застосовують техніку ензімограм, що уявляє собою поєднання електрофоретичних розподільних методів дослідження з наступним специфічним виявленням активності того чи іншого ензима в молекулярно розділеній білковій суміші.

Дані щодо антигенних систем ферментів еритроцитів наведені в табл. 9.

Таблиця 9

Антигенні системи ферментів еритроцитів

I. Ферментні системи з високою генетичною поліморфністю:

1. Кислої еритроцитарної фосфатази
2. Фосфоглюкомутази
3. Аденілаткінази
4. 6-Фосфоглюконат-дегідрогенази
5. Аденозіндезамінази
6. Глутамат-піруват-трансамінази
7. Естерази D
8. Гліоксалази I
9. Фосфогліколатфосфатази

II. Ферментні системи з низькою генетичною поліморфністю:

1. Лактатдегідрогенази
2. Малатдегідрогенази
3. Пептидази А, В, С, D та Е
4. Глутатіонредуктази
5. NADH- і NADPH-залежні діафори
6. Глюкозо-6-фосфатдегідрогенази
7. Супероксиддисмутази
8. Фосфоглюкоізомерази
9. Уридин-5-монофосфаткінази
10. α -L-фукозидази тощо.

3.15. Проведення проби на індивідуальну сумісність крові донора і реципієнта

Метою проби на індивідуальну сумісність є запобігання трансфузій несумісних еритроцитів. Тестування сироватки реципієнта з еритроцитами донора - найнадійніший спосіб виявлення антитіл, які здатні викликати ушкодження перелитих еритроцитів, посттрансфузійні реакції, в тому числі і гемолітичні. Проведення такої проби дозволяє:

- 1) підтвердити АВО сумісність донора і реципієнта;
- 2) виявити усі антитіла у сироватці реципієнта, які спрямовані проти антигенів еритроцитів донора.

3.15.1. Проба на індивідуальну сумісність крові за антигенами системи АВО

Хід визначення:

- на чисту суху поверхню планшету або платівки при кімнатній температурі наносять сироватку реципієнта та кров донора і змішують у співвідношенні 10:1;

- періодично погойдуючи планшет, спостерігають за ходом реакції.

За відсутності аглютинації протягом 5 хв. зразки крові вважаються сумісними. Наявність аглютинації вказує на несумісність зразків крові реципієнта і донора. Таке гемотрансфузійне середовище переливати не можна. У сумнівних випадках результати проби на сумісність контролюють під мікроскопом: за наявності монетних стовпчиків, які зникають після додавання теплого (+37°) 0,9 % розчину хлориду натрію, зразки крові вважаються сумісними; якщо в краплі суміші присутні значні аглютинати, які не зникають при додаванні теплого фізіологічного розчину, - гемотрансфузійне середовище вважається не сумісним.

3.15.2. Проба на сумісність крові за антигенами системи резус із застосуванням 33% розчину поліглюкіну

Оскільки чутливість цієї проби є низькою, застосовувати її у стаціонарних лікувальних закладах не рекомендується. Допускається виконання проби на сумісність із застосуванням 33% розчину поліглюкіну при необхідності проведення переливання крові в екстремальних умовах.

Приготування 33% розчину поліглюкіну:

1. Шляхом упарювання 6% розчину поліглюкіну до 18% (1/5,5) початкового об'єму.

2. Шляхом розчинення сухого порошку поліглюкіну.

Для одержання 1000 мл 33 % розчину в мірну колбу вносять 330 г сухого порошку поліглюкіну і розчиняють у 700 мл дистильованої води в умовах водяної бані при температурі 50-60⁰. Додають 49,5 г сухого хлориду натрію. Охолоджують розчин до кімнатної температури і дистильованою водою доводять до 1000 мл. Для консервування 33% розчину поліглюкіну застосовують борну кислоту з розрахунку 3 г на 100 мл.

3.15.3. Проба на сумісність за антигенами системи резус не замінює, а доповнює пробу на сумісність за антигенами системи АВО

Хід визначення:

- на дно маркірованої пробірки вносять 2 краплі сироватки хворого, одну краплю донорської крові та одну краплю 33 % розчину поліглюкіну;
- перемішують вміст пробірки струшуванням;
- повільно повертають пробірку так, щоб вміст розтікався по стінках пробірки. При цьому збільшується вираженість реакції аглютинації;
- через 5 хв. додають 2-3 мл фізіологічного розчину;
- перемішують вміст, 2-3 рази обережно похитуючи пробірку, але не збовтуючи;
- наявність аглютинації в пробірці свідчить про те, що кров донора несумісна з кров'ю пацієнта і тому не може бути перелита. Якщо вміст пробірки залишається рівномірно забарвленим і не спостерігається ознак аглютинації еритроцитів - кров є сумісною.

3.15.4. Проба на індивідуальну сумісність крові із застосуванням центрифугування

Хід визначення:

- вносять 2 краплі сироватки реципієнта на дно завчасно маркірованої пробірки;
- додають 1 краплю 5 % суспензії тричі відмитих еритроцитів донора у розчині низької іонної сили - LISS (за відсутності LISS можна використовувати фізіологічний розчин, у цьому випадку погіршується фіксація антитіл).

Методика приготування 5 % суспензії тричі відмитих еритроцитів наведена при описуванні ходу непрямой проби Кумбса;

- відразу після змішування еритроцитів донора і сироватки реципієнта центрифугують пробірку протягом 15-20 сек. при 2000 об./хв.;
- візуально визначають наявність гемолізу в надосадовій рідині;
- обережно похитуючи пробірку, ресуспендують клітинний осад і візуально визначають наявність аглютинатів. Наявність гемолізу та/або аглютинатів може означати: а) несумісність за системою АВО; б) присутність у сироватці реципієнта повних холододивних антитіл іншої специфічності (анти-М, анти-N, анти-S та ін.).

3.15.5. Проба на індивідуальну сумісність крові з використанням розчину желатини

Необхідно використовувати чистий, без пластифікаторів, прозорий желатин, що застигає при температурі $+4^{\circ}$. Желатину не можна заморожувати. Для виключення неспецифічної аглютинації еритроцитів розчином желатини доцільно перевіряти кожну її серію у контролі з несенсибілізованими еритроцитами.

Хід визначення:

Проводять пробу на індивідуальну сумісність крові з застосуванням центрифугування. Якщо не виявлено гемолізу і еритроцити утворили гомогенну суспензію після струшування пробірки:

- підігривають 10 % розчин желатини на водяній бані ($+46 - +48^{\circ}$) протягом 10 хв.;
- до суміші еритроцитів донора і сироватки реципієнта (у співвідношенні 1:2) додають 2 краплі підігрітого 10 % розчину желатини і ретельно перемішують;
- протягом 10 хв. інкубують пробірку при $+46 - +48^{\circ}$ С на водяній бані або протягом 30 хв. - у термостаті;
- додають 5-8 мл фізіологічного розчину і акуратно перемішують, 1-2 рази похитуючи пробірку;
- візуально визначають наявність або відсутність аглютинації еритроцитів. При негативному результаті переносять краплю суспензії еритроцитів з пробірки на предметне скло і мікроскопують при малому збільшенні мікроскопа.

При виявленні аглютинації кров донора і реципієнта несумісна за антигенами еритроцитів.

Як негативний контроль використовують наступні проби: а) суміш еритроцитів донора з желатиною і 0,9% розчином хлориду натрію (у співвідношенні 1:2:2); б) суміш еритроцитів і сироватки реципієнта з желатиною (у співвідношенні 1:2:2).

3.15.6. Проба на індивідуальну сумісність крові із використанням антиглобулінового реагенту

Акцентуємо увагу, що повторне заморожування-відтаювання антиглобулінового реагенту категорично забороняється. Для контролю якості антиглобулінового реагенту доцільно провести антиглобуліновий тест із резус-позитивними еритроцитами, що сенсibilізовані Ig (неповними) анти-D-антитілами.

Хід визначення:

Проводять пробу на індивідуальну сумісність крові із застосуванням центрифугування. Якщо не виявляються ознаки гемолізу і еритроцити утворили гомогенну суспензію після струшування пробірки, то:

- інкубують пробірку при 37⁰ протягом: 15 хв. при використанні LISS або 45 хв. при використанні фізіологічного розчину;

- центрифугують пробірку протягом 15-20 сек. при 2000-3000 об./хв.;

- візуально визначають наявність гемолізу у надосадовій рідині;

- акуратно похитуючи пробірку, ресуспендують клітинний осад і візуально визначають наявність аглютинатів. Наявність гемолізу та/або аглютинатів свідчить про присутність у реципієнта повних теплових антитіл до антигенів еритроцитів донора;

- при відсутності гемолізу та аглютинації ретельно 3-4 рази відмивають еритроцити, щораз використовуючи 5-10 мл фізіологічного розчину;

- вилучають фізіологічний розчин;

- додають 1-2 краплі антиглобулінового реагенту до осаду еритроцитів і ретельно перемішують;

- центрифугують 15-20 сек. при 2000-3000 об./хв.;

- акуратно ресуспендують осад еритроцитів і візуально визначають наявність або відсутність аглютинації;

- візуально визначають наявність або відсутність аглютинації еритроцитів. При негативному результаті переносять краплю суспензії еритроцитів з пробірки на предметне скло і мікроскопують при малому збільшенні.

При виявленні аглютинації кров донора і реципієнта несумісна за антигенами еритроцитів.

Для негативних контрольних проб використовують: а) суміш 5% суспензії тест-еритроцитів з 0,9% розчином хлориду натрію (у співвідношенні 1:2) - контроль на спонтанну аглютинацію; б) суміш 5% суспензії тест-еритроцитів з антиглобуліновим реагентом (у співвідношенні 1:2) - контроль аутосенсibilізації.

Контроль активності антиглобулінового реагенту (завжди позитивна реакція) - суміш 5% суспензії донорських еритроцитів групи 0(I) D+, сенсibilізованих антирезусною сироваткою (що містить анти-D-антитіла класу Ig) і антиглобулінового реагенту (у співвідношенні 1:2).

Контроль специфічності антиглобулінового реагенту (завжди негативна реакція) - суміш 5% суспензії донорських еритроцитів групи 0(I) D- (після

інкубації з антирезусною сироваткою протягом 45 хвилин) і антиглобулінового реагенту (у співвідношенні 1:2).

Антиглобуліновий реагент зберігають замороженим при -20° (сухий реагент можна зберігати при кімнатній температурі). Неприпустимо повторне заморожування - відтаювання реагенту.

Причини псевдопозитивних результатів:

- 1) присутність аутоантитіл на поверхні тест-еритроцитів;
- 2) тест-еритроцити містять мікробні домішки;
- 3) порушення режиму центрифугування (механічне ушкодження мембрани еритроцитів при надмірному навантаженні).

Причини псевдонегативних результатів:

- 1) тест-еритроцити погано відмиті або залишки білків сироватки присутні на стінках пробірки;
- 2) порушення режимів відмивання або інкубації;
- 3) втрата активності сироватки або тест-еритроцитів у процесі збереження;
- 4) низька активність антиглобулінового реагенту;
- 5) недостатній час інкубації.

3.15.7. Непрямий антиглобуліновий тест із застосуванням розчину низької іонної сили (LISS)

Методика приготування розчину LISS для проведення тесту:

1. - 9 г гліцину розчинити в 250 мл дистильованої води, до нього по краплях додати 0,1 М розчин NaOH до pH 6,7;
2. - приготувати 0,15 М розчин NaH_2PO_4 (1,8 г солі на 100 мл дистильованої води);
3. - приготувати 0,15 М Na_2HPO_4 (2,13 г солі розчинити в 100 мл дистильованої води);
- 4.- змішати розчини (2) і (3) до pH 6,7. Взяти 10 мл суміші;
- 5.- 0,89 г NaCl розчинити в 50 мл дистильованої води;
- 6.- змішати 250 мл розчину (1), 10 мл розчину (4) і 50 мл розчину (5);
7. - довести об'єм до 500 мл дистильованою водою.

Приготовлений у такий спосіб розчин розливають по 50 мл у флакони, закорковують гумовими корками, завальцовують і стерилізують 30 хв. при 1,2 атмосфери. Стерильний розчин може зберігатися при 4° C протягом двох років.

Контроль якості реактиву проводиться візуально: незабарвлений, прозорий розчин придатний для використання; якщо з'явилися пластівці, розчин використовувати не можна.

3.15.7. Методика проведення непрямого антиглобулінового тесту з розчином LISS

Хід визначення:

- еритроцити відмивають 1 раз 0,9% розчином хлориду натрію і 1 раз LISS, об'єм розчинів повинен бути в 20 разів більше об'єму еритроцитів;
- готують робочий (10-20%) концентрат еритроцитів у LISS;
- у пробірці змішують: 1 об'єм суспензії стандартних еритроцитів і 2 об'єми досліджуваної сироватки;
- як негативний контроль використовують сироватку, що свідомо містить не антиеритроцитарні антитіла;
- як позитивний контроль використовують сироватку, що свідомо містить антитіла до антигенів тест-еритроцитів;
- дослідний зразок і контроль інкубують протягом 7 хв. у водяній бані при температурі 46-48° С;
- після інкубації еритроцити відмивають 3-4 рази 100-разовим надлишком 0,9% розчину хлориду натрію. Про ефективність відмивання еритроцитів свідчить негативна проба на білок у надосадовій рідині із 20% розчином сульфосаліцилової кислоти;
- готують 10% суспензію відмитих сенсibiliзованих еритроцитів у розчині 0,9% хлориду натрію;
- змішують на площині 1 краплю 10% суспензії еритроцитів і 2 краплі антиглобулінової сироватки. Результат оцінюють протягом 10 хв. при погодюванні планшета.

Наявність аглютинації в досліджуваній пробі свідчить про наявність у досліджуваній сироватці антитіл до антигенів еритроцитів. Встановити специфічність цих антитіл можна тільки при використанні панелі типованих еритроцитів. Відсутність аглютинації (гомогенне забарвлення краплі) - досліджувана сироватка не містить антитіл до антигенів еритроцитів.

3.15.8. "Спін"-метод для оцінки результатів прямого і непрямого антиглобулінових тестів

Для контролю в "спін"-методі використовують: для непрямого антиглобулінового тесту суміш 1 об'єму відмитих 4-5 разів досліджуваних еритроцитів і 2 об'ємів антиглобулінової сироватки, а для прямого антиглобулінового тесту - суміш 1 об'єму відмитих 4-5 разів досліджуваних еритроцитів і 2 об'ємів 0,9% розчину хлориду натрію. Обидві контрольні проби центрифугують протягом 1 хв. при 1000 об./хв. Контролі повинні бути завжди негативними і свідчити про дотримання режиму центрифугування.

Хід визначення:

- змішують у пробірці 1 об'єм 5% суспензії відмитих сенсibiliзованих еритроцитів і 2 об'єми антиглобулінової сироватки;
- центрифугують пробірку із сумішшю 1 хв. при 1000 об./хв.;

- пробірку струшують і візуально оцінюють результати дослідження, а при одержанні негативного результату - краплю досліджуваної суспензії переносять на скло і мікроскопіюють при малому збільшенні.

Наявність аглютинації при візуальному або мікроскопічному спостереженні свідчить про позитивний результат: досліджувані еритроцити сенсibiliзовані антитілами. Відсутність аглютинації свідчить про негативний результат - еритроцити антитілами не сенсibiliзовані.

3.16. Біологічна проба при проведенні трансфузії

Перед переливанням контейнер із трансфузійним середовищем (еритроцитарна маса, свіжозаморожена плазма тощо) виймають із холодильника і витримують при кімнатній температурі протягом 30 хв. Є припустимим зігрівання трансфузійних середовищ на водяній бані при температурі 37⁰С під контролем термометра.

Біологічну пробу проводять незалежно від обсягів трансфузії та швидкості введення трансфузійного середовища. У разі необхідності переливання декількох доз компонентів крові біологічну пробу проводять перед початком кожної нової дози.

Техніка проведення біологічної проби полягає в наступному: однократно переливають 10 мл трансфузійного середовища із швидкістю 2-3 мл (40-60 крапель) за хв., потім переливання припиняють і протягом 3 хв., спостерігають за реципієнтом, контролюючи у нього пульс, дихання, артеріальний тиск, загальний стан, колір шкірних покривів, температуру тіла. Таку процедуру повторюють ще двічі. Поява в цей період хоча б одного із таких клінічних симптомів як озноб, біль в попереку, відчуття жару і стискання у грудях, головний біль, нудота, блювання тощо, потребує термінового припинення трансфузії і відмови від переливання даного трансфузійного середовища.

Необхідність екстренної трансфузії компонентів крові не звільняє лікаря від проведення біологічної проби. Під час її проведення дозволяється продовжувати переливання сольових розчинів. При переливанні трансфузійного середовища хворому, який знаходиться під наркозом про реакцію або початок ускладнення тлумачать за немотивованим посиленням кровоточивості в операційній рані, зниженням артеріального тиску і прискоренням пульса, змінах кольору сечі при катетеризованому сечовому міхурі, а також за результатами проби на виявлення раннього гемолізу (проба Бакстера). В означених ситуаціях переливання трансфузійного середовища припиняють, хірург, анестезіолог і трансфузіолог мають встановити причину гемодинамічних порушень. Якщо встановлюється, що інших, окрім трансфузії, причин для означених порушень немає, то дане трансфузійне середовище не переливають. Питання про подальшу тактику трансфузійної терапії вирішують залежно від клінічних і лабораторних даних.

Біологічну пробу, як і пробу на індивідуальну сумісність, обов'язково проводять і у випадках, коли для реципієнта здійснено індивідуальний підбір

трансфузійного середовища в лабораторії чи застосовується фенотипована еритроцитарна маса.

Контрольні дослідження групової належності реципієнта і донора за системами антигенів АВ0 та Rh, а також проби на індивідуальну сумісність здійснюються трансфузіологом безпосередньо біля ліжка хворого чи в операційній.

При проведенні переливання трансфузійного середовища забороняється вводити в контейнер з компонентом крові будь-які медикаменти чи розчини, за винятком 0,9% стерильного ізотонічного розчину NaCl. Після закінчення проведення гемотрансфузії контейнер із залишками донорського трансфузійного середовища і пробірку з кров'ю реципієнта залишають у спеціально відведеному для цього холодильнику.

Лікар, який проводив переливання трансфузійного середовища, зобов'язаний зареєструвати в історії хвороби (див. медичну форму №003-5/о затверджену наказом МОЗ України №184 від 26.07.99 р.): показання до переливання компонентів крові; паспортні дані з етикетки донорського контейнера; результати контрольних досліджень групової належності крові реципієнта за системами антигенів АВ0 та Rh; результати контрольних перевірок групової належності крові із контейнера за системами антигенів АВ0 та Rh; результати проб на індивідуальну сумісність крові донора і реципієнта; результат біологічної проби.

Після переливання трансфузійного середовища реципієнт має дотримуватися постільного режиму протягом 2 год. і знаходиться під наглядом лікаря. Щогодини протягом 6 годин у реципієнта фіксується температура тіла, артеріальний тиск. Контролюється стан виділення сечі, слідкують за її кольором. Поява червоного забарвлення при збереженні прозорості сечі свідчить про гострий гемоліз. Наступного дня після переливання трансфузійного середовища обов'язково призначають контрольні дослідження крові і сечі. При амбулаторному проведенні трансфузійної терапії реципієнт після закінчення переливання трансфузійного середовища повинен знаходитися під спостереженням лікаря не менше 3 год. Тільки у разі відсутності ознак будь-яких пострасфузіологічних реакцій, за наявності стабільних показників артеріального тиску і пульса, нормального виділення сечі хворому можна дозволити залишити лікувальну установу.

3.17. Антигени лейкоцитів

Головний комплекс гістосумісності людини або HLA-система представляє комплекс генів, які самі по собі, а також через продукти їхнього кодування виконують важливі біологічні функції, насамперед забезпечують генетичний контроль імунної відповіді і взаємодію різних клітинних елементів, які реалізують імунну відповідь. Основною функцією HLA-системи є забезпечення цілісності організму, шляхом взаємодії між імунокомпетентними та усіма іншими клітинами організму. HLA-гени розміщені в хромосомі 6 і сконцентровані в 7 областях (локусах). Виділяють 4 головні категорії генів

системи HLA: гени I класу, гени II класу, гени протеасоми, та транспортні гени. Серед основних областей виділяють три класи. Перший клас включає локуси, які детермінують синтез трансплантаційних антигенів, що стимулюють продукцію антитіл, цитолітичних лімфоцитів, Т-супресорів. HLA-антигени I класу експресовані на всіх ядромістких клітинах організму, Т-лімфоцитах, відіграють ключеву роль у розпізнаванні «свого». Антигени I класу – продукти локусів HLA-A, B, C, а також відкриті на прикінці минулого століття гени HLA - E, G, F. Функція останніх на сьогодні є остаточно не визначеною. Антигени I класу є мембранними глікопротеїдами, що складаються із двох частин: глікозилізованого поліпептидного важкого α -ланцюжка з молекулярною масою 44 кД і β_2 -макроглобуліна з молекулярною масою 12 кД. Антигени HLA I класу експресовані на більшості соматичних клітин, причому рівень їхньої експресії є тканиноспецифічним. Максимальну їх експресію виявляють на клітинах лімфоїдного походження.

До II класу входять гени імунної відповіді (імунної резистентності – IR), які регулюють її силу та виразність. HLA-антигени II класу (продукти локусів, які входять до HLA-D регіону) представлені на макрофагах, В-лімфоцитах, дендритних клітинах, клітинах Лангерганса, активованих Т-лімфоцитах, спеціалізованих епітеліоцитах тощо. Тут же представлені А-білки, які експресуються на субпопуляціях Т-лімфоцитів, які беруть участь у взаємодіях Т-В-клітин і макрофагах. HLA-антигени II класу, окрім важливої ролі у міжклітинній взаємодії імунітетів, відіграють суттєву роль в презентації антигенів. Молекули HLA-антигенів II класу уявляють із себе інтегральні мембранні сіалоглікопротеїди, які складаються із двох мембранних ланцюгів: α – з молекулярною масою 33-35 кД і β – з молекулярною масою 28-31 кД. Суттєвим є факт модифікації експресії HLA-антигенів I і II класів при активації клітин. Вона може варіювати під дією γ -інтерферону, коли не тільки зростає експресія антигенів на мембрані клітин, а і взагалі, клітини, які не мають, наприклад, антигенів II класу, починають їх утворювати. Регуляторами транскрипції HLA-антигенів I і II класів є α -, β - і γ -інтерферони, інтерлейкіни, простагландини тощо.

Третій клас HLA-генів контролює синтез C2, Вf, С4 компонентів комплексу і експресію С3-рецептора на В-клітинах.

Номенклатура HLA-антигенів. Сучасна номенклатура антигенів системи HLA базується на номенклатурі відповідних генів цієї системи, яка регулярно переглядається на Міжнародних робочих нарадах з типірування тканин. Нині діє номенклатура, що прийнята на Міжнародній робочій нараді з типірування тканин в Парижі (1996). Згідно означеної номенклатури виділяють:

специфічності, що виробляються локусом А: 1,2,3,9,10,11,19,23,24, 25,26,28,30,31,32,33,34,36,43,66,68,69,74;

специфічності, що виробляються локусом В: 5,7,8,12,13,15,16,17,18,21,22,27,35,37,38,39,40,41,42,44,45,46,47,48, 49,50,51,52,53,54,55,56,57,58, 59, 67,70,73;

специфічності, що виробляються локусом С: від Сw1 до Сw8 ;

специфічності, що виробляються локусом Dw: від Dw 1 до Dw26 ;

специфічності, що виробляються локусом DR: від DR1 до DR18 ;
специфічності, що виробляються локусом DP: від DP1 до DP6 ;
специфічності, що виробляються локусом DQ: від DQw1 до DQ w3.

Серологічне визначення HLA-антигенів на поверхні клітин здійснюють за допомогою наборів гістотипіруючих сироваток. Набори сироваток, які визначають антигени, що продукуються генами А, В та С локусів, повинні виявлять не менше 30 найпоширеніших і рідкісних антигенів системи HLA. Анти- HLA-антитіла є найчастішою причиною негемолітичних пострасфузійних реакцій та рефрактерності до алогенних гемокомпонентів. Природня анти- HLA- сенсibilізація виникає у жінок під час вагітності до алоантигенів плода. Частота алосенсibilізації при вагітності за даними різних авторів складає від 5 до 26%. У жінок, які мали понад 4 вагітності, часто формуються антитіла до одного чи декількох антигенів системи HLA гаплотипу людини. Велика вірогідність формування HLA-антитіл при призначенні гемотрансфузій.

Антигени гранулоцитів. Специфічні антигени гранулоцитів формують наступні антигенні системи: HNA1a, HNA1b, HNA1c (останній відкритий у 1999 р.), NB1, NC1, ND1, NE1 та HGA-3a, HGA-3b, HGA-3c, HGA-3d, HGA-3e, а також антигени GA, GB, GC та GR. Антигранулоцитарні антитіла можуть бути причиною різних клінічних гематологічних синдромів, зокрема, аутоімунної нейтропенії новонароджених, фебрильних реакцій при переливанні крові, ураження легень при гемотрансфузіях (TRALI синдром), аутоімунної нейтропенії.

Виконання комплексу серологічних проб на індивідуальну сумісність за алоантигенами лейкоцитів, тромбоцитів та імуноглобулінів є важливою ланкою імунологічного добору донора і реципієнта. Для означеної мети застосовують лімфоцитотоксичну реакцію, реакцію лейкоаглютинації і тромбоцитоаглютинації. Означені проби можуть здійснюватися у двох варіантах : дослідження сироватки реципієнта з клітинами крові донора або сироватки донора з форменними елементами реципієнта. Широке впровадження мають мікрометоди дослідження антигенної структури клітин, що дуже важливо при обстеженні пацієнтів з гіпоплазією кровотворення.

3.17.1. Визначення лейкоцитарних антигенів

Визначення лейкоцитарних антигенів проводять для оцінки гістосумісності донора та реципієнта при алогенних трансплантаціях кісткового мозку, для упередження пострасфузійних ускладнень при трансфузіях еритроконцентрата, гранулоцитів, концентрату тромбоцитів тощо. Для виконання лімфоцитотоксичного теста в мікротипі необхідно мати специфічні стандартні сироватки до різноманітних лейкоцитарних антигенів, завис лімфоцитів периферичної крові, фарбники – еозин або трипановий синій, комплемент (сироватка крові кролика), розчин Хенкса, фікол та верографін.

Методика отримання лімфоцитів у градієнті щільності. Градієнт щільності готують шляхом змішування 96 мл 9% розчину фікола та 40 мл 34% розчину верографіна. Щільність суміші має бути в межах 1,076 – 1,078.

Клітини для дослідження отримують таким шляхом. Кров з вени дефібринують і після цього змішують у рівних пропорціях із 0,9% розчином натрію хлориду. У пробірку вносять 2,5 мл суміші фікол-верографін, після чого обережно шляхом нашарування вносять 8 мл розведеної дефібринованої крові. Центрифугують проби 30 хв. при 1450 об/хв при температурі 18⁰ С. Після центрифугування із пробірки піпеткою забирають кільце, що утворилося на межі двох рідин. Саме тут знаходяться лімфоцити. Отриману суміш лімфоцитів двічі відмивають розчином Хенкса.

Приготування розчину фарбника. Робочий розчин трипанового синього (0,3%) готують шляхом змішування рівних частин 0,6% водного розчину означеного фарбника та гіпертонічного розчину фосфатного буфера рН = 7,8. Гіпертонічний фосфатний буфер отримують безпосередньо перед застосуванням, змішуючи в рівних пропорціях фосфатний буфер рН = 7,8 та 1,8% розчин натрію хлориду. Може використовуватись і 5% водний розчин еозину. Робочий розчин фарбника об'ємом 1 мкл додають до суміші клітин. Через 2-3 хв додають 8 мкл 17% формальдегіда. При використанні еозина лунки накривають покривним скельцем. Результати враховують використовуючи інвертований фазово-контрастний мікроскоп.

Методика отримання і зберігання комплемента. Найактивнішим комплементарним середовищем є пул сироваток кроликів. Для приготування комплемента необхідно взяти суміш сироваток крові 8-10 кроликів, яка на повинна містити ксено антитіл до лімфоцитів людини. Кров у кроликів отримують із сонної артерії. Після утворення згустка, кожний зразок крові центрифугують при 6000 об./хв. протягом 20 хв. Отримані сироватки змішують і розливають по 0,4 мл у поліетиленові пробірки і зберігають до моменту проведення досліджень при -196⁰ С. Повторне заморожування сироваток, що використовуються як комплемент є неприпустимим.

Техніка постановки лімфоцитотоксичної реакції мікрометодом. У лунки камери, де під шаром вазелінової олії знаходяться по 0,001 мл різних зразків стандартних НІА-сироваток, додають 0,001 мл приготованої суміші лімфоцитів. Суміш інкубують при 22⁰ С протягом 30-60 хв., після чого додають 0,0004 мл комплемента і продовжують інкубацію при тій же температурі протягом однієї години. Після інкубації додають 0,001 мл свіжоприготовленого 0,3% розчину трипанового синього і після інкубації протягом 3 хв. при кімнатній температурі вилучають надосадову рідину шляхом струшування. Результати реакції враховують безпосередньо в лунках камери при збільшенні мікроскопу 10x15. Результати реакції визначають за кількістю профарбованих лімфоцитів (клітини, що загинули) наступним чином: 0-10% (-) негативна реакція; 11-20% (+) слабо позитивна реакція; 21-39% (++) реакція позитивна; 40-79% (+++) реакція чітко позитивна; 80-100% (++++) реакція різко позитивна.

3.17.2. HLA-антигени і схильність до захворювань

На теперішній час доведено, що існує цілий ряд захворювань, які є HLA-залежними. Для пояснення механізмів включення антигенів комплексу HLA у розвиток патофізіологічних і аутоімунних процесів, патогенез захворювань висунуто ряд робочих гіпотез. Найпереконливішими є теорії молекулярної мімікрії, модифікації HLA-антигенів та подвійного впізнавання. Перша пояснює включення антигенів комплексу HLA у патогенез захворювань тим, що деякі мікроорганізми несуть поверхневі антигени, які ідентичні HLA-структурам живителя (хазяїна). Виникає явище толерантності і не відбувається розпізнавання збудника, розвивається захворювання. Згідно іншої теорії, імунна відповідь Т-кілерами у відповідь на модифіковані вірусом клітини відбувається тільки у випадку, коли клітини-кілери і клітини-мішені мають спільний набір H2-антигенів. Даний феномен назвали MHC-рестрикцією. Вірусний антиген може комбінуватися із антигенами головного комплексу гістосумісності. Згідно теорії подвійного розпізнавання, імунокомпетентні лімфоцити мають два різні рецептори – один для зовнішніх антигенів, а інший – для антигенів власного головного комплексу гістосумісності. Припускають, що *in vivo* спрацьовують обидва механізми: перший обумовлює аутоімунні захворювання, а інший – алогенну імунну відповідь.

На теперішній час включення HLA-антигенів у патогенез доведено для ряду захворювань, насамперед для антигену HLA-B27 і хвороби Бехтерева. Про це свідчать результати вивчення перехресно реагуючих детермінант між клебсіелою, яку виділено із організму хворих на хворобу Бехтерева, і антигеном HLA-B27. Отримані результати досліджень свідчать, що будова активної частини молекули HLA-B27 є аналогічною структурі бактеріального антигена (мімікрія), а це призводить до нерозпізнавання “чужого”.

У табл.10 наводимо перелік основних HLA-залежних захворювань.

Таблиця 10

Основні HLA-залежні захворювання (A. Svejgaard et al., 1983)

Захворювання	HLA-антиген	Частота, %		відносний ризик
		у хворих	у популяції	
Хвороба Бехтерева	B27	90	9,4	87,4
Синдром Рейтера	B27	79	9,4	37
Гострий передній увеїт	B27	52	9,4	10,4
Підгострий тиреоїдит	B35	70	14,6	13,7
Псоріаз	Cw6	87	33,1	13,3
Дерматит герпетиформний	D/DR3	85	26,3	15,4

Продовження таблиці 10

Целиакія	D/DR3,DR 7	79	26,3	10,8
Синдром Шегрена	D/DR3	78	26,3	9,7
Синдром Аддісона	D/DR3	69	26,3	6,3
Розсіяний склероз	B8	73	24,6	8,4
Системний червоний вовчак	B8	47	24,6	2,7
B-12-дефіцитна анемія	D/DR3	25	5,8	5,4
Лімфогранулематоз	A1	40	32	1,4
Ідіопатичний гемохроматоз	A3	76	28,2	8,2

Відомо, що механізми, які лежать в основі підвищеної імунореактивності у хворих із гаплотипом A1, B8, DR3, пов'язані із зменшенням активності Т-супресорів. Це спричинює виразну поліклональну відповідь на стимуляцію антигенами. Із антигенами HLA-A1, HLA-B8, HLA-DR3 асоціюється дисбаланс імунорегуляторних клітин, чим і пояснюють їх роль в основі патогенезу аутоімунних захворювань. На теперішній час вивчено як часто різні захворювання асоціюються із певним антигеном. Установлено, що із DR3 асоційовано 11 захворювань, із DRw8 – 19, DR2 – 4, DR4 – 5, DR5 – 5 тощо.

На теперішній час встановлено, що у осіб з певним HLA-фенотипом існує схильність до того чи іншого захворювання. Некоректно стверджувати, що HLA-система є єдиним визначальним чинником, що обумовлює підвищений ризик виникнення захворювань. У перспективі всеохоплюючі дослідження ідентифікації HLA-антигенів у населення дадуть можливість виявляти і формувати групи підвищеного ризику виникнення захворювань, що забезпечить профілактику їх виникнення.

3.18. Антигени тромбоцитів

На поверхні тромбоцитів розміщені антигени, що відносяться до різних клітинних антигенних систем – еритроцитарні, головного комплексу гістосумісності та власне тромбоцитарні антигени. Антигени тромбоцитів є мембранними комплексами глікопротеїдів (GP). Згідно нової класифікації власні антигени тромбоцитів об'єднані в систему HPA (Human Platelet Antigens). До недавня описано понад 20 систем специфічних тромбоцитарних антигенів. Найвивченішими є алоантигени перших п'яти локусів, а в загальну номенклатуру включені антигени перших десяти локусів. Антигени, які часто зустрічаються мають символ "a", а ті, що менш часто – символ "b". Поліморфізм HPA пояснюють замінами нуклеотида в молекулі ДНК. Так, антигени HPA-Ia і HPA-Ib відрізняються тим, що в 33 позиції білкової молекули антигена знаходиться амінокислота лейцин (антиген HPA-Ia), або пролін (антиген HPA-Ib). Це, в свою чергу, обумовлено тим, що в 196 позиції генного локуса молекули ДНК, який відповідає за появу антигена HPA-Ia може бути

тимін або цитозін (антиген HPA-Ib). Вважають, що найзначимішими серед антигенів тромбоцитів є наступні : GPIb/IX/V (CD42), GPIa/Iia (CD49b/CD29), GPIIb/IIIa (CD61/CD41). Несумісність за антигенами тромбоцитів між донором та реципієнтом викликає алоїмунізацію та розвиток таких ускладнень, як посттрансфузійна тромбоцитопенічна пурпура, рефрактерність до переливання тромбоцитів, фебрильні та анафілактичні реакції, шок та інші посттрансфузійні реакції негемолітичного типу. Із еритроцитарних антигенів на тромбоцитах представлені антигени систем АВ0, Lewis, Ii, P. Антигени системи АВ0, в основному, локалізуються на семи глікопротеїдних комплексах тромбоцита – GPIb, GPIIa, GPIIb, GPIIIa, IX, CD109, PECAM (CD31). Методами імунопреципітації було встановлено додаткову експресію A₁ антигена на GPIV та GPV. Думки що до походження антигенів системи HLA на тромбоцитах є неоднозначними. Одні дослідники вважають присутність антигенів системи HLA на поверхні тромбоцита наслідком їх абсорбції із плазми, а на думку інших – антигени системи HLA є міцно фіксованими до мембранних GPIIb/IIIa. Дані стосовно антигенів, що асоціюються з мембраною тромбоцитів наводимо в табл. 11.

Таблиця 11

Антигени мембрани тромбоцитів

Системи антигенів	Антигени
Еритроцитарні	A, B, H, Le, Ii, P
Головного комплексу гістосумісності	HLA : локусів A, B, C
Тромбоцитспецифічні (Human Platelet Antigens – система HPA)	HPA 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b, 4a, 4b, 5a, 5b, 6bw, 7bw, 8bw, 9bw, 10bw
Маловивчені	Va-a, Gov-a, Gov-b, Pl-T, Pe-a, Vis, Gro-a, Iy-a, Sit-a, Oe-a, Dy-a

3.18.1. Визначення антитромбоцитарних антитіл

Реактиви та обладнання : 5% розчин трилону Б (ЕДТА), 0,9% розчин натрія хлорида з 5% вмістом ЕДТА, силіконіровані пробірки, силіконіровані або пластикові піпетки, лабораторна центрифуга.

Хід постановки реакції. Завис тромбоцитів одержують наступним чином. Венозну кров стабілізовану 5% розчином ЕДТА у співвідношенні 1:9 центрифугують у силіконованій пробірці 5 хв. при 2000 об./хв. Отриману таким чином збагачену тромбоцитами плазму переносять у силіконовану пробірку і центрифугують 2 хв. при 3000-4000 об./хв. Осад тромбоцитів ресуспендують у ізотонічному розчині з 5% ЕДТА. Оптимальна концентрація тромбоцитів при цьому складає 300-500 тис. в 1 мм³. Сироватку крові хворого інактивують прогріванням при температурі 56⁰ С протягом 30 хв. До 20 мкл сироватки хворого додають по 20 мкл завису тромбоцитів і інкубують протягом 60 хв. при 37⁰ С. Після інкубації пробірки обережно струшують і

краплю суміші переносять до камери Горяєва. Здійснюють мікроскопію при збільшенні 10x10 та 20x15.

Наявність середніх і крупних (понад 20 пластинок) аглютинатів свідчить про наявність тромбоаглютининів у досліджуваній сироватці. Негативним контролем при постановці даного дослідження слугує донорська сироватка АВ(IV) групи, інактивована прогріванням, позитивним – сироватка хворого, яка містить сильні тромбоцитоаглютиніни.

3.19. Білковий склад та антигенні системи плазми крові

Плазма є рідкою частиною крові, що позбавлена клітинних елементів. У людини нормальний об'єм плазми складає близько 4% від загальної маси тіла (40-45 мл/кг). Компоненти плазми підтримують нормальний об'єм циркулюючої крові і її рідкий стан. Білки плазми визначають колоїдно-осмотичний тиск і баланс з гідростатичним тиском, а також беруть участь в підтриманні згортуючої системи згортання крові і фібринолізу. Плазма забезпечує баланс електролітів і кислотно-лужну рівновагу в організмі.

Плазма крові містить до 91-93% води та 7-9% сухого залишку. Останній приблизно на 80% складається із білків. Загальна кількість білків у плазмі здорової дорослої людини складає 70-85 г/л, а з віком зменшується до 65-75 г/л. На теперішній час у плазмі виявлено понад 100 генетично детермінованих білків, які відрізняються за своїми фізико-хімічними і функціональними властивостями. Серед них транспортні білки, проферменти, ферменти, інгібітори ферментів, фактори згортання та антикоагулянти, антитіла, антиоксиданти, гормони тощо. Застосовуючи метод висолювання нейтральними солями, білки плазми можна розподілити на три групи: альбуміни, глобуліни і фібриноген. Нормальний вміст альбумінів у плазмі крові становить 40-50 г/л, глобулінів – 20-30 г/л, а фібриногену – 2-4 г/л. Електрофоретичними методами досліджень доведено, що альбуміни та глобуліни складаються із декількох фракцій. Головними фракціями є альбуміни (54-58%), альфа-1-глобуліни (6-7%), альфа-2-глобуліни (8-9%), бета-глобуліни (13-14%), гамма-глобуліни (11-12%). Очищені білки плазми залежно від їх електрофоретичної рухливості та методу дослідження можна розділити на фракції – від п'яти до ста. Фракції білків, в основному, є гетерогенними за своїм складом. Застосування електрофорезу дозволяє виділити п'ять стандартних фракцій, за змінами показника вмісту яких можна оцінювати характер диспротеїнемії, використовувати для оцінки ефективності лікування та в діагностиці. За допомогою акриламідного гелю отримують двадцять дев'ять фракцій. Збільшення або зменшення показника вмісту загального білку плазми крові та окремих його фракцій може бути обумовлено багатьма причинами. Це стосується як кількісних так і якісних змін білків. Означені зміни не є специфічними, а відображають загальний стан організму, наявність патології, динаміку та ступінь важкості захворювання. Синтез білків здійснюється, в основному, в гепатоцитах та клітинах системи фагоцитуючих макрофагів.

3.19.1. Система імуноглобулінів

Сучасні уявлення про структуру імуноглобулінів базуються на видатних дослідженнях R.R. Porter, G.M. Edelman. Основна структура кожної молекули імуноглобулінів, як показали дослідження названих вчених, складається із однієї пари ідентичних важких поліпептидних ланцюгів (H-ланцюги) та однієї пари ідентичних легких поліпептидних ланцюгів (L-ланцюги), які за допомогою дисульфідних місточків і нековалентних зв'язків з'єднані один з одним. Молекула імуноглобуліну містить дві антигенпоєднувальні ділянки, кожна із яких розташована на поверхні молекули в заглибленні між кінцями варіабельних ділянок важких і легких поліпептидів. На сьогодні відомі 5 класів імуноглобулінів – G, M, A, D, E та систему комплементу. **Імуноглобуліни M** з'являються у відповідь на формування імунної реакції. IgM – це найбільш “ранні” із усіх класів Ig . IgM включають 2 субкласи – IgM₁ (65%) та IgM₂ (35%). Їх концентрація у сироватці крові коливається від 0,5 до 1,9 г/л, що складає 6% від загального вмісту Ig. За добу синтезується 3-17 мг/кг IgM, а період напіврозпаду складає 4-8 діб. Вони не проникають через плаценту, у плода синтезуються у відповідні терміни і беруть участь у антибактеріальному захисті. Вони проявляють бактерицидну активність проти грамнегативних мікроорганізмів та ізогемаглютенінів, нейтралізують віруси, активують комплемент. IgM відіграють провідну роль в елімінації збудників із кров'яного русла, у активації фагоцитозу. Значне підвищення рівня IgM спостерігається при ряді інфекцій як у дорослих так і дітей. Гіпер-IgM-емія може бути показником внутрішньоутробного зараження збудниками краснухи, сифіліса, токсоплазмоза, цитомегалії, трипаносомоза. IgM – це антитіла, які синтезуються на ранніх стадіях виникнення інфекційного процесу. Їх відрізняє висока активність у реакціях аглютинації, лізису, зв'язування ендотоксинів грамнегативних бактерій.

Імуноглобуліни G є основними сироватковими імуноглобулінами, що проявляють активність проти чисельних мікроорганізмів, вірусів, токсинів. IgG є мономерами, що включають 4 субкласи (IgG₁ – 77%, IgG₂ – 11%, IgG₃ – 9%, IgG₄ – 3%), які відрізняються один від одного за амінокислотним складом та антигенними властивостями. Їх вміст у сироватці крові коливається від 8 до 16,8 мг/мл, період напіврозпаду складає 20 – 28 днів. Протягом доби IgG синтезується від 13 до 30 мг/кг. Питома вага IgG у сироватці крові складає 80% від загальної кількості вмісту Ig. Антитіла субкласів IgG₁ та IgG₄ специфічно зв'язуються через Fc-фрагменти із збудниками (іmunне опсонування), а завдяки Fc-фрагментам взаємодіють із відповідними Fc-рецепторами фагоцитів (макрофагів, поліморфноядерних лейкоцитів), сприяючи тим самим фагоцитозу збудників. IgG₄ бере участь в алергічних реакціях і не здатний фіксувати комплемент. Антитіла класу IgG відіграють визначальну роль в гуморальному імунітеті при інфекційних захворюваннях. Вони здатні викликати загибель збудника за допомогою комплементу та опсонізуючи фагоцитарні клітини. IgG здатні проникати через плаценту та формувати антиінфекційний імунітет у

новонароджених, можуть нейтралізувати бактеріальні ендотоксини, зв'язувати комплемент, брати участь в реакції преципітації.

Імуноглобуліни А представлені антитілами, що виступають локально у молоці, слині, слюзах, бронхіальному секреті, слизовій кишечника, тобто IgA є секреторними Ig. Вони включають 2 субкласи: IgA₁ (90%) та IgA₂ (10%). Вміст IgA у сироватці крові складає від 1,4 до 4,2 г/л або 13% від загальної кількості Ig. Щоденно синтезується від 3 до 50 мг/кг IgA. Період напіврозпаду складає 4-5 діб. До складу IgA входить секреторний компонент, який складається із декількох поліпептидів, який підвищує стійкість IgA до дії ферментів. IgA є основним видом антитіл від яких залежить місцевий імунітет. Вони перешкоджають прикріпленню бактерій до слизової, нейтралізують ентеротоксин, активують фагоцитоз та комплемент.

Імуноглобуліни D знаходяться у крові у мікроконцентраціях і їх функціональна роль до кінця є невизначеною. Їх вміст у сироватці крові складає 0,03 – 0,04 г/л або до 1% від загальної кількості Ig. За добу їх синтезується у організмі від 1 до 5 мг/кг, а період напіврозпаду становить 2-8 днів. IgD виступають у реакціях спрямованих на блокування інших імуноглобулінів за конкурентним типом. Окрім означеного, IgD здатні нейтралізувати віруси і активувати комплемент. Плазматичні клітини, які секретують IgD, знаходяться переважно у мигдаликах, аденоїдній тканині. IgD виявляють на В-клітинах, в той же час вони відсутні на моноцитах, нейтрофілах та Т-лімфоцитах. Існує припущення, що IgD беруть участь у диференціюванні В-клітин, сприяють розвитку антиідіотипічної відповіді, забезпечують перебіг аутоімунних процесів.

Імуноглобуліни E виступають у ролі шкіросенсибілізуючих антитіл та беруть участь в алергічних реакціях. Діють IgE у дуже низьких концентраціях. IgE є мономерами, вміст яких у сироватці крові становить 0,00005 – 0,0003 г/л або 0,002% від загальної кількості Ig. За добу їх синтезується 0,02 мг/кг, а період напіврозпаду у сироватці крові складає 2-3 дні, а в шкірі – 9-14 днів. До IgE належить основна маса алергічних антитіл – реагінів. Вміст IgE значно підвищується у осіб, які потерпають від алергії, заражені глистами. IgE зв'язуються із Fc- рецепторами тучних клітин і базофілів. При контакті з алергеном утворюються місточки “IgE-антиген-IgE”, що супроводжується поступленням іонів кальцію у клітину-мішень, активізацією в ній біохімічних процесів і виділенням біологічно активних сполук., що викликають алергічні реакції негайного типу. Еозінофільний хемотаксичний фактор, що виділяють тучні клітини, сприяє акумуляції еозінофілів і деструкції гельмінтів. Існує припущення, що IgE, покриваючи паразита, акумулює макрофаги завдяки Fc-рецепторам цих клітин.

Основна маса IgM та IgD знаходиться у плазмі крові, а IgG та IgA розподілені рівномірно приблизно у однакових кількостях між плазмою та міжклітинною рідиною.

Визначення антитіл різних класів у сироватці крові має важливе значення для діагностики інфекційних процесів. Антитіла типу IgM з'являються в гострому періоді перебігу захворювання, а антитіла класу IgG – дещо пізніше за

термінами і тривалий час є присутніми у сироватці осіб, які перехворіли. Реакції взаємодії антитіл із збудниками, продуктами їх життєдіяльності або фрагментами та фракціями проявляється у вигляді різних феноменів – аглютинації, преципітації, нейтралізації, лізиса, цитотоксичності, зв'язування комплементу, опсонізації тощо. Переважна більшість означених ефектів зводиться до опсонізації збудника та посилення фагоцитозу. На названих феноменах базуються реакції визначення антитіл до конкретних видів збудників.

На сьогодні у людини відомо п'ять незалежних один від одного і від усіх інших генетичних маркерів крові генетично детермінованих імуноглобулінових систем:

система Gm (відкрита у 1956 р.); генетичний маркер гама-ланцюгів, тому поліморфізм системи може бути виявлений тільки в імуноглобулінових молекулах класу IgG.

Система InV (1961), яка була за пропозицією комітету ВООЗ у 1974 р. переіменована в систему Km. Ця система є генетичним маркером легких L-ланцюгів типу капа (χ), тому фактори цієї системи виявляються в усіх імуноглобулінових молекулах незалежно від їх класу та підкласу. InV скорочено від Inhibitor V., причому V – початкова буква прізвища людини, у котрої були виявлені антитіла невідомої раніше специфічності, що у подальшому було ідентифіковано як анти- InV. Назва Km запропонована від капа-ланцюгів.

Фактор Isf (1966), є генетичним маркером гама-1 (γ_1) поліпептидного ланцюжка, тому зустрічається тільки в IgG₁-молекулах.

Система Am (1969) є генетичним маркером альфа-2 (α_2) поліпептидних ланцюжків, тому генетичні фактори цієї системи можуть виявлятися тільки на молекулах імуноглобулінів підкласу IgA₂. Свою назву система Am отримала від alfa-chains marker.

Фактор Hv (1978) є генетичним маркером варіабельної частини важких H- поліпептидних ланцюжків імуноглобулінів класів IgG, IgM, IgA.

3.19.2. Маркери системи комплементу

Комплемент є збірним поняттям для позначення у організмах теплокровних комплексної системи протеїнів плазми, яка виконує для усіх видів єдину біологічну функцію. Комплемент є системою каскадно діючих високоєфективних протеаз, які послідовно активуються за рахунок відщеплення чи приєднання пептидних фрагментів, що в кінцевому результаті супроводжується бактеріолізісом чи цитолізом. В філогенезі система комплементу з'явилась раніше, ніж імунна. Установлено, що уже на 6-му тижні плод здатний синтезувати окремі компоненти системи, а з 10-го усі, хоча у малих кількостях. Із загальної кількості сироваткових білків на систему комплементу приходить 10%. Вона є основою захисних сил організму. Комплемент активізує фагоцитоз, здійснюючи пряму чи через антитіла опосередковану опсонізацію мікробів. Компоненти комплементу мають хемотаксичну

активність, беруть участь у регулюванні гуморальної ланки імунітету. Утворення компонентів комплемента відбувається переважно в печінці, кістковому мозку та селезінці, а C1, очевидно утворюється в епітелії тонкого кишечника. Певну роль у синтезі компонентів комплемента відіграють макрофаги, що є відображенням тісних взаємозв'язків між двома системами. Синтез компонентів комплементу відбувається дуже швидко (наприклад, C3 синтезується із швидкістю 0,5-1 мг білка/кг маси тіла за годину). Зменшення синтезу компонентів комплемента спостерігається при тяжких захворюваннях печінки, уремії, застосуванні високих концентрацій глюкокортикоїдів. Функціональні дефекти системи комплемента призводять до тяжких рецидивуючих інфекцій та патологічних станів, що обумовлені імунними комплексами. У гострих фазах запалення, при пухлинах, післяопераційному періоді активність комплемента є підвищеною (понад 60 СН₅₀ Е/мл). За багатьох захворювань оцінка комплементу не завжди є інформативною, але вивчення даної системи дозволяє зробити висновок щодо особливостей перебігу захворювання у даного хворого. Дослідження комплемента є обов'язковим за наявності в анамнезі частих бактеріальних інфекцій. Наприклад, системний червоний вовчак часто асоціюється з уродженими вадами системи комплемента. На сьогодні система комплемента представлена складним комплексом сироваткових білків, кількість яких становить близько 20. Існує генетичний поліморфізм компонентів систем комплемента. Кожний маркер системи комплемента має відповідне позначення. Так, наприклад, 11 класичних протеїнів комплемента у послідовному порядку активації можна представити таким чином: C1q, C1r, C1s, C4, C2, C3, C5, C6, C7, C8 та C9. До системи комплемента входять також компоненти активації відгалужень (альтернативний шлях) – пропердін, фактор В, фактор D та ряд контрольних протеїнів, зокрема, інгібітори та активатори класичних протеїнів комплемента.

3.19.3. Система альбуміну

У 1955 р. P.G. Scheuler вперше навів опис роздвоєності преципітаційної дуги альбуміна при дослідженні сироватки крові методом імуноелектрофорезу у агаровому гелі. Він означив дане явище як “бісальбумінемія”. У подальшому, в результаті впровадження нових електрофоретичних методів досліджень, було встановлено, що бісальбумінемія є генетично обумовленою спадковою домінантною ознакою. Окрім класичних варіантів сироваткового альбуміна (A), існують ряд атипових варіантів. Поява атипових варіантів альбумінів найчастіше обумовлена гетерозиготною генотипічною комбінацією за основним або звичним алелем, який реалізує появу нормального альбуміна А, та будь-якого атипового алеля у генному локусі цієї системи. Такі атипові варіанти альбуміна отримали назву подвійної альбумінемії або бісальбумінемії. За пропозицією В.С. Blumberg та співавт. (1968) усі атипові генетично детерміновані форми альбумінів, включаючи бісальбумінемію із незвичайними додатковими компонентами, назвали алоальбумінемією, що більше відповідає їх генетичній природі. На сьогодні відомо понад 30 генетично детермінованих варіантів альбуміна.

3.19.4. Система α 1-антитрипсину (система Pi)

α 1-антитрипсін є глікопротеїдом сироватки крові людини, який пригнічує активність трипсина та інших протеолітичних ферментів (Protease inhibitor, Pi). Система α 1-антитрипсину було відкрито у 1963 р. С.-В. Laurell, S. Eriksson. Дані автори обстежували хворих із зменшеною концентрацією α 1-антитрипсина у сироватці крові. Було встановлено, що означений феномен є генетично детермінованим. Концентрація α 1-антитрипсина у сироватці крові людини коливається у межах 2-4 г/л, а молекулярна маса складає близько 50000. На сьогодні, за допомогою методів електрофорезу та ізоелектрофокусування, які дозволяють здійснити розподілення α 1-антитрипсина на підтипи, відкрито чисельні фенотипи та алелі системи Pi (близько 50). Вони мають позначення: M – тип нормального α 1-антитрипсину, що найчастіше зустрічається (фенотип MM), від B до L – різноманітні алотипічні варіанти, протеїнові фракції яких при ізоелектрофокуванні розміщуються попереду (анодніше) протеїнових компонентів звичайного фенотипу MM; від N до Z – різноманітні алотипічні варіанти, протеїнові фракції яких при ізоелектрофокуванні розміщуються позаду (катодніше) протеїнових компонентів звичайного фенотипу MM.

3.19.5. Система гаптоглобіну

Сироватковий білок гаптоглобін (Hp) – є складним за структурою білком четвертичної будови, основна функція якого полягає у зв'язуванні вивільненого у разі фізіологічного або патологічного гемолізу гемоглобіна. Гаптоглобін був відкритий в 1938 р. М. Polonovski, M.F. Jayle при вивченні ними пероксидазної активності гемоглобіна крові людини. У 1947 р. M.F. Jayle, P. Gillard встановили неоднорідність типів гаптоглобіна. Але тільки після розробки O. Smithies у 1955 р. нового методу зонального електрофореза, що дозволяв вибірково виділити три електрофоретично відмінні типи гаптоглобіна. У цьому ж році O. Smithies, N.F. Walker було доведено генетичну детермінованість та поліморфізм системи гаптоглобіна. Гаптоглобіни є α 2-глікопротеїнами. Їх середня концентрація у сироватці крові становить приблизно 1 г/л. Гаптоглобіни складають 25-30% від загальної фракції α 2-глобулінів та 1-2% від загальної кількості білка у сироватці крові. Концентрація гаптоглобіна у нормальній сироватці людини значно коливається і залежить від його генетично детермінованого фенотипа. Майже у 90% новонароджених у сироватці крові гаптоглобін не виявляється (так звана фізіологічна агаптоглобінемія, Ahp), однак вже через місяць (3-4 тижні) життя немовляти у сироватці його крові виявляють не тільки сам гаптоглобін, а навіть можна ідентифікувати його тип. На сьогодні система гаптоглобіну налічує три основні фенотипічні варіанти (Hp 1-1, Hp 2-1, Hp 2-2) та понад 20 різноманітних генотипічних варіантів. Продовжується вивчення фізіологічних функцій гаптоглобіна.

3.19.6. Система ліпопротеїдів

Ліпопротеїди (LDL) є складними білками, в яких простетичною групою виступають вільні жирні кислоти, нейтральні жири, фосфоліпіди, холестерин або його ефіри. Ліпопротеїди виконують різні біологічні функції. Насамперед вони входять до складу клітинних мембран і мембран ядер, мітохондрій і мікросом. У вільному стані ліпопротеїди знаходяться у плазмі крові, де виконують транспортну функцію, переносячи ліпіди з кишечника до місця їх метаболізму чи депонування. Ліпопротеїди за структурою є специфічними глобулами, діаметр яких зменшується із збільшенням їх густини. Їхнє ядро має неполярні ліпіди (естерифікований холестерин, триацилгліцериди). Ядро оточене оболонкою, що містить фосфоліпіди, вільний холестерин та особливі білки. Білки, що входять до складу ліпопротеїдів, одержали назву апопротеїдів. На сьогодні відомо 8 апобілков, що переносять сигнали, регулюють надходження відповідних ліпідів у специфічні тканини-мішені і вихід ліпідів з цих тканин. Гідрофільна оболонка ліпопротеїдів забезпечує їх розчинність у водному середовищі. У плазмі крові виділено декілька класів ліпопротеїдів: хіломікрони, ліпопротеїди дуже низької густини, ліпопротеїди низької густини, ліпопротеїди високої густини. Хіломікрони утворюються в слизовій оболонці тонкого кишечника. Це великі в діаметрі і з найменшою густиною ліпопротеїди, ядро яких складається виключно із триацилгліцеридів (до 98%) і тільки до 2% складають білки. Хіломікрони через великі розміри не спроможні проникати у кровоносні капіляри, тому дифундують у лімфатичні капіляри кишечника і через його лімфатичну систему потрапляють у судинне русло. Хіломікрони транспортують ліпіди з кишечника до печінки, жирової тканини тощо. Вони гідролізуються на поверхні жирових клітин за участю ліпопротеїдліпази. Частина жирних кислот, що звільнилась, проникає в клітини жирової тканини і включається в метаболізм чи накопичується, а решта – у складі ліпопротеїдів переноситься в інші органи і тканини. Ліпопротеїди дуже низької густини синтезуються в слизовій кишечника та гепатоцитах. Ліпопротеїди дуже низької густини виконують транспортну функцію для тригліцеридів, холестерину та фосфоліпідів. Ліпопротеїди низької густини синтезуються в плазмі крові і переносять, в основному, холестерин, вміст якого в цих ліпопротеїдах сягає до 50%. Ліпопротеїди високої густини – багаті білками і переносять, в основному, фосфоліпіди і холестерин. Ліпопротеїди високої густини є регуляторами біосинтезу холестерина в цих тканинах. В ендотелії капілярів міститься фермент ліпопротеїдліпаза, яка розщеплює ліпопротеїди дуже низької густини та холестерин, при цьому звільнюються триацилгліцериди, а ліпопротеїди дуже низької густини перетворюються в ліпопротеїди низької густини або в ліпопротеїди високої густини. Продукти гідролізу ліпопротеїдів потрапляють у клітини, де метаболізуються. Ліпопротеїди низької густини та ліпопротеїди високої густини шляхом ендцитозу поглинаються клітинами печінки, жирової тканини, кори наднирникових залоз і у лізосомах клітин означених тканин обмінюються.

На сьогодні відомо три генетично обумовлені системи LDL: системи Ag, Lp та Ld. Антигени систем Ag та Ld виявляють за допомогою гомологічних антитіл, наприклад ізоантитіл, а антигени системи Lp виявляють за допомогою гетероімунних сироваток, які містять антитіла анти-Lp. Із трьох означених ліпопротеїнових систем, найбільший практичний інтерес представляє система Ag, оскільки вона найкраще демонструє достовірно незалежний від інших систем генетичний поліморфізм алотопічних маркерів ліпопротеїдів.

Система Ag була відкрита в 1961 р. коли А.С. Allison, В.С. Blumberg виявили у сироватці крові одного пацієнта, який в анамнезі мав чисельні переливання крові, незвичні преципітуючі ізоімунні антитіла, які є преципітинами. На сьогодні відомо натупні фактори системи Ag: Ag(a), Ag(b), Ag(x), Ag₁ (a₁), Ag(z), Ag(t), Lp^{Nuoro}, Ag(y), Ag(r), Ag(c), Ag(e), Ag(m), Ag(g), Ag(d), Ag(f) та Ag(I). Генетична система Ag із її генетично детермінованим “парноалельним” поліморфізмом п’яти тісно зчеплених один із одним генних локусів за своєю складністю та поліморфізмом цілком може бути співставлена із генетичними системами резус або Gm.

Система Lp. У 1963 р. К. Berg із співавт. повідомили про відкриття у сироватці крові людини нового β-ліпопротеїнового фактора, який назвали фактором Lp(a). Означений фактор виявлявся імунодифузним тестом за допомогою преципітуючою гетероімунною антисироваткою кролика, яку отримують шляхом імунізації кроликів ізольованим β-ліпопротеїном із сироватки крові людини із наступною абсорбцією.

Система Ld. Система низькомолекулярних ліпопротеїдів, які формують систему Ld, була відкрита К. Berg в 1965 р. У сироватці крові хворого на гемофілію, який отримував чисельні гемотрансфузії, були виявлені незвичайні ізопреципітини, які в імунодифузному тесті Ouchterlony реагували з близько 42% сироваток крові здорових осіб. Фактор, який виявляли означеними ізопреципітинами, було названо Ld(a). Антитіла анти- Ld(a) відносять до ізотипового класу імуноглобулінів. Вони реагують як холододі преципітини.

3.19.7. Система трансферину

Трансферин виконує функцію білка-носія заліза у плазмі крові. Це глікопротеїд із електрофоретичними властивостями β-глобуліна, який здатний зв’язувати 2 атоми заліза в фері-формі. Трансферин здійснює доставку заліза до всіх клітин, насамперед, до кісткового мозку, де в мітохондріях еритроїдних клітин здійснюється синтез гема, а в мієлоїдних, окрім того, синтезуються значні кількості лактоферину. Тобто, трансферин є білком, основною функцією якого є зв’язування заліза і його транспорт до місць депонування або утилізації для забезпечення потреб організму.

Структура, функції, клінічне значення трансферина. Трансферин є глікопротеїдом з молекулярною масою 90 кД і уявляє із себе двохдоменну молекулу, яка містить двохланцюгову гліканову частину. Молекула трансферина має два металозв’язувачі центри (сайти) і здатна, окрім заліза, зв’язувати іони інших металів - цинку, кобальту, галію, алюмінію, тощо. Ця

здатність трансферина останнім часом використовується для транспорту радіонуклідів в клітини пухлин. Відстань між металозв'язуючими центрами в молекулі трансферина людини складає близько $3,55 \pm 0,45$ нм. Здатність зв'язувати залізо у трансферина проявляється у присутності аніонів. Установлено, що зниження активності зв'язувати залізо відбувається при окисленні тирозинових залишків у молекулі трансферина. Дільниці зв'язування металу в молекулі трансферина розміщені приблизно на 1,7 нм нижче зовнішньої поверхні молекули. Спорідненість до Fe^{3+} у трансферина значно вища, а ніж до Fe^{2+} . Перш ніж включиться залізо до складу трансферина, за участю останнього відбувається його окислення. Спочатку трансферин зв'язує аніон, як правило, це HCO_3^{3-} - потім відбувається абсорбція Fe^{2+} і його окислення в присутності молекулярного кисню, і, як наслідок, утворюється комплекс Fe^{3+} - ТФ - CO_3^{3-} . Послідовність зв'язування заліза може бути і дещо іншою: Fe^{2+} - аніон і потім Fe^{3+} - трансферина. У нормі в організмі трансферин представлений однією ізоформою. Для передавання заліза акцепторним клітинам трансферин зв'язується зі своїм рецептором CD71 на поверхні клітини, а потім здійснюється ендоцитоз молекули трансферина і рецептора. Комплекси трансферин-CD71 збираються і накопичуються в рециркулюючих везикулах. Ця властивість трансферина і його рецептора використовується останнім часом для цілеспрямованого транспорту лікарських засобів в клітини. Залежно від насичення залізом, виділяють такі форми трансферина: апо-трансферин, трансферин-(Fe) та трансферин-(Fe)₂. У стані фізіологічної рівноваги у здорової людини в плазмі крові міститься 39,2% - апо-трансферина, 11,2% - С-кінцевого трансферина - (Fe), 22,9% - N-кінцевого трансферина (Fe) та 26,7% - трансферина-(Fe)₂.

Вивільнення заліза із трансферина потребує присутності аніонів, які зв'язуються із спеціальними аніон зв'язуючими дільницями молекули трансферина. Відбувається протонування аніону, що і ініціює вивільнення заліза з молекули трансферина. Відомо, що С - сайт на С - кінці молекули трансферина втрачає залізо повільніше, а ніж N - сайт на N- кінці. Аніони, які беруть участь в процесі вивільнення заліза із молекули трансферина представлені, в основному, HCO_3^- та H_2PO_4^- . На сьогодні відомо, що механізми взаємодії трансферина з CD71 та комплексу ТФ-CD71 з клітиною є дуже складними, як і процеси взаємодії трансферина з різними внутрішньоклітинними структурами.

Синтез трансферина здійснюють всі клітини, але в найбільшій кількості його синтезують гепатоцити, ентероцити та клітини кісткового мозку, у певних кількостях - нейрони і олігодендроґлія, лімфоцити. Регулювання синтезу трансферина в лімфоцитах людини здійснюється гама-інтерфероном, інтерлейкінами - 1, - 2, - 6 та фактором некрозу пухлин. Гени, що відповідають за експресію CD71, мають також унікальні механізми регуляції. В процесі гемопоезу ці гени відіграють суттєву роль в експресії антигенів, пов'язаних з клітинною проліферацією. Тому CD71 можуть виступати як мішені при терапії різних лімфопрліферативних захворювань. Імунологічно виділяють три групи ТФ за антигенною структурою (А, В, С) та 6 підгруп (a1, v1, v2, v3, v4, c).

Різновидності молекул трансферина формують білкову антигенну систему сироватки крові - систему трансферина.

Властивість трансферина зв'язуватись не тільки із залізом, а й з іншими металами, дозволяє все ширше його використовувати для прицільної терапії певних процесів. Так, галій має імуносупресорні властивості і пригнічує макрофагальні функції, а введений в макрофаги в комплексі з трансферином також впливає на їх імунні функції, що дозволяє розробляти нові підходи до лікування захворювань сполучної тканини. Галієві комплекси з трансферином виявились ефективними у лікуванні хворих дрібноклітинною карциномою легень, сечового міхура, лімфомами. Модуляція трансферина Al^{3+} , дозволяє отримувати комплекси, що ефективні при лікуванні пухлин із остеобластоподібних клітин. Створення нових сполук - комплексів з трансферином є перспективним в лікуванні онкозахворювань.

У хворих на хронічний алкоголізм виявляють незвичні варіанти будови трансферина, вони або не мають гліканового ланцюжка, або ж він знаходиться в дефектному стані. Трансферин хворих на алкоголізм містить у своєму складі менше сіалових кислот - 23,7 нмоль/мг проти 30,4 нмоль/мг у здорових. У частини хворих на алкоголізм трансферин частково представлений асіало - трансферином. Названі дефектні форми трансферина є маркерами алкоголізму і хронічної алкогольної залежності. Їх наявність пояснюють порушенням синтетичної функції печінки при алкоголізмі.

Біологічна функція трансферина полягає не тільки у зв'язуванні і транспортуванні заліза, а і посиленому накопиченні його у разі надлишку останнього. Перенавантаження залізом є токсичним для організму. Гігієністи на сьогодні розглядають залізо як малотоксичну хімічну сполуку, що має слабкофіброгенну та слабкоподразнюючу дію. Залізо і його оксиди відносять до III та IV класів небезпеки за гігієнічною класифікацією. Довгий час в медичній літературі проблемі заліза приділяли увагу, в основному, в зв'язку з його дефіцитом. Як свідчить аналіз літератури останніх років, значно зростає інтерес до метаболізму цього металу і чинників які його супроводжують, в умовах надмірного накопичення і хвороб, пов'язаних з перегрузкою залізом. Виходячи із основної біологічної дії трансферина, йому належить не остання роль в патогенезі цих порушень. Є очевидним, що при різного роду імунних процесах і інфекціях для забезпечення функціонування систем клітинного і гуморального імунітету потрібна певна кількість заліза, насамперед, в системі фагоцитуючих макрофагів. Враховуючи, що трансферин є переносником заліза, його слід розглядати як один із факторів неспецифічної резистентності організму.

Трансферин є ростовим фактором. Без нього не відбувається ріст більшості клітинних культур *in vitro*. Трансферин виявився селективним ростовим фактором таких пухлин як рак простати і дрібноклітинний рак легень.

Генний локус системи трансферина розміщений на 3-й хромосомі. На сьогодні ідентифікована структура гена рецептора трансферина.

Співвідношення показника вмісту заліза у сироватці та загальної залізов'язуючої здатності сироватки крові характеризує насичення трансферина залізом (норма 16-50%). При залізодефіцитній анемії даний

показник зменшується. Вміст трансферина у сироватці крові здорових осіб складає 2-4 г/л, або 23-45 мкмоль/л, показник збільшується при залізодефіцитній анемії.

Таким чином, трансферин відіграє суттєву роль у регуляції метаболічних процесів організму в цілому. Крім залізов'язуючої і транспортної функції, доведена його роль у імунних реакціях, процесах клітинної проліферації, протипухлинному імунітеті.

3.19.8. Система глікопротеїну Gc

Фактор Gc (Group-specific component, протеїн, Gc) - є глікопротеїном, що має молекулярну масу 50800. Вміст вуглеводів у молекулі становить 4,2% молекулярної маси. Середня концентрація фактора Gc у сироватці крові складає 0,4 г/л. Тривалий час функція глікопротеїна Gc, відкритого J. Hirschfeld ще в 1959 р., залишалась невстановленою. У 1975 р. S.P. Daiger et al. установили, що сироватковий глікопротеїн Gc має здатність зв'язуватися із вітаміном D (фракцією D₃ та 25-ОН-D₃), сприяючи транспортуванню означеного вітаміна в крові. У зв'язку із такою біологічною функцією глікопротеїна Gc, його ще називають “протеїн, що зв'язує вітамін D”. Клінічне значення цього генетично поліморфного протеїна, що зв'язує вітамін D, не встановлено, але відомо, що як основні типи, так і основні підтипи глікопротеїна Gc у однаковій мірі мають спорідненість до вітаміна D. На сьогодні виділяють 84 різноманітних фенотипи системи Gc: 59 варіантів Gc1, із яких 22 є варіантами Gc1A та 37 – Gc1C; 25 варіантів Gc2, із яких 14 є Gc2A та 11 – Gc2C. До моменту народження у плода існує повна онтогенетична сформованість підтипів Gc у сироватці крові, що має значення при проведенні судово-медичних експертиз спірного батьківства.

3.19.9. Маловивчені та непідтверджені з точки зору генетичного поліморфізму сироваткові протеїни

До маловивчених та непідтверджених з точки зору генетичного поліморфізму сироваткових протеїнів належать: феритин, церулоплазмін, орозомукоїд, α₂-макроглобулін, α₂-HS-глікопротеїн, транскобаламін II, плазміноген, фактор згортання XIII (FXIII), тироксинзв'язуючий глобулін (TBG), β₂-глікопротеїн (Bg). Оскільки на сьогодні генетичний поліморфізм означених сироваткових протеїнів вивчається, ми докладно не будемо викладати гіпотетичні дані про той чи інший протеїн. Зупинимось більш детально тільки на опису феритину, фізіологічна роль та клінічне значення якого найбільше вивчені.

Депонування заліза здійснюється білками феритином і гемосидерином. Існує ціле сімейство тканиноспецифічних феритинів. Феритинова форма зберігання заліза забезпечує його депонування, реутилізацію, а також в незначній мірі - циркуляцію. Із феритинової форми залізо здатне активно мобілізуватись. У найбільших кількостях феритин міститься у макрофагах кісткового мозку, селезінки, печінки і сидеробластах. За наростаючого дефіцита

заліза кількість гранул феритина у клітинах зменшується, аж до повного їх зникнення. Із феритина залізо здатне дуже швидко мобілізуватись для потреб організму. У разі надлишку заліза в організмі феритин перетворюється у гемосидерин. Гемосидерин є малорозчинним комплексом кристалів заліза, який не вкритий білковим шаром, містить відносно небагато залишків денатурованого феритина, а також ліпіди. Гемосидерин виявляють в макрофагах і інших клітинах. Мобілізація заліза із гемосидерину відбувається повільно.

Рівень феритину у сироватці розглядають як показник запасів заліза в організмі. Феритин є білком четвертичної структури, молекула якого складається із сферичної частини - апоферитину і центральної порожнини, що містить залізо. Апоферитин є симетричним сферичним білком, що утворений 24 субодинами, які оточують центральну порожнину. Зовнішній діаметр молекули апоферитину має розмір 130 \AA , а внутрішній - 80 \AA . Особливістю четвертинної будови апоферитину є наявність в структурі шести пор - отворів діаметром 10 \AA через які можуть вільно проходити дрібні молекули. Залізо, що поступає всередину молекули апоферитину є двовалентним (Fe^{2+}) і спочатку зв'язується із карбоксильними групами залишків глютамінової кислоти в ділянках між субодинами апоферитину, потім окислюється до трьох валентного (Fe^{3+}), яке і залишається зв'язаним із білком. Fe^{2+} , що поступає в середину молекули апоферитину, існує у вигляді гексагонального кристалу феригідрату ($5\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$). Для приєднання заліза до білка і перетворення його в Fe^{3+} необхідний молекулярний кисень. Феритин у цій реакції відіграє роль оксидази і переносить електрон із відновленого заліза Fe^{2+} на кисень, утворюючи окислене залізо Fe^{3+} . Спочатку накопичення заліза в середині молекули апоферитину відбувається шляхом приєднання його іонів до вже утвореного кристалу. По мірі росту кристалу швидкість включення до нього заліза зменшується. У стані фізіологічної рівноваги вміст заліза в молекулі феритина складає понад дві тисячі атомів, що становить тільки половину її потенційної ємності. Інгібують включення заліза до феритина коливання рН, температури, іонної сили та наявність іонів цинку (Zn^{2+}). Останній діє шляхом конкуренції за ділянки зв'язування двовалентних металів на внутрішній поверхні білкової оболонки. Білкова оболонка феритина - апоферитин - як уже вказувалось, складається із 24 субодинами, які бувають двох видів. Субодинами мають неоднакову молекулярну масу, розчинність, різні антигенні, імунологічні та ізоелектричні характеристики. У різних співвідношеннях субодинами можуть бути присутні в одній молекулі феритина. Синтез Н- та L-субодинами генетично детермінований і регулюється різними генами. Різні кількісні сполучення Н- та L-субодинами утворюють велику гетерогенність ізоферментів, тому кожний орган містить специфічний тільки для нього ізофермент із певним співвідношенням Н- та L-субодинами. Серце, плацента, злоякісні пухлини, фетальні тканини містять ізоферменти, в структурі яких переважають Н-субодинами. Феритин печінки і селезінки, навпаки, має переважно L-субодинами. Амінокислотний аналіз субодинами показав значну спільність їх складу, але встановлено, що L-субодинами містить більше

лейцину, фенілаланіну та аргініну. Органоспецифічність молекулярної структури феритина, забезпечує виконання ними специфічних функцій. Основною функцією феритина вважають зв'язування і накопичення (депонування) заліза у фізіологічно доступній, нетоксичній для організму формі. Ця функція феритина є добре вивченою. Вона забезпечує, в разі потреби, мобілізацію заліза для синтезу гемоглобіну, інших геммістких і негемових залізомістких сполук. Основну заліздепонує функцію в організмі виконує феритин печінки. Феритин слизової оболонки тонкого кишечника відповідає за перенесення заліза, що всмокталось в ентероцити, до трансферина плазми. Феритин системи фагоцитуючих макрофагів абсорбує залізо, що вивільняється після деструкції еритроцитів і залізомістких сполук, для процесів його реутилізації. Плацентарний феритин здійснює абсорбцію і перенесення заліза з материнського трансферину до фетального. Слід особливо підкреслити, що передавання заліза від вагітної жінки плоду відбувається проти градієнта концентрації. Трансплацентарний транспорт заліза є активним процесом і відбувається тільки в одному напрямку - від матері до плода. Це призводить до того, що уже після 37 тижня гестації рівень сироваткового заліза і феритину у плода вищий, ніж у матері.

Феритин еритроїдних клітин-попередниць забезпечує адекватне поступання заліза для потреб гемопоезу, а феритин селезінки виконує депонуючу роль і забезпечує віддачу заліза трансферину плазми.

Синтезується феритин клітинами печінки, селезінки, кісткового мозку, тонкого кишечника, підшлункової залози, нирок, легень, щитовидної залози, плаценти а також лейкоцитами. Синтезований в різних органах феритин використовується ними для забезпечення функцій, однак, у невеликих кількостях він поступає в плазму крові. У клінічній практиці показник вмісту феритина широко використовують для оцінки депонування заліза. Вміст феритину у сироватці здорових людей є наступним: у чоловіків – 15 – 200 нг/мл, жінок – 12 – 150 нг/мл, немовлят – 25 – 250 нг/мл, у дітей віком 1 міс. – 200-600 нг/мл, 2-5 міс. – 50-200 нг/мл, 6 міс. – 16 років – 12 - 140 нг/мл. Загальновідомо, що зменшення рівня феритина в сироватці крові є ранньою ознакою латентного дефіцита заліза. У комплексі із змінами інших параметрів заліза він може свідчити за наявність залізодефіцитної анемії. Різде зростання концентрації феритина в сироватці крові може бути ознакою гемохроматозу чи посттрансфузійного гемосидерозу. Останнім часом рекомендують обов'язково визначати базисний рівень феритина перед призначенням лікування залізодефіцитних станів, і слідкувати за його динамікою в процесі лікування. Відновлення рівня феритина в сироватці свідчить про насичення депо залізом і є сигналом для переходу від терапевтичних до підтримуючих доз заліза або проведення профілактичного лікування. Цей захід упереджає появу синдрому перенавантаження залізом. Нормальний рівень феритина у сироватці крові за наявності сидеропенічного і анемічного синдромів може свідчити про порушення процесів утилізації заліза в еритроїдних клітинах-попередниках.

Рівень феритину у сироватці крові є важливим показником для оцінки метаболізму заліза в організмі донорів. При нерегламентованій участі у

донорстві може виникати латентний дефіцит заліза і формуватись анемічний синдром. Тому у разі допуску до донорства слід орієнтуватись не стільки на показники гемоглобіну і еритроцитів, скільки на рівень феритина.

Останнім часом виявлені інші фізіологічні функції феритина, які безпосередньо не пов'язані із обміном заліза. Феритин може здійснювати цитотоксичний ефект по відношенню до ряду клітин, насамперед, мієлоїдних попередниць гранулоцитів, моноцитів. Встановлено, що процеси мієлосупресії скорельовані з активізацією синтезу Н-субодиниць на рівні геному. Н- феритин здатний здійснювати блокування проліферації, як мієлоїдних так і лімфоїдних клітин. Існує думка, що цей процес може мати захисне значення для упередження злякисного росту. Механізм пригнічення феритином проліферації клітин пов'язують з його ферооксидазними властивостями. Процес окислення заліза з Fe^{2+} до Fe^{3+} супроводжується перенесенням електрона на молекулярний кисень, утворенням різних радикалів кисню, які є цитотоксичними агентами. Інгібування проліферації відбувається на рівні S-фази клітинного циклу. Цікаво, що феритин супресує нормальні мієлоїдні клітини-попередниці і не супресує клітини-попередниці хворих на лейкози. L-субодиниці феритину не мають ферооксидазних і мієлосупресорних властивостей. Їм приписують функції стабілізаторів структури феритина. *In vitro* Н-ізоформа феритина інгібує Т-розеткоутворення, міграцію і бласттрансформацію лімфоцитів, стимульовану фітогемаглютиніном. Існує думка, що всі перераховані ефекти реалізуються через поверхневі специфічні рецептори цитолемі лімфоцитів, спрямовані на взаємодію з феритином.

Рівень феритину значно зростає при гострих запальних процесах, а також в період після інфікування вірусом набутого імунodefіциту. Таким чином, феритин можна розглядати, як гострофазний протеїн, що має виразні цитотоксичні і цитотропні властивості. Є дані і стосовно цитопротекторних властивостей феритина. Феритин в силу своїх унікальних біохімічних властивостей залучається до широкого спектру метаболічних процесів. Він пов'язаний взаємодією із фактором некрозу пухлин, речовиною, яка виділяється клітинами в результаті дії вірусів, інтерлейкінів, іонізуючого випромінення тощо. Відомо, що фактор некрозу пухлин запускає синтез Н-субодиниць феритину в клітинах, що може розцінюватись як компенсаторно-пристосовна реакція для погашення окислювального стресу.

Рівень феритина у сироватці крові збільшується при наявності різного типу пухлин в організмі: раку яєчників, простати, підшлункової залози, легень, прямої кишки, гепатоцелюлярній карциномі тощо. Є дані, що рівень феритина зростає при лімфогранулематозі, лімфомах, гострих лейкозах, хронічному мієлолейкозі, мієломній хворобі. Перевищення рівня феритина у сироватці крові понад норму при цих захворюваннях сягає навіть в 5-7 разів. Концентрація феритина підвищується і при різних захворюваннях печінки (гепатити, цироз тощо), що супроводжуються деструкцією гепатоцитів. При цьому феритин безпосередньо вивільняється із клітин печінки, яка є основним його депо.

Отже, підвищення вмісту феритина у сироватці крові може бути як онкомаркером, так і ознакою захворювання печінки. Визначення рівня феритина у сироватці крові має важливе діагностичне і диференційно-діагностичне значення і може використовуватись як критерій адекватності лікування у разі залізодефіцитних станів.

Таким чином, у даному розділі нами розглянуто індивідуально специфічні антигенні системи крові людини. Поряд із видоспецифічними, специфічними для певного періоду розвитку людини, органоспецифічними антигенами, індивідуально специфічні антигени (алоантигени) визначають біологічну індивідуальність організму.

Розділ 4

ІМУНОГЕМАТОЛОГІЯ ТРАНСФУЗІЙ

ГЕМОКОМПОНЕНТІВ І ЗАСТОСУВАННЯ ПРЕПАРАТІВ КРОВІ

Трансфузійна терапія є одним із поширених методів лікування різноманітних станів та захворювань. Хворі, як правило, потребують замісної терапії лише для компенсації функції окремої ланки порушень гемопоезу чи кількісних змін складу периферичної крові, для чого застосовують відповідні компоненти крові. Проблема компонентної терапії складається із чотирьох глобальних розділів: визначення чітких і виправданих показань до її призначення; отримання необхідних фракцій крові; забезпечення максимального тривалого терміну морфологічної і функціональної повноцінності перелитих клітин в організмі реципієнта, профілактику алосенсibiliзації і посттрансфузійних реакцій. Правильна тактика компонентної гемотрансфузійної терапії забезпечує максимальну її ефективність, безпеку, раціональне використання наявних ресурсів компонентів крові. Доцільним є збільшення застосування у клінічній практиці комбінованих гемотрансфузійних середовищ на основі еритроцитів і кровозамінників, компонентів і рекомбінантних препаратів крові. Важливим розділом проблеми гемокомпонентної терапії є застосування концентрату гранулоцитів. Останнім часом все ширше застосовується концентрат тромбоцитів. Разом з тим глибина розуміння біологічних механізмів впливу перелитих компонентів на організм, тих зрушень, що відбуваються в організмі при проведенні трансфузій, значно відстає від рівня практичного застосування компонентів і препаратів крові.

4.1. Переливання еритроцитарних трансфузійних середовищ

4.1.1. Характеристика середовищ, що містять еритроцити та особливості їхнього призначення

«Еритроцити» – компонент донорської крові, отриманий з консервованої крові методами первинного фракціонування без наступної переробки з видаленням більшої частини плазми.

Об'єм однієї дози становить (280±50 мл), вміст гемоглобіну не менше 45 г/дозу, гемоліз – менше 0,8% маси еритроцитів наприкінці терміну зберігання. Гематокрит компонента становить 0,65–0,75 л/л.

«Еритроцити відмиті» – еритроцити з видаленням залишків плазми, антикоагулянту, електролітів, лейкоцитів і тромбоцитів шляхом використання розчинів для відмивання, мануальним або апаратним методом, що зменшує реактивність цього середовища.

Об'єм однієї дози становить (200±20) мл; вміст гемоглобіну не менше 40 г/дозу, гемоліз – менше 0,8% маси еритроцитів наприкінці терміну зберігання, лейкоцитів менше $1,0 \times 10^6$ в дозі, білку менше 0,5% г/дозу. Гематокрит компонента становить 0,65–0,75 л/л.

«Еритроцити у додатковому розчині (завись еритроцитів)» – компонент донорської крові, заготовлений на гемокоагулянті ЦФД, отриманий за допомогою центрифугування і максимального видалення плазми з наступним додаванням розчину консерванту САГМ (100 мл). Надосадова рідина не містить ознак гемолізу або помутніння. Гематокрит такого компонента становить 0,55–0,70 л/л. У компонента «Завись еритроцитів» в'язкість нижче, ніж у еритроцитів, тому його реологія значно краща і не потребує додаткового введення фізіологічного розчину. Термін зберігання компонента «Завись еритроцитів» подовжується до 42 діб.

Об'єм однієї дози становить (350±50) мл, вміст гемоглобіну не менше 45 г/дозу, гемоліз – менше 0,8% маси еритроцитів наприкінці терміну зберігання. Гематокрит компонента становить 0,65–0,75 л/л.

«Еритроцити з видаленим тромболойкоцитарним шаром» – еритроцитовмісний компонент крові, який отримують за допомогою центрифугування з видаленням плазми і тромболойкоцитарного шару. Застосована технологія забезпечує максимальне вилучення лейкоцитів, тромбоцитів, що сприяє зниженню ризику переносу інфекцій, зменшенню кількості мікроагрегатів та фібринних згустків і вивільненню цитокінів.

Об'єм однієї дози становить (250±50) мл. Вміст гемоглобіну не менше 43 г/дозу, лейкоцитів менше $1,2 \times 10^9$ у дозі, гемоліз – менше 0,8% маси еритроцитів наприкінці терміну зберігання. Гематокрит компонента становить 0,65–0,75 л/л.

«Еритроцити з видаленим тромболойкоцитарним шаром у додатковому розчині (завись еритроцитів з видаленим тромболойкоцитарним шаром)» – еритроцитовмісний компонент крові, заготовленої на гемокоагулянті ЦФД, який отримують за допомогою центрифугування та видалення плазми і тромболойкоцитарного шару з наступним ресуспендуванням у додатковому розчині САГМ (80–100 мл). Застосована технологія забезпечує максимальне вилучення лейкоцитів, тромбоцитів, що сприяє зниженню ризику переносу інфекцій, зменшенню кількості мікроагрегатів та фібринних згустків і вивільненню цитокінів.

Об'єм однієї дози становить (250±50) мл. Вміст гемоглобіну не менше 43 г/дозу, лейкоцитів не більше 1×10^9 в дозі, гемоліз – менше 0,8 % маси еритроцитів наприкінці терміну зберігання. Гематокрит компонента становить 0,50–0,70 л/л.

«Еритроцити, збіднені на лейкоцити» – еритроцитовмісний компонент крові, заготовленої на гемокоагулянтах ЦФДА-1 або Глюгіцир, який отримують шляхом лейкофільтрації з використанням лейкофільтрів. Застосована технологія забезпечує максимальне вилучення лейкоцитів, що сприяє зниженню ризику переносу інфекцій, зменшенню кількості мікроагрегатів та фібринних згустків і вивільненню цитокінів. Лейкофільтрація не змінює терміну придатності еритроцитів.

Об'єм однієї дози становить (250±50) мл. Вміст гемоглобіну не менше 40 г/дозу, лейкоцитів менше 1×10^6 в дозі, гемоліз – менше 0,8% маси еритроцитів наприкінці терміну зберігання. Гематокрит компонента становить 0,50–0,70 л/л.

«Еритроцити, збіднені на лейкоцити у додатковому розчині» – еритроцитовмісний компонент крові, заготовленої на гемокоагулянті ЦФД, який отримують шляхом лейкофільтрації під час первинного фракціонування крові з використанням фільтр Leukotrap WB – Pall, або його аналогів та додавання додаткового розчину САГМ (80–100 мл). Застосована технологія забезпечує максимальне вилучення лейкоцитів, що сприяє зниженню ризику переносу інфекцій, зменшенню кількості мікроагрегатів та фібринних згустків і вивільненню цитокінів. Лейкофільтрація не змінює термін придатності еритроцитів.

Об'єм однієї дози становить (320 ± 50) мл. Вміст гемоглобіну не менше 40 г/дозу, лейкоцитів не більше 1×10^6 в дозі, гемоліз – менше 0,8 % маси еритроцитів наприкінці терміну зберігання. Гематокрит (Ht) компонента становить 0,50–0,70 л/л.

Як правило, зменшення кількості лейкоцитів досягається шляхом фільтрації консервованої донорської крові до/після центрифугування або її компонентів. Вміст лейкоцитів залежить від характеристик системи фільтрації, що використовується. Лейкоцитарні фільтри в різному ступені видаляють також інші клітинні елементи.

«Еритроцити, аферез» – компонент отриманий з крові одного донора методом автоматичного аферезу із застосуванням клітинних сепараторів різних типів. Типовий еритроцитаферез дозволяє заготовляти 1 або 2 дози компонента від одного донора, що дозволяє запобігти виникненню реакції реципієнта на антигени донора і зменшити ризик перенесення гемотрансфузійних вірусних інфекцій. Метод еритроцитаферезу найчастіше використовують для отримання 2-х доз аферезних еритроцитів, збіднених на лейкоцити або 2-х доз еритроцитів, збіднених на лейкоцити у додатковому розчині.

Об'єм однієї дози становить (500 ± 50) мл. Вміст гемоглобіну не менше 40 г/дозу, лейкоцитів не більше 1×10^6 в дозі, гемоліз – менше 0,8 % маси еритроцитів наприкінці терміну зберігання. Гематокрит компонента становить 0,50–0,70 л/л, при використанні додаткового розчину 0,50–0,70 л/л.

«Модифікована кров» – трансфузійне середовище, що містить еритроцити, в процесі отримання якого із ЕМ вилучений лейкоцитарно-тромбоцитарний прошарок і додано понад 20-30 мл аутоплазми. «Модифікована кров» має переваги перед ЕМ, оскільки має кращі реологічні властивості, може застосовуватися при масивних переливаннях, у апаратах екстракорпорального кровообігу, упереджує несумісність при попередній імунізації антигенами лейкоцитів системи HLA.

Відмиті еритроцити отримують із цільної крові після вилучення плазми або ЕМ шляхом їх потрійного відмивання ізотонічним розчином NaCl чи спеціальними розчинами для відмивання. У процесі відмивання максимально вилучаються білки плазми, лейкоцити, тромбоцити, мікроагрегати клітин, елементи строми зруйнованих елементів крові. Відмиті еритроцити є ареактогенним трансфузійним середовищем, переливання якого є показаним для хворих, які мали в анамнезі посттрансфузійні реакції негемолітичного типу та пацієнтам, що сенсibilізовані до антигенів білків плазми, зокрема, при

синдромі гомологічної крові, антигенів лейкоцитів, тромбоцитів. Термін зберігання відмитих еритроцитів при температурі 4⁰С складає не більше 24 год. від моменту відмивання.

4.1.2. Показання до переливання еритроцитів

Трансфузія донорських еритроцитів спрямована на відновлення об'єму циркулюючих еритроцитів і підтримання нормальної кисневотранспортної функції крові при анеміях. Переливання еритроцитів супроводжується зменшенням задишки, тахікардії, підвищенням рівня гемоглобіну. Ефективність процедури переливання еритроцитів залежить від початкових параметрів рівня гемоглобіну, ступеня його зменшення та швидкості падіння означеного показника у реципієнта, наявності чи відсутності неприпиненої кровотечі, показника гематокриту трансфузійного середовища та термінів його зберігання. Переливання однієї одиниці еритроцитної маси (кількість еритроцитів, що отримується при заготовці однієї дози крові – 450±45 мл) підвищує вміст гемоглобіну приблизно на 10 г/л та показник гематокрита на 3% (за умови відсутності кровотечі, що триває). Пацієнти із крововтратою у межах 1000-1200 мл (до 20% об'єму циркулюючої крові - ОЦК) переважно не потребують трансфузій еритроцитів. Переливання сольових і колоїдних розчинів може забезпечити поповнення і підтримання нормоволемії у таких пацієнтів. Слід враховувати, що зменшення фізичної та м'язової активності супроводжується зменшенням потреби організму у кисні. Надмірне прагнення до швидкого відновлення рівня гемоглобіну може спричинити розвиток серцево-судинної недостатності та підвищити тромбогенну небезпеку. Особливо небезпечним є таке прагнення у разі наявності геморагічного шоку, який завжди супроводжується розвитком синдрому внутрішньосудинного згортання (ДВЗ) крові. Трансфузія еритроцитів завжди у таких ситуаціях посилює ДВЗ синдром.

Показанням до переливання еритроцитів при гострих постгеморагічних анеміях є втрата 25-30% ОЦК, що супроводжується зменшенням рівня гемоглобіну понад 80 г/л, гематокрита менше 25%, виникненням циркуляторних порушень. В перші години гостра крововтрата не супроводжується падінням концентрації гемоглобіну. Зменшення ОЦК проявляється блідістю шкірних покривів, сизових, запусінням вен, появою задишки, тахікардії. Про задишку судять за участю м'язів шиї, крил носа у акті дихання. У таких випадках є показаним відновлення внутрішньосудинного об'єму для забезпечення нормальної перфузії органів, що є важливішим, ніж збільшення кількості циркулюючих еритроцитів. У таких ситуаціях потрібно негайне вливання сольових розчинів, колоїдних плазмозамінників, альбуміна, свіжозамороженої плазми із наступним підключенням переливання еритроцитів.

Більш вимогливо у сучасній трансфузіології підходять до переливання еритроцитів при хронічних анеміях. При цьому керуються положенням, що при хронічних анеміях методом лікування є усунення причин(и), що їх обумовила, а не відновлення рівня гемоглобіну за допомогою трансфузій еритроцитів.

Трансфузії еритроцитів призначають тільки для корекції найважливіших клінічних симптомів, що обумовлені глибокою анемією і не піддаються терапії основними патогенетичними засобами. При поєднанні серцево-судинної недостатності та анемії трансфузії еритроцитів проводять дуже обережно. Швидкість переливання має складати 1-2 мл еритроцитної маси на 1 кг маси тіла за годину. Перед трансфузією можливим є призначення діуретиків для усунення небезпеки гіперволемії через збільшення об'єму циркулюючої плазми.

4.1.3. Критерії ефективності переливання еритроцитів

Ефективність трансфузійної терапії еритроцитами повинна оцінюватися після кожного їх переливання. Як критерії ефективності слід використовувати клінічні дані, показники транспортування кисню, кількісного підвищення концентрації гемоглобіну. У разі відсутності активної кровотечі ефективне переливання 250 мл ЕМ через 1 год. після закінчення його проведення призводить до збільшення ОЦК на ідентичну величину. Через 24 год. ОЦК повертається на початковий рівень. Повільніше вирівнюється показник ОЦК у хворих на хронічну ниркову недостатність, гепатомегалії різного генезу, анемії з хронічним перебігом, застійною серцевою недостатністю.

Приріст концентрації гемоглобіну після гемотрансфузії нижче очікуваної величини може спостерігатися при спленомегалії, кровотечі, що не спинена, імунологічній несумісності, тривалій гіпертермії.

Причини неефективності проведеного переливання еритроцитів мають щоразу аналізуватися. Відомо, що у здорових осіб щодобова продукція еритроцитів складає, в середньому, приблизно 0,25 мл/кг маси тіла. Виходячи із цього, за наявності мієлодепресії для підтримання на нормальному рівні концентрацію гемоглобіну достатньо переливати 200-250 мл ЕМ 1-2 рази щотижня. Необхідність у частіших трансфузіях часто буває обумовлена неефективністю, причину якої необхідно завжди встановлювати.

4.1.4. Особливості переливання еритроцитів у педіатрії та неонатології

Тактика трансфузій еритроцитів у педіатрії принципово не відрізняється від такої у дорослих. Вийняток складає період новонародженості. У новонароджених відмічають високу чутливість до гіповолемії, підвищений ризик розвитку тканинної аноксії і гіпотермії, особливі фізіологічні параметри формули крові (ОЦК 85 мл/кг, гематокрит 45-60%, еритроцити $4-5,6 \cdot 10^{12}/л$), наявність фетального гемоглобіну (60-80%), що обумовлює його високу спорідненість до кисню і, як наслідок, зменшення його вивільнення в периферичних тканинах. При народженні одні плазменні фактори згортання крові знаходяться на низьких значеннях (II, VII, X), а інші – I, V, VIII, XIII, як і

кількість тромбоцитів, на тому ж рівні, що і у дорослих. Для дітей раннього віку є властивою імуносупресія.

Критерієм для призначення переливання еритроцитів в період новонародженості (до 6 міс.) є необхідність підтримання показника гематокрита на рівні понад 40% у разі оперативного втручання при тяжкій серцево-легеневій патології; підтримання показника гематокрита на рівні понад 30% при середнього ступеню важкості серцево-легеневої патології; не менше 25% - при проведенні невеликих планових оперативних втручань у новонароджених із стабільним станом.

Дітям віком понад 4 міс. трансфузії еритроцитів призначають за наявності передопераційної анемії (концентрація гемоглобіну менше 130 г/л) і інтраопераційній крововтраті понад 15% ОЦК; при рівні гемоглобіну менше 80 г/л у післяопераційному періоді та виразних клінічних ознаках анемічного синдрому. Окрім того, переливання еритроцитів здійснюють при гострій крововтраті, що не піддається корекції сольовими розчинами та колоїдами, тривалому гіповолемічному синдрому. Переливання еритроцитів у немовлят призначають при рівні гемоглобіну менше 130 г/л за наявності важкого захворювання легень, що потребує штучної вентиляції. При хронічній анемії, що обумовлена будь-яким захворюванням, переливання еритроцитів є показаним при рівні гемоглобіну менше 80 г/л.

Відміності фізіологічних параметрів періоду новонародженості диктують особливі правила проведення трансфузійної терапії таким пацієнтам:

1. Враховуючи високу чутливість новонароджених до гіпотермії, різких коливань кислотно-лужного балансу і електролітного балансу крові, всі трансфузії немовлятам слід розглядати як масивні.

2. Найменш реактогенним трансфузійним середовищем, що містить еритроцити, для немовлят слід вважати розморожені відмиті еритроцити.

3. Перед трансфузією еритроцитів немовляті необхідним є зігрівання трансфузійного середовища до температури тіла, особливо при швидкому темпі переливання (0,5 мл/кг маси тіла за 1 хв.).

4. За наявності гострої кровотечі з дефіцитом ОЦК понад 15%, перед трансфузією еритроцитів повинна проводитись корекція гіповолемії шляхом переливання 5% розчину альбуміна в дозі 20 мл/кг.

5. Швидкість переливання ЕМ повинна складати 2-5 мл/кг маси тіла за 1 год. при умові обов'язкового контролю за станом гемодинаміки та дихання.

6. При підбиранні компонентів крові для трансфузії, слід пам'ятати, що ідеальним донором плазми для немовляти не є його мати, оскільки її плазма може містити алоімумні антитіла до еритроцитів новонародженого. Батько також не може бути ідеальним донором еритроцитів, оскільки в крові немовляти можуть бути антиеритроцитарні антитіла, що проникли від матері через плаценту.

7. Незріла печінка немовляти має низьку здатність до метаболізації цитрату. Тому, слід обов'язково враховувати вид антикоагулянта, що застосовувався для консервації донорських еритроцитів.

8. При трансфузіях недоношеним діткам бажано переливати тільки CMV-негативну кров.

Перед переливанням ЕМ чи концентрату тромбоцитів (КТ) новонародженим необхідно визначити групу крові за системою антигенів АВ0. АВ0- тестування проводять тільки із еритроцитами реципієнта, використовуючи для цього реагенти анти-А та анти-В. Природні аглютиніни у ранньому віці, за звичай, не виявляються. Якщо у реципієнта виникають труднощі при визначенні групи крові за системою антигенів АВ0, то слід переливати еритроцити групи 0(I), що сумісні із сироваткою немовляти і матері. При відсутності матері переливають еритроцити групи 0(I), що сумісні із сироваткою новонародженого. Наводимо дані щодо підбирання компонентів крові для переливання дітям до 4 міс. (табл. 12).

Таблиця 12

Підбір компонентів крові для переливання дітям віком до 4 місяців з урахуванням групи крові

Мати	Немовля	Компонент крові	
		еритроцити	плазма
0(I)	0(I)	0(I)	Будь-якої групи
A(II)	A(II)	A(II),0(I)	A(II),AB(IV)
B(III)	B(III)	B(III),0(I)	B(III),AB(IV)
AB(IV)	A(II)	A(II),0(I)	A(II),AB(IV)
AB(IV)	B(III)	B(III),0(I)	B(III),AB(IV)
AB(IV)	AB(IV)	Будь-якої групи	AB(IV)
0(I)	A(II)	0(I)	A(II),AB(IV)
0(I)	B(III)	0(I)	B(III),AB(IV)
A(II)	B(III)	0(I)	B(III),AB(IV)
B(III)	A(II)	0(I)	A(II),AB(IV)
A(II)	AB(IV)	A(II),0(I)	AB(IV)
B(III)	AB(IV)	B(III),0(I)	AB(IV)
A(II)	0(I)	0(I)	Будь-якої групи
B(III)	0(I)	0(I)	Будь-якої групи

Необхідно завжди визначати резус належність крові новонародженого. При гемолітичній хворобі, що викликана антитілами анти-D, переливають тільки Rh-негативні еритроцити. Якщо патогенні антитіла не є антитілами анти-D, то можна переливати і Rh-позитивні еритроцити.

При проведенні імунологічних досліджень пошук імунних антитіл і проба на індивідуальну сумісність проводяться як із сироваткою новонародженого, так і його матері. У разі, якщо для проведення аналізів неможливо отримати кров новонародженого, особливо у недоношених діточок, коли кількість крові для проведення досліджень становить 1-2% ОЦК, тестування необхідно проводити із сироваткою матері. Для внутрішньоутробного переливання застосовують тільки еритроцити або кров групи 0(I), сумісну із сироваткою матері.

4.2. Трансфузії концентрату лейкоцитів

Отримують концентрат лейкоцитів (КЛ) за допомогою лейкоферезу, який проводять у постійному потоці крові на автоматичних сепараторах крові. При маркіруванні КЛ вказують об'єм (мл), загальну кількість лейкоцитів і % гранулоцитів, АВ0 та Rh належність (оскільки у КЛ завжди присутні домішки еритроцитів). До початку проведення донорського лейкофереза при підбиранні пари донор-реципієнт обов'язково виконують наступні тести: АВ0 та Rh-сумісність, реакція лейкоаглютинації, тестування на HbsAg та сифіліс, виявлення антитіл анти-НСV, анти-ВІЛ-1, ВІЛ-2. Вдало вирішена проблема сумісності за гістолейкоцитарними антигенами (HLA) забезпечує кращу відповідь на трансфузію, особливо у хворих, що сенсibilізовані HLA-антигенами. Високі вимоги до забезпечення імунологічної сумісності при проведенні переливання КЛ диктують необхідність отримання терапевтично значимої кількості лейкоцитів тільки від одного донора. Стандартною терапевтичною дозою КЛ вважають $10 \cdot 10^9$ клітин, із яких не менше 60% є гранулоцитами. КЛ зберігають при температурі 20-24⁰С не більше 24 год. після його отримання. Дослідження останнього часу свідчать, що вже після 8 год. зберігання здатність гранулоцитів циркулювати і мігрувати до вогнища запалення зменшується. Рекомендують переливати КЛ якомога швидше після їх отримання і не пізніше, ніж через 24 год. Для досягнення терапевтичного ефекту, переливання КЛ мають проводитися щоденно, не менше 4-6 діб підряд (за умови відсутності відновлення гранулоцитопоезу або побічних реакцій). Переливання КЛ здійснюють через звичайні пристрої для проведення трансфузій із відповідними фільтрами. Перед переливанням КЛ проводять такі імунологічні дослідження як і при проведенні трансфузії еритроцитів. Середній об'єм КЛ для проведення однієї трансфузії становить 200-400 мл. В педіатричній практиці об'єм КЛ, що переливають, є меншим, оскільки це упереджує волемічне перевантаження.

Показанням для переливання КЛ є зменшення абсолютної кількості гранулоцитів у реципієнта до рівня менше $0,5 \cdot 10^9$ /л на фоні інфекції, що не контролюється антибактеріальними засобами. Найбільший клінічний ефект дають призначення трансфузій КЛ при сепсисі новонароджених. Реципієнтами КЛ частіше всього є особи, що мають шанс відновлення гранулоцитопоезу. Переливання КЛ завжди дає тільки тимчасовий ефект, регулярні трансфузії КЛ супроводжуються формуванням алоїмунізації і швидко стають неефективними. Переливання КЛ також неефективні при локальному бактеріальному чи грибковому ураженні, вірусних інфекціях. При плануванні хворому трансплантації кісткового мозку, не можуть отримувати трансфузії КЛ не можна отримувати від потенційного донора кісткового мозку. З метою профілактики інфекційних ускладнень переливання лейкоцитів також може застосовуватись, але як свідчить практика, побічні ефекти при цьому завжди перевищують очікувані результати.

Показником терапевтичної ефективності трансфузій КЛ є позитивна динаміка клінічної картини: зниження температури тіла, покращення

рентгенологічної картини легень при наявності пневмонії стабілізація порушених функцій органів і систем. Показник кількості їх в периферичній крові не може бути рекомендовано як критерій ефективності трансфузій КЛ. Оскільки перелиті лейкоцити швидко покидають судинне русло і мігрують до вогнищ запалення.

Трансфузії КЛ можуть супроводжуватися виразними фебрильними реакціями та/або розвитком патологічних змін з боку легень. Температурні реакції, як правило, середньої важкості, нерідко з пропасницею і обумовлені зв'язуванням лейкоцитів донора антитілами реципієнта, що супроводжується дегрануляцією гранулоцитів і активацією комплемента. Упереджують такі реакції дотриманням повільного темпу трансфузії КЛ, призначенням кортикостероїдів. Іноді гіпертермія супроводжується розвитком задишки, гіпотонії, що диктує необхідність припинення переливання, введення великих доз преднізолону, і у разі його неефективності – засобів вазопресивної дії. При виникненні пропасниці можна застосовувати промедол. Якщо означені заходи є неефективними, в подальшому переливання лейкоцитів не проводять.

Симптомами побічних реакцій з боку легень при переливанні КЛ є пароксизми кашлю, інспіраторна задишка, гіпертермія. Причинами означених реакцій можуть бути: волемічне перевантаження за виразної серцевої недостатності; ущільнення альвеолярної мембрани донорськими гранулоцитами, що зосереджуються у вогнищі запалення; ендотоксинемія, що спостерігається при септицемії і викликає дегрануляцію донорських лейкоцитів, активацію комплемента і легеневі порушення. Ускладненням при проведенні переливань концентрату лейкоцитів може бути також передавання гемотрансмисивних інфекцій.

4.3. Трансфузії концентрату тромбоцитів

Трансфузії концентрату тромбоцитів (КТ) є важливою лікувальною процедурою, яка все ширше застосовується в сучасній клінічній медицині. Переливання КТ, насамперед, широко застосовують у гематологічній практиці при тромбоцитопеніях, лікуванні гіпо- та апластичних анемії, проведенні цитостатичної терапії, трансплантації кісткового мозку, купіруванні геморагічних проявів при синдромі десимінованого внутрішньосудинного зсідання крові (ДВЗ-синдром), первинних геморагічних діатезах, тромбастенії Гланцмана, хворобі Віллебранда тощо. Показаннями до трансфузій КТ можуть бути: наявність глибокої тромбоцитопенії, яка супроводжується кровотечею із слизових оболонок рота, носа, геніталій, післяопераційних ран та дренажів, вісцеральних та церебральних оболонок тощо; тромбоцитопенія менше ніж $5 \cdot 10^9/\text{л}$ незалежно від наявності геморагічного синдрому; тромбоцитопенія менше ніж $20 \cdot 10^9/\text{л}$ при явищах спонтанної кровотечі у хворих, які отримують курс інтенсивної поліхіміотерапії; тромбоцитопенія $20\text{-}50 \cdot 10^9/\text{л}$ та менше перед проведенням стеральної, люмбальної пункцій, здійсненні маніпуляції парацентезу, катетеризації крупних венозних судин, фіброгастроскопії, катетеризації сечового міхура тощо; тромбоцитопенія, яка супроводжується

зменшенням кількості тромбоцитів на $50 \cdot 10^9/\text{л}$ за добу, або на $2,5 \cdot 10^9/\text{л}$ за годину незалежно від наявності чи відсутності кровотечі.

Враховуючи, що Україна є повноправним членом Ради Європи і зобов'язалась дотримуватись Європейських стандартів (ЄС), вважаємо за доцільне навести вимоги ЄС до КТ (табл.13).

Таблиця 13

Вимоги ЄС до концентратів тромбоцитів

Метод отримання КТ	Число тромбоцитів	Вміст лейкоцитів
із збагаченої тромбоцитами плазми	$> 60 \cdot 10^9$ на дозу КТ	$< 0,2 \cdot 10^9$ на дозу КТ
із лейкоцитомасного прошарку плазми	$> 60 \cdot 10^9$ на дозу КТ	$< 0,05 \cdot 10^9$ на дозу КТ

Примітка: 90 % зразків КТ повинні відповідати означеним нормативам. Поняття "тромбоцитарна маса" в стандартах ЄС не існує.

Для введення тромбоцитів можуть застосовуватися як компонент **«Тромбоцити (концентрат тромбоцитів), аферез»**, так і наступні компоненти: **«Тромбоцити, відновлені з дози крові»**, **«Тромбоцити, відновлені з дози крові, збіднені лейкоцитами»**. В усіх компонентах тромбоцити містяться в необхідному об'ємі початкової плазми, в якій наявні стабільні фактори згортання в концентрації, близькій до нормальної, що зберігають свої властивості при кімнатній температурі. Тромбоцити, отримані за допомогою аферезу, можна зберігати в додатковому розчині. Одна доза тромбоцитів, отриманих з однієї дози консервованої крові, як правило, містить $> 50 \times 10^9$ тромбоцитів в 40–70 мл плазми. Тромбоцити можуть бути заготовлені як від одного донора, так і від різних донорів (**«Тромбоцити відновлені, об'єднані в одну дозу»**, **«Тромбоцити відновлені, об'єднані в одну дозу, збіднені лейкоцитами»**). Одна доза тромбоцитів, заготовлених методом аферезу, звичайно містить $> 300 \times 10^9$ тромбоцитів і відповідає терапевтичному еквіваленту 4–6 доз тромбоцитів, відновлених з дози консервованої крові. Тромбоцитовмісні компоненти крові можуть містити різну кількість лейкоцитів в залежності від технології приготування, що застосовується. У деяких дозах може бути більший вміст еритроцитів, що обумовлює рожеве забарвлення розчину. Це частіше характерно для тромбоцитовмісних компонентів, отриманих з дози консервованої крові, ніж для тромбоцитів, заготовлених методом аферезу.

Умови зберігання передбачають постійне перемішування у автоматичному тромбоміксері при температурі $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$ до 5 діб.

«Тромбоцити, відновлені з дози крові» – компонент донорської крові, отриманий зі стандартної дози консервованої крові методом диференційованого центрифугування і який містить суспензію тромбоцитів у терапевтично ефективній дозі.

Об'єм – (50 ± 5) мл. Вміст тромбоцитів в одній дозі становить не менше 60×10^9 . Залишкові лейкоцити менше $0,2 \times 10^9$ (метод збагачення тромбоцитами плазми); менше $0,05 \times 10^9$ (метод отримання з тромболойкоцитарного шару (ТЛШ)), рН 6,4–7,4 скоригований для 22°C у кінці терміну зберігання. Даний компонент використовується для виготовлення компонента «Тромбоцити відновлені, об'єднані в одну дозу».

«Тромбоцити відновлені, об'єднані в одну дозу» – компонент, отриманий мануальним методом з консервованої донорської крові або з плазми, заготовленої методом мануального плазмаферезу від кількох донорів та об'єднаних в одному контейнері. Об'єднання відповідної кількості окремих доз тромбоцитів в установі служби крові (УСК) зменшує ризик бактеріального забруднення реципієнта та полегшує процедуру введення.

Можливе приготування тромбоцитів відновлених, об'єднаних в одну дозу, з доз тромбоцитів, виділених з ТЛШ кількох донорів. Зберігають такий компонент у зависі з додатковим розчином. Наприклад, при використанні збагачувального розчину PAS-ШМ рекомендують таку пропорцію: 80% розчину на 20% плазми. Додаткові розчини для зберігання тромбоцитів підвищують їх безпеку при введенні: зменшується ризик появи алергічних і температурних післятрансфузійних реакцій.

Об'єм – не менше 40 мл на 60×10^9 тромбоцитів. Звичайно доза даного компонента складається з 4–8 окремих доз і містить не менше 200×10^9 /дозу тромбоцитів, а також лейкоцити та еритроцити, кількість яких залежить від способу виготовлення. Вміст лейкоцитів менше $0,2 \times 10^9$ в дозі (метод збагачення тромбоцитами плазми); менше $0,05 \times 10^9$ в дозі (метод тромболойкошару), рН 6,4–7,4 скоригований для 22°C у кінці терміну зберігання.

«Тромбоцити, відновлені з дози крові, збіднені лейкоцитами» – компонент отримують шляхом видалення лейкоцитів з тромбоцитів відновлених з дози крові. Застосування такого компонента зменшує ризик алоімунізації HLA та пов'язаних із нею ускладнень: негемолітичних температурних реакцій та резистентності на трансфузії тромбоцитів, а також ризик передачі деяких вірусних інфекцій, наприклад, ЦМВ.

Об'єм – (50 ± 5) мл. Вміст тромбоцитів в одній дозі становить не менше 60×10^9 . Вміст залишкових лейкоцитів становить не більше $1,0 \times 10^6$ лейкоцитів, рН 6,4–7,4 скоригований для 22°C у кінці терміну зберігання.

«Тромбоцити, відновлені об'єднані в одну дозу, збіднені лейкоцитами» – компонент отримують шляхом видалення лейкоцитів з тромбоцитів відновлених, об'єднаних в одну дозу. Застосування такого компонента зменшує ризик алоімунізації HLA та пов'язаних із нею ускладнень: негемолітичних температурних реакцій та резистентності на трансфузії тромбоцитів, а також ризик передачі деяких вірусних інфекцій, наприклад, ЦМВ.

Об'єм – не менше 40 мл на 60×10^9 тромбоцитів. Звичайно доза даного компонента складається з 4–8 окремих доз і містить не менше 200×10^9 /дозу

тромбоцитів. Вміст залишкових лейкоцитів становить не більше $1,0 \times 10^6$ лейкоцитів, рН 6,4–7,4 скоригований для 22°C у кінці терміну зберігання.

«Тромбоцити (концентрат тромбоцитів), аферез» – концентрована суспензія тромбоцитів у терапевтично ефективній дозі, отримана методом аферезу від відібраних донорів, що знижує ризик розвитку HLA імунізації і ризик передачі вірусів. Є ефективним компонентом для лікування алоімунізованих пацієнтів. Клітинні сепаратори останньої модифікації передбачають отримання концентрату тромбоцитів (КТ) з вмістом залишкових лейкоцитів менше 1×10^6 у дозі, що відповідає вимогам до компонента, збідненого на лейкоцити. Всі процедури проводять у чіткій відповідності до інструкції виробника сепаратора та комплекту для заготівлі КТ.

Об'єм компонента не менше 134 мл плазми в одній дозі (не менше 40 мл плазми на 60×10^9 тромбоцитів), кількість тромбоцитів не менше 200×10^9 , рН 6,4–7,4 скоригований для 22°C у кінці терміну зберігання.

Трансфузії КТ хоч і є важливою лікувальною процедурою, але вони можуть викликати цілий ряд побічних ефектів у реципієнта. Ускладнення, які пов'язані з трансфузією КТ, визначаються, в основному, методом отримання концентрату, присутністю в ньому інших клітин, особливо лімфоцитів, правильним підбиранням і обстеженням донора, дотриманням умов зберігання тощо. Деякі із ускладнень проявляються безпосередньо під час переливання або після нього, а такі як передавання інфекційних агентів є віддаленими у часі, але дуже серйозними - у розумінні їх наслідків. Для зведення до мінімуму ускладнень при застосуванні КТ необхідно намагатись використовувати одного донора для його отримання, по можливості дотримуватись принципу “один донор – один реципієнт”, забезпечувати необхідні умови для зберігання тромбоцитів та не порушувати регламентуючі рекомендації з трансфузіології.

Основними ускладненнями, з якими доводиться зустрічатись лікарю при застосуванні КТ є: алоімунізація і рефрактерність до трансфузій тромбоцитів, анафілактичні та алергічні реакції, реакція “трансплантат проти хазяїна”, інфекційні ускладнення та ускладнення, які обумовлені порушенням техніки застосування КТ. Як видно із означеного, переважна більшість ускладнень при застосуванні КТ має імунологічну природу, і обумовлена тим, що тромбоцити на своїй поверхні мають антигени багатьох систем – еритроцитарні, головного комплексу гістосумісності та власні тромбоцитарні антигени.

Особливе місце серед проблем сучасної терапії КТ належить таким ускладненням як *алоімунізація і рефрактерність до трансфузій тромбоцитів*. На сьогодні гостро стоїть питання уточнення показань до трансфузій КТ, скорочення кількості переливань за рахунок невиправданих призначень, іноді - з профілактичною метою. Питання про застосування і тактику трансфузій КТ при захворюваннях системи крові та ускладненнях цитостатичної терапії лікар повинен вирішувати індивідуально для кожного конкретного хворого, враховувати характер захворювання, стадію розвитку, клінічний статус, наявність ускладнень, зміни лабораторних показників в динаміці, реальність

загрози виникнення геморагічних ускладнень, стан показників імунологічних досліджень (їх призначення є обов'язковим).

Для забезпечення повноцінного і ефективного курсу трансфузій КТ рекомендують використовувати комплексний клініко-лабораторний моніторинг, враховувати динаміку розвитку тромбоцитопенії та геморагічного синдрому. До комплексу досліджень повинно входити: клінічне обстеження і спостереження за хворим, виявлення причин, що спонукали тромбоцитопенію і розвиток геморагічних ускладнень, динаміку розвитку та перебігу геморагічного синдрому, визначення числа тромбоцитів периферичної крові у динаміці: до трансфузії, через 1 та 24 години після неї, оцінка статусу хворого з метою розпізнавання ознак алоімунізації і рефрактерності.

Алоімунізація – це сенсibilізація реципієнта алоантигенами донора, яка супроводжується появою антитромбоцитарних та анти-HLA-антитіл. В таких випадках після переливання тромбоцитів з'являються температурні реакції різної виразності – від субфебрилітету до пропасниці, спостерігається відсутність ефекту від перелитих тромбоцитів, насамперед, гемостатичного. Систематичні трансфузії КТ у переважній більшості випадків призводять до алоімунізації. Чіткої залежності між числом трансфузій, дозою КТ та частотою алоімунізації не прослідковують. У деяких хворих, не дивлячись на масивну тромбоцитотерапію, алоімунізація не виникає, а у інших її викликають незначна кількість трансфузій. Перевагу віддають трансфузіям тромбоцитів від одного донора, які отримані методом тромбоцитозфереза. Встановлено, що причиною алоімунізації при трансфузіях тромбоцитів є сенсibilізація реципієнта антигенами донора з наступним утворенням антитіл, які спричинюють руйнування тромбоцитів і їх секвестрацію в макрофагальній системі. Є данні, що в результаті повторних трансфузій тромбоцитів, насамперед, у онкогематологічних хворих виникає алоімунізація до антигенів системи HLA. У хворих на лейкози алоімунізацію спостерігають у 40-60 %, а у пацієнтів з апластичними анеміями – в 80-100%. Алоантитіла у алоімунізованих хворих можуть мати різну специфічність, оскільки на поверхні тромбоцитів експресуються різні антигени, найімуногеннішими, серед яких, є антигени HLA-ABC (клас 1) та специфічні тромбоцитарні антигени (HPA). Слід нагадати, що HLA – антигени класу 1 наявні не тільки на лімфоцитах, а і на моноцитах, гранулоцитах та у вигляді субстанцій розчинені в плазмі крові. Імуногенність різних антигенів цієї системи неоднакова, найімуногеннішими є антигени локусів А і В, менш – локуса С. Практика свідчить, що при підбиранні донорів для алоімунізованих хворих достатньо враховувати тільки антигени локусів А та В. Типірування і підбір пар HLA–сумісних донорів для алоімунізованих і рефрактерних хворих - процедура складна, трудомістка, кропітка і дорога, тому в повсякденній роботі можна застосовувати тест для виявлення лімфоцитотоксичних антитіл і перехресну пробу для підбирання сумісного донора.

У більшості алоімунізованих хворих наявність антитіл викликає феномен рефрактерності до трансфузій КТ. Рефрактерність до переливання тромбоцитів отриманих від різних донорів, спостерігається майже у 70%

хворих, які знаходяться на тривалому замісному лікуванні тромбоцитами. Крім того, близько 10% первинних хворих, що потребують трансфузій тромбоцитів, уже бувають імунізовані. Резистентність до трансфузій тромбоцитів може спостерігатись вже після перших переливань. За звичай, це є жінки з чисельними вагітностями в анамнезі, пацієнти, яким вже переливали компоненти крові. Реципієнтам, які з часом завідома будуть потребувати замісної терапії тромбоцитами (апластична анемія, період трансплантації кісткового мозку тощо) з метою профілактики геморагічного синдрому краще підбирати донора тромбоцитів із найближчих родичів, використовуючи спеціальні фільтри для видалення лейкоцитів із КТ. Розвиток алоімунізації не завжди супроводжується рефрактерністю. Хворі можуть давати адекватний приріст кількості тромбоцитів після трансфузії КТ, не дивлячись на наявність анти-HLA-антитіл.

Рефрактерність хворих до трансфузій КТ є однією із складних і невирішених задач сучасної трансфузіології. Проявом рефрактерності є не тільки відсутність стійкого приросту кількості тромбоцитів після трансфузії, а і скорочення термінів їх приживлення у реципієнта та відсутність гемостатичного ефекта. Виділяють два види рефрактерності до трансфузій КТ – імунну і неімунну. Імунна рефрактерність обумовлена розвитком алоімунізації хворих повторними трансфузіями, а неімунна – викликається такими факторами як пропасниця, септичні стани, інфекції, ДВЗ – синдром, спленомегалія тощо, які призводять до підвищеного руйнування, прискореної утилізації та депонування перелитих тромбоцитів. Часто причини рефрактерності поєднуються – імунні фактори нашаровуються на неімунні механізми її походження. Результатом є незначний приріст абсолютної кількості тромбоцитів (або повна відсутність) після трансфузії через 1 та 24 години, що супроводжується продовженням геморагічних проявів. Клінічними проявами алоімунізації є посттрансфузійні реакції різного ступеня виразності і зменшення (відсутність) лікувальної ефективності трансфузії КТ у ряду хворих (понад 30%). Можуть спостерігатись при цьому підвищення температури, головний біль, нудота тощо, а геморагічні прояви не усуваються. Лабораторні дослідження у таких випадках вказують на відсутність очікуваного адекватного приросту абсолютного числа тромбоцитів через 1 і 24 години після трансфузій КТ. Кількісною характеристикою рефрактерності є зменшення (або відсутність) скоректованого приросту тромбоцитів (СПТ) через 1 і 24 години після трансфузії.

Кофіцієнт СПТ вираховують за спеціальною формулою:

$$\text{СПТ} = T \times \Pi / K,$$

де: T – абсолютний приріст числа тромбоцитів (різниця кількості тромбоцитів після і до проведення трансфузії);

Π – площа поверхні тіла (розраховується за номограмою), м²;

K – число перелитих тромбоцитів.

Позитивним (адекватним) посттрансфузійним СПТ через 1 годину після переливання тромбоцитів у нерепрактерних стабільних хворих (без ускладнюючих факторів слід вважати 10-20,0 · 10⁹/л, а через 24 години - СПТ

має зменшитись на 10%. У рефрактерних хворих СПТ через 1 годину знижується більше ніж в 2 рази, а через 24 години в 3-4 рази. Для алоімунізованих хворих є властивим зниження СПТ через 1 годину після трансфузії. Відсутність приросту числа тромбоцитів через 24 години частіше всього пов'язано із їх руйнуванням ускладнюючими факторами, тобто пов'язано із неімунною рефрактерністю.

Наявність зниженого СПТ через 1 годину після двох послідовних трансфузій ($< 7,5 \cdot 10^9/\text{л}$) дозволяє діагностувати імунну рефрактерність, що обумовлена алоімунізацією. Наявність неадекватного СПТ через 24 години ($< 5 \cdot 10^9/\text{л}$) після трьох послідовних трансфузій може свідчити про зменшення часу циркуляції (приживлення) тромбоцитів, що пов'язано не з алоімунізацією, а з ускладнюючими факторами, тобто мова іде про неімунну рефрактерність.

За наявності у хворого одного із ускладнюючих факторів або алоімунізації зменшується безпосередня гемостатична ефективність трансфузій КТ, через добу число тромбоцитів повертається на початковий рівень. Комплекс ускладнюючих факторів або їх поєднання з алоімунізацією практично не дозволяє за допомогою трансфузій підвищити рівень тромбоцитів в перифіричній крові і не усуває та не упереджує розвиток генералізованого тромбоцитопенічного геморагічного синдрому.

Методи профілактики алоімунізації і рефрактерності до трансфузій КТ зводяться до чітко виправданого призначення цього лікувального методу, обмеження їх використання з профілактичною метою. Заходи для упередження алоімунізації при застосуванні трансфузій КТ можна систематизувати наступним чином. Слід добиватися максимально можливого зменшення кількості донорів для отримання КТ. Необхідно пам'ятати, що розвиток алоімунізації з наступним утворенням лімфоцитотоксичних антитіл спостерігається в 10 разів частіше у хворих, які мали трансфузії КТ від багатьох донорів, порівняно із тими хворими, що отримують аферезні тромбоцити від одного донора. Забезпечення сумісності трансфузій тромбоцитів однотипних за антигенами еритроцитів, насамперед, системи АВО, є методом профілактики алоімунізації і рефрактерності до трансфузій КТ. Дані досліджень свідчать, що приживлюваність АВО-сумісних тромбоцитів складає, в середньому, 67%, в той час як для АВО-несумісних трансфузій цей показник становить близько 19%. На користь необхідності дотримання ідентичності тромбоцитів, що переливаються, за системою АВО, говорять дані про приблизно подвійне збільшення їх кількості у рефрактерних хворих, яким підбирали тромбоцити за системами антигенів HLA та АВО. Трансфузії тромбоцитів від HLA-сумісних, але АВО-несумісних донорів, супроводжуються зменшенням або повною відсутністю приросту тромбоцитів. Прояви АВО несумісності при трансфузіях КТ можуть відрізнятися для кожного індивідуума і залежати від величини титру анти-А та анти-В антитіл, кількості групових антигенів на тромбоцитах донорів, так і реципієнтів, їх експресії.

Здійснення підбирання КТ для реципієнта від АВО – сумісного донора із застосуванням методу HLA-сумісності за лімфоцитотоксичним тестом і перехресними пробами також є методом профілактики алоімунізації і

рефрактерності до трансфузій КТ. Цей захід дозволяє досягти максимально можливого приросту числа тромбоцитів.

Слід прагнути забезпечення оптимального вилучення лейкоцитів із КТ. Наявність білків плазми і лейкоцитів у КТ може бути причиною фебрильних негемолітичних посттрансфузійних реакцій, а за повторних переливань – алоімунізації. Вважається, що HLA – алоімунізація при трансфузіях КТ, викликається, головним чином, лімфоцитами, які присутні в концентратах. Цей факт є підставою для застосування КТ, які збіднені лейкоцитами, для зменшення вірогідності частоти HLA–алоімунізації. На сьогодні застосовують наступні методи вилучення лейкоцитів із КТ: фільтрування через спеціальні фільтри, повторне центрифугування з наступним відмиванням клітин фізіологічним розчином хлориду натрію, кріоконсервування тромбоцитів.

Трансфузії КТ, який збіднений лейкоцитами, є показаним для хворих з повторними негемолітичними посттрансфузійними реакціями, пацієнтам, які будуть потребувати тривалих повторних курсів трансфузій КТ, потенційним кандидатам на трансплантацію кісткового мозку та реконвалесцентам після неї, хворим, що аллоімунізовані та мають рефрактерність до трансфузій тромбоцитів. Алоімунізація упереджується використанням консервованих аутотромбоцитів, які заготовлені завчасно від хворого лейкозом в стадії клініко-гематологічної ремісії.

Лікувальна тактика за наявності рефрактерності до трансфузій тромбоцитів має свої особливості. Для забезпечення ефективності застосування КТ у таких хворих рекомендуємо застосовувати комплекс заходів: застосовувати КТ, який отримано методом афереза від АВ0-ідентичного прямого родича хворого; здійснювати визначення HLA–антитіл, використовуючи лімфоцитотоксичний тест; за наявності HLA–алоімунізації слід проводити трансфузії КТ від ідентичних за системою АВ0 і сумісних за HLA донорів, або від одного HLA підбраного донора; рекомендуємо для трансфузій використовувати КТ, що збіднений лейкоцитами; застосовувати кріоконсервовані аутологічні тромбоцити, отримані завчасно, наприклад, у хворого на лейкоз в стадії клініко-гематологічної ремісії після курсу хіміотерапії; застосовувати метод лікувального плазмаобміну у поєднанні з наступним використанням для трансфузій КТ, збіднених лейкоцитами; призначати імуносупресивні засоби (кортикостероїди, антилімфоцитарний глобулін, імуноглобулін для внутрішньовенного введення, антифібринолітичні препарати).

Плазмаобмін дозволяє вилучати частину циркулюючих антитіл, але, як свідчить практичний досвід, його лікувальний ефект частіше є тимчасовим. Для підвищення ефективності плазмаобміну можна паралельно застосовувати супутню імуносупресивну терапію, спрямовану на упередження чи зменшення антитілоутворення.

Анафілактичні та алергічні реакції. КТ є компонентом крові з порівняно великим вмістом донорської плазми. У реципієнта, який має імунодефіцит IgA, введення донорської плазми, а разом з нею донорського імуноглобуліна IgA, що має алотипові відмінності з імуноглобуліном IgA

реципієнта, може спричинити розвиток анафілактичного шоку. Шоку можна уникнути, якщо знати про цей феномен у хворого (реципієнта).

Посттрансфузійні реакції на введення КТ у вигляді гіпертермічних явищ (пропасниця), алоїмунізації і рефрактерності пов'язані з утворенням у реципієнта антитіл проти антигенів гістосумісності донорських лейкоцитів, що у деякій кількості містяться в КТ. За намагання упередити алосенсібілізацію при трансфузіях КТ рекомендують застосовувати фільтри для видалення лейкоцитів із КТ, насамперед, при забезпеченні трансфузій хворим, які потребували тривалих чисельних переливань. Застосовування таких фільтрів зменшувало як частоту реакції, так і гостроту їх проявів. Останнім часом встановлено, що сенсебілізація до донорських лейкоцитів є всього лише однією із причин післятрансфузійних реакцій, є докази відносно того, що фактори, які вивільнюються в плазму при зберіганні КТ, можуть спричинювати реакції типу анафілактичних. Практика свідчить, що реакції на переливання КТ спостерігають у 1/3 хворих, причому, серед них у третини вони виникали у відповідь на першу трансфузію. Сенсебілізація до трансфузій виникає і розвивається з однаковою частотою як у жінок так і у чоловіків.

Реакції на трансфузії тромбоцитів можуть проявитись підвищенням температури, пропасницею, кропивницею, сверблячкою, почервонінням, нудотою, блюванням, бронхоспазмом, набряком гортані, гіпотензією, тахікардією, вегетативними проявами та серцевими нападами. Такі реакції організму ідентифікують як анафілактичні, якщо їх прояви пов'язані з IgE, а у решті випадків для означення реакції рекомендують застосовувати термін "негайна генералізована реакція". За звичай, перші реакції на переливання є помірними (сверблячка, нудота, висипання на шкірі), а повторні трансфузії викликають негайну гостру реакцію, яка може загрожувати життю реципієнта. При цьому у 93 – 95% випадків виявляють анти-IgE-антитіла.

Відомо, що частота та гострота алергічних та анафілактичних проявів посттрансфузійних реакцій часто пов'язана із способами отримання та зберігання КТ. Препарати тромбоцитів заготовлюють в аутологічній плазмі. Клінічно можуть застосовуватись два різновиди КТ: отримані від одного донора або із пула донорської крові. Оптимальною температурою для зберігання заготовлених тромбоцитів є 20-24°C, що не завжди дотримується. При зміні температурного режиму, або при тривалому зберіганні КТ, лейкоцити, які присутні в концентраті, руйнуються і вивільнюються в плазму фізіологічно активні речовини. В процесі заготовки КТ за високих швидкостей центрифугування і ресуспендування відбувається ушкодження клітинних мембран. Тривалі терміни зберігання продуктів крові викликають більший відсоток реакцій.

Найчастіше у сенсебілізованих реципієнтів виявляють протилейкоцитарні антитіла і з ними асоціюються фебрильні та анафілактичні реакції різного ступеня важкості. Останнім часом у походженні означених реакцій продемонстрована негативна роль речовин, що накопичуються у процесі зберігання тромбоцитів – серотонін, гістамін, цитокіни, інтерлейкіни тощо. При збільшенні термінів зберігання КТ, в них зростає рівень гістаміну.

Критична межа чутливості до гістаміну може досягатися при швидкому переливанні КТ або при уведенні декількох його доз. Клінічними проявами реалізації гіпергістамінемії у реципієнта буде симптоматика бронхоспастичного синдрому з наявністю хрипів.

Серотонін, який абсорбується і зберігається в щільних гранулах тромбоцитів, при вивільненні може спричинити симптоматику, подібну до наведеної вище. Вивільнення серотоніну і його потрапляння у кровоток спричинює гіпотензивні реакції. Слід пам'ятати, що хіміотерапевтичні засоби можуть стимулювати вивільнення серотоніну із ентохромафінних клітин кишечника, а тому застосування трансфузій КТ на тлі їх призначення може супроводжуватись значною гіперсеротоніемією.

Є дані стосовно того, що цитокіни також можуть бути факторами, які викликають посттрансфузійні реакції. Цитокіни є гормоноподібними речовинами, які виділяються лімфоцитами, макрофагами і ендотеліальними клітинами. Цитокіни є глікопротеїдами, які регулюють міжклітинні зв'язки як в нормі, так і за патологічних станів. Дослідження показують, що в плазмі КТ, які зберігались, виявляли підвищений рівень таких цитокінів як фактор некрозу пухлин, інтерлейкін-1, інтерлейкін-6. Існує думка, що їх джерелом можуть бути активні моноцити, які активуються зруйнованими лейкоцитами, що як домішка присутні в трансфузійному середовищі. Активація моноцитів також, очевидно, може бути пов'язана з компонентами комплемента, які викликають вивільнення цитокінів в процесі зберігання тромбоцитів. Введення незначних кількостей цитокінів при переливанні може викликати нейтрофільні зрушення лейкоцитарної формули, а високі дози одного чи комбінаційний синергізм двох видів цитокінів можуть бути причиною гіпотензивної реакції, шоку, легневих геморагій і, навіть, загибелі реципієнта.

Серйозні ускладнення при трансфузіях викликає фактор, що активує тромбоцити (PAF) – ендогенний фосфоліпід, який вивільнюється різними клітинами – нейтрофілами, базофілами, моноцитами, тромбоцитами та ендотелієм судинного русла. При внутрішньовенному введенні PAF настає різке падіння кров'яного тиску, а тому накопичення PAF – подібних речовин у трансфузійних середовищах може спричинювати тяжкі ускладнення, серед яких негайні генералізовані реакції.

Небезпечним і тяжким ускладненням в гемотерапії, зокрема при застосуванні КТ, є асоційоване з трансфузією гостре ушкодження легень (TRALI-синдром). На відміну від реакції на цитокіни, що виникає на початку трансфузії КТ чи іншого гемокомпонентного середовища, TRALI-синдром проявляється протягом від 1 до 6 годин, характеризується гострим респіраторним дистресом, тяжким двостороннім набряком легень і гіпоксемією. Гадають, що TRALI-синдром асоціюється з пасивним перенесенням реципієнту антитіл від донорів, частіше від жінок-донорів, які мали декілька пологів. Донорські антитіла взаємодіють при TRALI з лейкоцитами реципієнта в незвичайній імуноопосередкованій реакції. Таким чином, у процесі застосування трансфузій КТ переважна більшість побічних алергічних і анафілактичних реакцій пов'язана з донорськими факторами, якістю КТ, а

також деякими факторами самого реципієнта. Для пом'якшення алергічних проявів рекомендують премедикацію антигістамінними засобами.

Реакція трансплантат проти хазяїна (вторинна хвороба). КТ завжди містить певну кількість імунокомпетентних та імуноагресивних Т – і В – лімфоцитів, а тому завжди існує ризик виникнення такого ускладнення як трансплантат проти хазяїна у хворих з важкими імунодефіцитними станами, реципієнтів кісткового мозку, хворих на лімфогранулематоз, пухлини (особливо за станів після високодозової хіміотерапії та променевого лікування). Для упередження реакції трансплантат проти хазяїна рекомендують перед трансфузією опромінювати КТ в дозі 1500-5000 рад.

При застосуванні трансфузій КТ можливе інфікування реципієнта збудниками гемотрансмісивних захворювань.

Коротко зупинимось на деяких технічних сторонах забезпечення успішного переливання КТ. КТ, який отримують у відділенні переливання крові за заявкою лікаря, повинен мати таке ж маркірування, як і інші трансфузійні засоби (еритроцитна маса, плазма). У паспортній частині має бути указана кількість тромбоцитів у даному контейнері. Їх підраховують після закінчення процедури отримання. Важливо, щоб тромбоцити були отримані від донора, який не вживав напередодні алкоголю, лікарських засобів, які мають властивості дезагрегантів (ацетилсаліцилова кислота, пентоксифілін тощо). Безпосередньо перед трансфузією КТ лікар ретельно перевіряє маркування контейнера, його герметичність, ідентичність груп крові донора і реципієнта за системою антигенів АВ0 та резус. Якісну повноцінність і придатність КТ оцінюють за фактами відсутності мікроагрегатів, наявності ефекту рівномірного переламування світла ("муаровості"). Конкретні показання для переливання тромбоцитів установлює лікар на підставі динаміки клінічної картини захворювання, аналізу причин тромбоцитопенії і ступеня її виразності. Показання до трансфузії КТ мають бути чітко обґрунтовані.

Таким чином, при переливанні КТ можуть виникати різноманітні реакції та ускладнення, появленню яких у більшості випадків можна запобігти застосуванням сучасних методів отримання концентрату, зменшенням присутності в ньому інших клітин, особливо лімфоцитів, правильним підбиранням і обстеженням донора, дотриманням умов зберігання КТ, проведенням доступного спектру скринінгових досліджень на наявність збудників гемотрансмісивних інфекцій.

4.4. Трансфузії плазми

У лікувальній практиці широко застосовують свіжозаморожену плазму (СЗП), нативну плазму, кріопреципітат і препарати плазми: альбумін, γ -глобуліни, концентрати факторів згортання крові, фізіологічні антикоагулянти (антитромбін III, білки С і S), компоненти фібринолітичної системи.

«Плазма свіжозаморожена» (ПСЗ) – компонент донорської крові, заготовленої на гемокоагулянтах ЦФД, Глюгіцир, ЦФДА–1, АЦД-А, отриманий

методом центрифугування чи аферезу, заморожений в межах часу до температури, яка здатна адекватно підтримувати фактори згортання крові у функціональному стані. У замороженому стані – щільна затверділа маса жовтуватого кольору, або з зеленуватим відтінком, без еритроцитів та візуальних ознак гемолізу. ПСЗ підлягає обов'язковому карантинному зберіганню тривалістю 180 діб від моменту заготівлі крові. Плазма, що не пройшла обов'язковий карантин видачі для застосування не підлягає!

Об'єм однієї дози компонента, заготовленого методом центрифугування становить (240 ± 20) мл, методом плазмаферезу – від 600,0 до 800,0 мл.

Вміст фактора VIIIc після заморожування і розморожування становить, у середньому, 70 % від дози плазми, загального білку – не менше 50 г/л, еритроцитів – менше $6,0 \times 10^9$, лейкоцитів – менше $0,1 \times 10^9$, тромбоцитів менше $50,0 \times 10^9$.

Плазму зберігають при температурі від мінус 30°C і нижче протягом 36 місяців, при температурі від мінус 18°C до мінус 30°C – 3 місяці. Температурний режим зберігання ПСЗ передбачає проведення цілодобового моніторингу.

Під свіжозамороженою плазмою слід розуміти відокремлену від еритроцитів методами центрифугування або аферезу і внесену для повного заморожування до низькотемпературного холодильника при температурі мінус 30°C протягом 1 год. після отримання і не пізніше ніж через 6 годин після ексфузії крові у донора. Означений режим отримання СЗП дозволяє забезпечити її тривале зберігання – до 1 року.

Радою Європи в «Правилах підготовки, використання і контролю за якістю компонентів крові» (2000 р.) дано таке тлумачення поняття СЗП: «Під СЗП розуміють трансфузійне середовище, що отримують із цільної крові або методом афереза і заморожують на такий період часу і до такої температури, при яких зберігаються лабільні фактори згортання як у достатній кількості так і у функціональному стані». У СЗП в оптимальному співвідношенні удається зберігати лабільні (V та VIII) та стабільні (I, II, VII, IX) фактори згортання. У правильно за технологією приготовленій СЗП рівень фактора VIII повинен становити не менше 70% від початкового. Відокремлену від еритроцитів плазму необхідно заморожувати таким чином, щоб у процесі охолодження температура протягом 1 год. знизилась до мінус 30°C . Зберігають СЗП при температурі мінус 30°C протягом року, а при температурі мінус $18-25^\circ\text{C}$ – не більше трьох місяців. Перераховані технологічні вимоги до СЗП наведені нами не випадково, адже саме від якості СЗП залежить її ефективність. Саме тому Радою Європи рекомендується через кожні 2 міс. перевіряти якість СЗП в партії за рівнем фактора VIII. Його рівень постійно має перевищувати 70%. Якщо у процесі фракціонування вилучити з плазми кріопреципітат, то та її частина, що залишилася є супернатантною фракцією плазми (кріосупернатант). Він має свої показання до застосування.

Після вилучення із плазми води, концентрація в ній білків, плазменних факторів згортання, зокрема VIII, IX, суттєво зростає. Таку плазму називають концентратом нативної плазми. СЗП, яку застосовують для переливання, має

бути тієї ж групи, що і у реципієнта за антигенами системи АВ0. Сумісність плазми за антигенами системи Rh при переливанні не носить обов'язкового характеру, оскільки плазма є безклітинним трансфузійним середовищем. Однак при значних обсягах переливання СЗП (понад 1 л) забезпечення Rh сумісності слід також прагнути. Бажано, щоб СЗП відповідала наступним стандартним критеріям якості: білка не менше 60 г/л, гемоглобіна – не менше 0,05 г/л, калія – не менше 5 ммоль/л. Рівень трансаміназ має бути у межах нормальних значень, результати аналізів на маркери сифілісу, гепатитів В і С, ВІЛ-інфекцію - негативні. Після розморожування СЗП має бути використаною протягом 1 год. Повторне її заморожування неприпустиме. В екстрених випадках при відсутності одногрупної СЗП є припустимим переливання плазми групи АВ(IV) реципієнту з будь-якою групою крові.

Об'єм СЗП, що отримують із однієї дози методом центрифугування, становить 200-250 мл. При проведенні подвійного донорського плазмаферезу вихід плазми може становити 400-500 мл, а апаратного плазмаферезу – до 600 мл.

Показаннями до застосування СЗП є: ДВЗ-синдром, що розвивається як ускладнення шока різного походження (гемолітичного, геморагічного, септичного) чи обумовлений іншими причинами (емболія навколоплідними водами, важкі травми з синдромом роздавлювання, обширні хірургічні операції, краш-синдром тощо); синдром масивних трансфузій; гостра масивна (понад 30% ОЦК) крововтрата з розвитком геморагічного шока і ДВС-синдрому; хвороби печінки, що супроводжуються зменшенням продукції плазменних факторів згортання і їх дефіцитом; передозування антикоагулянтів непрямої дії; тяжкі отруєння; сепсис; коагулопатії, що обумовлені дефіцитом плазменних фізіологічних антикоагулянтів.

Не рекомендують переливати СЗП для відновлення ОЦК і парентерального живлення. Обережно підходять до призначення СЗП хворим, які мають обтяжений трансфузіологічний анамнез або ознаки застоїсної серцевої недостатності.

Переливання свіжозамороженої плазми здійснюють через стандартну систему для переливання з фільтром. Швидкість переливання (крапельно чи струмінно) визначається з урахуванням клінічних показань, наприклад, при гострому гіпокоагуляційному ДВЗ-синдромі – переважно струмінно. Забороняється переливання СЗП декільком хворим із одного контейнера. При переливанні СЗП обов'язковим є здійснення біологічної проби. Обсяг переливання СЗП залежить від клінічних показань. При гіпокоагуляційному ДВЗ-синдромі одномоментно вводять не менше 1000 мл, контролюючи при цьому гемодинамічні показники та центральний венозний тиск.

При гострій масивній крововтраті, що складає 30% ОЦК або 1500 мл (для дорослих) і супроводжується розвитком гострого гіпокоагуляційного ДВЗ-синдрому, кількість СЗП, яку застосовують для переливання, становить не менше 800-1000 мл (не менше 25-30% всього обсягу трансфузійних середовищ для відновлення крововтрати). В умовах гострої масивної крововтрати і обумовленому нею гострому ДВЗ-синдромі відбувається розбалансування і

виснаження як згортальних так і протизгортальних механізмів. У цей процес виявляються залученими всі протеолітичні системи плазми, в них виявляють порушення різного ступеня. Оптимальним трансфузійним середовищем при гострій масивній крововтраті є СЗП, в якій у природньому збалансованому стані збережені всі необхідні компоненти. Трансфузійну терапію СЗП завжди слід здійснювати з великою об'ємною швидкістю (швидкими краплями), що дозволяє досягти швидкого відновлення в крові реципієнта спожитих факторів згортання плазми. Об'єм СЗП, що переливається, повинен бути тим більшим, чим гостріше і важче перебігає масивна крововтрата і виразнішими є ознаки ДВЗ-синдрому (10-15 мл/кг маси тіла і більше). Рецидив кровотечі або повторне подовження протромбінового часу за умови зменшення рівня фібриногена менше 1 г/л, подальше зменшення або відсутність прирощення кількості тромбоцитів, зникнення ретракції згустка диктують необхідність повторних переливань СЗП у кількості, що нормалізує ці показники.

Переливання СЗП, як свідчать новітні дані, є патогенетично ефективним методом лікування шлункових кровотеч, що обумовлені розвитком гострого ерозивного гастриту. Мікроциркуляторні порушення в слизовій шлунка при означеному захворюванні обумовлені мікротромбоутворенням (ДВЗ-синдром). Відновлення нормальної мікроциркуляції завдяки переливанню СЗП і призначенню інших патогенетичних засобів, дозволяє у переважній більшості випадків уникнути оперативного втручання.

При хронічному гіперкоагуляційному ДВЗ-синдромі переливання СЗП поєднують із призначенням гепарину і проводять коагуляційний контроль, який є критерієм ефективності терапії і визначає її обсяги і тривалість. За означеної ситуації обсяг перелитої СЗП, за звичай, становить не менше 600 мл.

При захворюваннях печінки, що супроводжуються різким зменшенням рівня плазменних факторів згортання крові і загрожують виникненням кровотечі, особливо у разі оперативних втручань, показано переливання СЗП із розрахунку 15 мл/кг маси тіла. Повторне переливання СЗП здійснюють через 4-8 год. у менших обсягах – 5-10 мл/кг. Безпосередньо перед переливанням СЗП розморожують на водяній бані при температурі 37⁰С. Іноді це супроводжується появою фібринових пластівців, що не є приводом для відміни проведення переливання СЗП через систему з фільтром. Можливість тривалого зберігання СЗП забезпечує реалізацію принципу “один донор - один реципієнт”. Від одного донора, по мірі його участі у здаванні крові, СЗП може накопичуватися у банку крові. Використання СЗП від одного донора значно зменшує антигенне навантаження на реципієнта.

При переливанні СЗП, як і переливанні інших гемокомпонентних середовищ (еритроцити, КЛ, КТ), існує ризик передавання вірусних та бактеріальних інфекцій. На теперішній час велику увагу приділяють методам вірусної інактивації СЗП, таким як карантин протягом 3-6 міс., обробка детергентами, опромінення тощо. При застосуванні СЗП існує ризик виникнення імунологічних реакцій, що пов'язані з наявністю антитіл у плазмі донора і реципієнта. Найтяжчою імунологічною реакцією є анафілактичний шок. Анафілактичний шок має наступні клінічні прояви: ропасниця або значне

підвищення температури тіла, гіпотонія, бронхоспазм, болі в ділянці серця. Як правило, означені реакції спостерігають у осіб із дефіцитом IgA у реципієнта. При виникненні ознак анафілактичного шоку переливання СЗП припиняють, вводять преднізолон і адреналін або допамін. У осіб із обтяженим алергологічним чи трансфузіологічним анамнезом за 1 год. перед переливанням СЗП проводять премедикацію антигістамінними і глюкокортикоїдними препаратами. У разі необхідності під час трансфузії повторюють їх введення.

Дослідження антигенної сумісності плазми донора і реципієнта методом зустрічної подвійної дифузії в агаровому середовищі за Оухтерлоні, а також за методом Уан'є, показує, що теоретично, реакція антиген-антитіло є можливою при кожному третьому-четвертому переливанні СЗП. Імунізація реципієнта білками плазми здійснюється постійно, адже всі гемокомпонентні трансфузійні середовища, за винятком відмитих еритроцитів, містять білки плазми. Слід вважати, що ще тривалий час ідеальний підбір пари “донор-реципієнт” за антигенами білків плазми залишиться неможливим. Результатом реакції несумісності за антигенами плазми може бути “синдром гомологічної крові”: парадоксальна гіповолемія, порушення мікроциркуляції, гіпотонія, анемія та різного ступеня виразності порушення функціонування паренхіматозних органів.

4.5. Переливання альбуміну

Людський альбумін відноситься до групи простих білків, що складається із 585 амінокислотних залишків і не містить вуглеводів. У клінічній практиці звертають увагу на такі характеристики альбуміна як концентрація його в сироватці і співвідношення із різноманітними глобуліновими фракціями. Показник концентрації альбуміну у сироватці є відображенням інтенсивності синтезу і утилізації білка. Гострі і хронічні порушення білкового балансу швидше є правилом, ніж винятком при різних видах терапевтичної, хірургічної, акушерсько-гінекологічної патології. Фактично при всіх видах гострої хірургічної патології органів черевної порожнини, травмах, шоці тощо порушується білкова рівновага. Дисбаланс білків впливає на всі процеси метаболізму – дифузю, осмос, фільтрацію, активний рух білків і іонів тощо. Будучи вчасно нерозпізнаними і неусунутими порушення білкового обміну у багатьох ситуаціях визначають негативний результат лікування основного захворювання.

Згідно даним А.П. Ржановича і співавт. (1996) потреба у альбуміні складає 0,3 л/рік на лікарняне ліжко, а при виникненні надзвичайних ситуацій – 40 л на 100 потерпілих на 5 днів лікування.

Фармацевтичні підприємства з переробки плазми крові випускають розчини альбуміну 5%, 10%, і 20% концентрації (за кордоном випускаються розчини альбуміну і інших концентрацій, наприклад, 4,5%, 12%, 15%, 25%). Випускають альбумін по 10,0 20,0 50,0 і 100,0 мл 20% розчину; по 10,0 20,0 100,0 і 200,0 (іноді 400,0) мл 5% і 10% розчину. Розчин альбуміну є прозорою рідиною від жовтого до світло-коричневого кольору, що багато у чому

визначається якістю сировини, ступенем очищення і наявністю таких природних барвників як білірубін, гемін.

Застосовуючи альбумін, необхідно враховувати, що розчини 5%, 10%, 20% концентрації мають різну фармакологічну дію. Так, 5% розчин альбуміну є ізоонкотичним, тобто має однаковий із плазмою онкотичний тиск. Введення даного препарату знижує в'язкість крові, покращує мікроциркуляцію. Введення 5% розчину альбуміну є небажаним при набряку мозку і інших станах, коли протипоказані інфузії великої кількості рідини. 10% розчин альбуміну є слабким гіперонкотичним білковим розчином, який здатний підтримувати онкотичний тиск крові. При його застосуванні у циркуляторне русло залучається міжтканинна рідина і утримується у ньому, що супроводжується підвищенням і стабілізацією тиску. Широко застосовують 10% розчин альбуміну в клінічній практиці, особливо при невідкладних станах. 20% розчин альбуміну є гіперонкотичним ін'єкційним засобом. Так, при внутрішньовенному введенні 200,0 мл 20% розчину альбуміну об'єм циркулюючої плазми зростає майже на 700,0 мл. Тому під час інфузії 20% розчину альбуміну слід забезпечувати адекватний ступінь гідратації. Швидкість введення для хворих із нормальним ОЦК повинна складати 1-2 мл/хв. Перед початком інфузії розчини альбуміну зігрівають до температури тіла.

Висока онкотична активність альбуміну обумовлює гемодинамічну дію його розчинів, а здатність зв'язувати різні речовини лежить в основі його дезінтоксикаційної дії. Застосовують альбумін для замісної терапії при гіпопротеїнеміях та забезпечення транспортної функції. Альбумін покращує перфузію тканин при захворюваннях, що супроводжуються гіпопротеїнемією і позитивно впливає на білковосинтетичну функцію печінки, служить джерелом азоту в організмі. Як ні один із відомих кровозамінників, альбумін має одночасно виразну гемодинамічну і білковозамісну, дезінтоксикаційну і діуретичну дію. Застосування альбуміну може проводитись практично без суттєвої попередньої підготовки реципієнта, без визначення групи крові за системами АВ0 і резус. Розчини альбуміну містять менше, ніж плазма, електролітів, що дозволяє вводити значні їх кількості без огляду на електролітне перевантаження. Альбумін не накопичується у органах і тканинах, не впливає на систему згортання крові.

Показання до призначення розчинів альбуміну виділяють абсолютні та відносні. *Абсолютними показаннями* є: нефротичний синдром, гіповолемічний шок, опіки і ексfolіативний дерматит, синдром Лайєла, гостра фаза втрати білка через травний тракт при ураженнях слизової, забезпечення роботи апаратів екстракорпорального кровотоку. *Відносними показаннями* є: декомпенсований цироз печінки, синдром мальабсорбції, постгастректомічний синдром, оперативні втручання при гіпоальбумінемії, патологічне перерозподілення рідини в організмі, гіпоальбумінемія у післяопераційному періоді.

Основним завданням альбуміна є підтримання належного колоїдно-осмотичного тиску. Для визначення дози альбуміну необхідно визначати колоїдно-осмотичний тиск, або показник його значення непрямим методом за

загальним вмістом білка. В нормі показник колоїдно-осмотичного тиску становить 20-25 мм. рт. ст. Із чисельних формул, найуживанішою є наступна:

$$\text{КОТ} = \text{ЗБ} : 3,$$

де: КОТ - колоїдно-осмотичний тиск; ЗБ – загальний білок, г/л; 3 – коефіцієнт створення 1 мм. рт. ст. онкотичного тиску трьома грамами білків крові. *Наприклад*, якщо у людини в нормі міститься загального білка 75 г/л, не важко вирахувати, що КОТ є рівним $75:3=25$ мм. рт. ст.

При хронічній диспротеїнемії разову та добову дозу 10% розчину альбуміна розраховують наступним чином:

$$\text{ДА} = [(\text{НВА} - \text{ФВА}) \cdot V_{\text{пл}}] \cdot 2,$$

де: ДА – доза альбуміну; НВА – необхідний вміст альбуміну; ФВА – фактичний вміст альбуміну; $V_{\text{пл}}$ - об'єм плазми із розрахунку 40 мл/кг. *Наприклад*, хворому, який має масу тіла 70 кг, для підвищення концентрації альбуміна з 35 до 50 г/л необхідно 84 г альбуміна, або відповідно 400 мл 20% чи 1600 мл 5% розчину. Вираховану дозу доцільніше вводити протягом 2-3 днів по 6-9 мл/кг на кожну трансфузію. Для дітей, враховуючи більшу гідрофільність організму, зозування стосовно маси тіла має бути вищим. У новонароджених загальна кількість води в організмі становить 80% маси, з віком вміст води зменшується. У здорового чоловіка маса води становить, в середньому, 60%, а у жінок – 50%. При ожирінні вміст води в організмі на кг маси зменшується у чоловіків до 50%, у жінок – до 42%.

Побічні реакції та ускладнення, що виникають при введенні розчинів альбуміна: температурні (пірогенні) – становлять до 90% всіх побічних реакцій при введенні розчинів альбуміну; бактеріальний сепсис – як наслідок забруднення флаконів і їх розгерметизації; вірусні гепатити; гіпотензивні реакції, що пов'язані з наявністю вазоактивних речовин і недотриманням швидкості введення препарату; анафілактичні реакції; гіперводемичні реакції; алергічні реакції. У разі їх виникнення надається необхідна невідкладна допомога (табл. 14).

Таблиця 14

Невідкладні заходи при виникненні реакцій при переливанні альбуміну

Симптоми	Заходи
Нудота, біль у спині	Негайно припиняють введення
Алергічні реакції	Антигістамінні препарати
Тахікардія, помірна гіпотонія (систолический тиск менше 90 мм. рт. ст.)	Інфузія допаміна 2-4 мкг/(кг·хв), великі дози глюкокортикоїдів, кисень, кровозамінники
Нормоволемічний шок	Збільшення дози допаміну до 10 мкг/(кг·хв), можливо у поєднанні з норадреналіном
Зупинка серця або дихання	Реанімаційні заходи

Протипоказання до застосування альбуміну. Розчини альбуміну не слід застосовувати за станів, коли підвищення артеріального тиску і систолічного об'єму серця є небезпечним: тромбозах, вираженій гіпертонії, внутрішній кровотечі. Введення 20% розчину альбуміну протипоказано при серцево-судинній, дихальній недостатності, порушеннях ритму серця, грудним дітям і хворим похилого і старечого віку. Відносними протипоказаннями є алергічні захворювання.

Тактика застосування альбуміну не може бути шаблонною, оскільки стан хворого весь час змінюється у часі як внаслідок саморегуляції організму, так і під впливом розпочатого лікування. Вона визначається станом конкретного хворого, його основним і супутніми захворюваннями, віком тощо.

4.6. Гемофілія, переливання кріопреципітату та застосування факторів зсідання крові

Гемофілія – це спадковий геморагічний діатез, що характеризується дефіцитом в крові певного фактора згортання, а саме: відсутності або зменшення кількості фактора зсідання VIII (гемофілія А), фактора згортання IX (гемофілія В – хвороба Кристмаса), фактора згортання XI (гемофілія С), що призводить до порушення тромбопластиноутворення та згортання крові. Гемофілії А та В обумовлені спадковим дефектом в Х-хромосомі і успадковуються рецесивно, хворіють тільки чоловіки, а передавачами хвороби є жінки. Гемофілія С успадковується аутосомно, на неї хворіють особи обох статей.

Основними методами лікування гемофілії є замісна терапія препаратами, що містять фактор згортання VIII (при гемофілії А) або фактор згортання IX (при гемофілії В).

Гемофілія А. При гемофілії А внутрішньовенно вводяться гемокомпоненти чи препарати крові, що містять антигемофільний глобулін (фактор зсідання VIII). Такими засобами є кріопреципітат, СЗП, антигемофільна плазма, ліофілізований концентрат фактора зсідання VIII, рекомбінантний фактор зсідання VIII.

Показаннями до замісної терапії при гемофілії А можуть бути: гострі кровотечі, гострі гемартрози, гематоми, больові синдроми, що пов'язані з крововиливами в різні тканини, прикриття хірургічних втручань.

Антигемофільна плазма – це плазма, технологія отримання якої дозволяє добиватися підвищеного вмісту факторів зсідання крові за рахунок заморожування не пізніше, ніж через 3 години після ексфузії крові у донора. Перед переливанням антигемофільну плазму розморожують на водяній бані при температурі до 37⁰С, іноді розводять апірогенним ізотонічним розчином натрію хлориду в об'язі, що становить ½ об'єму антигемофільної плазми. Разова доза антигемофільної плазми становить 10-15 мл/кг маси, добова – 30-50 мл/кг маси. Антигемофільну плазму вводять внутрішньовенно, струмінно, добову дозу поділяють на три введення, що виконують через 8 год. Антигемофільна плазма в дозі 20 мл/кг маси викликає підвищення рівня фактора зсідання VIII

на короткий термін і лише на 10-15%. Переливання антигемофільної плазми є оправданим у разі виникнення невеликих кровотеч, гематом та гемартрозів. Може застосовуватись у хворих на гемофілію з метою профілактики кровотеч при загрозі їх виникнення.

Більш ефективними і надійними при гемофільії А є кріопреципітат, ліофілізований концентрат фактора зсідання VIII, рекомбінантний фактор зсідання VIII.

Кріопреципітат – є білковим концентратом, що отримують із плазми крові за допомогою кріоосадження і який містить окрім фактора зсідання VIII, фібриноген, фактор згортання XIII незначні кількості альбуміна та інших білків.

Кріопреципітат, що отримують із однієї дози крові (450±40 мл), повинен містити як мінімум 100 одиниць фактора VIII. Для забезпечення гемостазу необхідно підтримувати рівень фактора VIII до 50% під час оперативних втручань та до 30% в післяопераційному періоді.

Кріопреципітат заморожений – білковий компонент плазми крові людини, що містить не менше 70 МО фактора VIIIc (антигемофільного глобуліну (АГГ)) та 140 мг фібриногену в одній дозі та не менше 140 МО фактора VIIIc та 240 мг фібриногену в двох дозах, являє собою осад кріоглобулінів білого кольору із 30–40 мл або із 65–75 мл залишкової плазми у замороженому стані.

Компонент отриманий з однієї чи двох доз ПСЗ об'ємом відповідно не менше 200,0 або 400,0 мл. У замороженому стані – тверда маса жовтуватого кольору, а при розморожуванні і розчиненні на водяній бані при температурі 35–37°C – прозора жовтуватого кольору рідина, що не містить механічних домішок, пластівців. Компонент донорської крові, заготовленої на гемокоагулянтах ЦФД та Глюгіцир, виготовлений з карантинізованої плазми, стерильний, тестований на антитіла до ВІЛ-1/2, вірусу гепатиту С, збудника сифілісу, поверхневий антиген вірусу гепатиту В.

Компонент зберігають при температурі мінус 30°C і нижче протягом 36 місяців, при температурі від мінус 18°C до мінус 30°C – 3 місяці. Температурний режим зберігання крфопреципітату замороженого передбачає проведення цілодобового моніторингу.

Потребу в переливанні кріопреципітату розраховують наступним чином:

1) доза кріопреципітату в ОД дорівнює числу від поділу: в чисельнику - маса тіла хворого в кг помножена на заданий рівень фактора VIII в %; в знаменнику – коефіцієнт 1,3.

2) об'єм крові в мл помножений на різницю віднімання (1,0 – показник гематокрита) дорівнює об'єму плазми для переливання в мл;

3) об'єм плазми в мл помножений на різницю віднімання (необхідний рівень фактора VIII – дійсний рівень фактора VIII) дорівнює необхідній кількості фактора VIII для переливання в одиницях;

4) необхідна кількість фактора VIII для переливання в одиницях поділити на 100 од. дорівнює кількості доз преципітата для однократної трансфузії.

Період напіврозпаду фактора VIII становить 8-12 годин, тому для підтримання його терапевтичного рівня слід забезпечувати повторні переливання кріопреципітату. Кількість кріопреципітату, що необхідна для переливання, визначається ступенем важкості перебігу гемофілії та вираженістю кровоточивості. Ступінь важкості гемофілії А слід оцінювати за рівнем фактора VIII в плазмі крові хворого: важкий - при рівні фактора VIII менше 1%, середньої важкості - при рівні фактора VIII від 1 до 5%, легкий – при рівні 6-30%. Терапевтичний ефект перелитого кріопреципітату залежить також і від ступеня розподілу фактора VIII між внутрішньо- і позасудинним простором. Відомо, що близько четвертини перелитого фактора VIII в процесі трансфузії переходить в позасудинний простір. Тривалість терапії переливаннями кріопреципітату або фактора VIII визначається важкістю і локалізацією кровотечі, наявністю клінічних ознак відповіді на лікувальні заходи. При обширних хірургічних операціях або екстракції зубів, рівень фактора VIII слід підтримувати не менше 30% протягом 10-14 днів. У разі відсутності можливості визначати рівень фактора VIII у пацієнта (реципієнта), то опосередковано про адекватність терапії можна судити за показником активованого часткового тромбoplastинового часу: якщо показник у межах норми (30-40 сек.), то рівень фактора VIII, за звичай, вищий 10%.

Одна доза кріопреципітату містить, в середньому, 250 мг фібриногена. Тому ще одним показанням до призначення кріопреципітату є гіпофібриногенемія, котра ізольовано майже не зустрічається, а є ознакою гострого ДВЗ-синдрому. Великі дози кріопреципітату або необгрунтоване його призначення, можуть викликати гіперфібриногенемію, що загрожуватиме тромботичними ускладненнями.

При переливанні кріопреципітату добиваються забезпечення сумісності донора та реципієнта за системою АВ0. Переливання декількох доз від різних донорів загрожує волемічними порушеннями, особливо у дітей. При переливанні кріопреципітату можуть спостерігатися анафілактичні і алергічні реакції. У разі їх виникнення припиняють переливання та призначають антигістамінні препарати, преднізолон, адреналін тощо.

Зберігають кріопреципітат у замороженому стані при температурі мінус 30°C. За одну одиницю фактора згортання VIII, як і будь якого іншого фактора згортання, приймають його вміст в 1 мл нормальної плазми. Кріопреципітат вводять внутрішньовенно після попереднього розморожування при кімнатній температурі в дозах від 10 до 30-50 і більше ОД/кг маси тіла на добу. За звичай, призначають 1-2 внутрішньовенні вливання протягом доби. Підбір дози кріопреципітату проводять з урахуванням ситуації та рівня фактора згортання VIII. При помірних гострих гемартрозах, невеликих кровотечах із носа, малих хірургічних втручаннях, екстракції зуба рівень фактора згортання VIII у хворого слід підтримувати на рівні понад 10%. Для досягнення такого результату слід вводити кріопреципітат щодоби у дозі 15-20 ОД/кг маси тіла. При виражених гемартрозах, підшкірних і міжм'язових гематомах, екстракції декількох зубів, порожнинних операціях, травматологічних та ортопедичних втручаннях рівень фактора згортання VIII у хворого слід підтримувати на рівні

понад 25-30%, для чого слід вводити кріопреципітат щодобово у дозі 35-40 ОД/кг маси тіла. Наявність кровотеч із травного тракту, необхідність проведення травматичних порожнинних операцій, тозілектромії, макрогематурії, операції в ортопедії і травматології повинні супроводжуватися підтриманням рівня фактора згортання VIII у хворого понад 40% і більше. Для цього слід вводити кріопреципітат в дозі 60-100 ОД/кг маси тіла хворого щодоби. Названі дози кріопреципітату вводять внутрішньовенно, струмінно в 1-2 призначення.

На теперішній час кріопреципітат слід розглядати не стільки в аспекті трансфузійного середовища для лікування хворих на гемофілію А та хворобу Віллебранда, скільки як джерело сировини для подальшого фракціонування і отримання очищених концентратів фактора VIII.

Концентрат фактора VIII – є високо активним препаратом з великим вмістом фактора VIII та низькою концентрацією баластних сполук. Препарат зберігають у холодильнику при температурі мінус 4⁰С. Безпосередньо перед застосуванням концентрат фактора VIII розчиняють у невеликому об'ємі апірогенної води для ін'єкцій, що додається в упаковці. Вміст концентрату фактора VIII в одному флаконі складає 250, 500 або 1000 ОД, про що вказується на етикетці. Методика розрахунку потреби в ньому ідентична кріопреципітату. На сьогодні на фармацевтичному ринку в світі наявні чисельні препарати фактора VIII, ряд із них зареєстровано в Україні.

Невідкладна допомога при кровотечах у хворих на гемофілію А при внутрішньом'язевих та великих підшкірних крововиливах полягає у призначенні концентрованих препаратів фактора VIII в дозі 15-20 ОД/кг маси тіла хворого щоденно протягом 5-7 днів. Пункцію гематом із наступною аспірацією крові здійснюють тільки у разі здавлення волокон нервових стовбурів та порожнинних органів. Маніпуляцію здійснюють під прикриттям додаткового введення антигемофільних препаратів із розрахунку 30 ОД/кг маси. Таку дозу вводять ще протягом 7 днів після проведення пункції гематоми, після чого доза концентрату фактора VIII може бути зменшена до 15-20 ОД/кг маси тіла хворого. Курс лікування становить 12-15 днів.

При гемартрозах здійснюють тимчасову іммобілізацію ураженого суглоба у фізіологічному положенні терміном 3-5 діб. Призначають сухе тепло чи зігріваючі компреси. Замісна гемостатична терапія концентратом фактора VIII при помірних гемартрозах становить 15-20 ОД/кг маси тіла хворого одноразово щодоби протягом 5-7 днів, у важких випадках - 35-40 ОД/кг. Для профілактики вторинного запалення після аспірації крові в порожнину суглоба вводять 40-60 мг гідрокортизона чи 20-40 мг кеналого-40.

При кровотечах із носа у хворих на гемофілію А здійснюють тампонаду, а потім вводять одноразово концентрат фактора VIII в дозі 15 ОД/кг маси тіла пацієнта. Слизову носа оброблюють тромбластином, тромбіном, андроксоном кожні 3-4 год.

За наявності гематурії при гемофільії призначають постільний режим, рекомендують вживати до 2,5-3 л/добу рідини. Вводять концентрований антигемофільний препарат в дозі 60-80 ОД/кг маси тіла хворого одноразово щодоби протягом 1-3 днів. ξ -амінокапронову кислоту та інші інгібітори

фібринолізу не призначають, оскільки вони сприяють утворенню нерозчинних згустків в сечовидільних шляхах. Призначають преднізолон в дозі 1-2 мг/кг з поступовою редукцією дози.

При обширних операціях та крововиливах у внутрішні органи концентрований антигемофільний препарат спочатку вводять в дозі 60-100 ОД/кг маси, а потім кожні 12 год. - в дозі 25 ОД/кг маси щодня протягом 5-7 днів, а далі – одноразово протягом тижня в дозі 15-20 ОД/кг на добу.

Гемофілія В. Замісну терапію гемофілії В проводять СЗП або сухою донорською плазмою, в якій тривалий час зберігається фактор згортання ІХ. СЗП вводять із розрахунку 10-20 мл/кг щоденно. На сьогодні існують концентрати фактора згортання ІХ, які призначають одноразово внутрішньовенно струмінно із розрахунку 40-50 ОД/кг на добу. Період напіввиведення фактора згортання ІХ становить близько 24 год., тому рекомендують дотримуватися інтервалу його введення 18-24 год.

Застосовують і концентрат протромбінового комплексу (PPSB), який містить протромбін та фактори згортання VIII, IX, X. Гемостатичну терапію концентратом фактора згортання ІХ проводять до повного спинення кровотечі. До стійкої зупинки кровотечі не слід призначати введення кровозамінників, оскільки це може спонукати розведення концентрації фактора згортання ІХ в циркуляторному руслі.

Гемофілія С. Замісна гемостатична терапія при гемофілії С зводиться до призначення трансфузій СЗП або сухої плазми для лікування та запобігання кровотеч. СЗП при легких формах захворювання призначають в дозі 4-5 мл/кг, що дозволяє досягти підвищення рівня фактора згортання XI в плазмі крові на 10%. При важких та середньо важких формах гемофілії С призначають переливання СЗП в дозі 8-10 мл/кг, що підвищує рівень фактора згортання XI на 20%. Трансфузії призначають кожні 48 год. на початку лікування, а потім – через кожні 72 год. Така трансфузійна тактика обумовлена тим, що період напіввиведення фактора згортання XI становить після першої трансфузії – близько 60 год., а після повторних – 120 год.

Причинами неефективності замісної терапії у хворих на гемофілію найчастіше є: наявність ефекту розбавлення та повільне введення концентратів факторів зсідання, кріопреципітату та СЗП, їх дробне введення та малі неадекватні дози; паралельне вливання кровозамінників, що обумовлює зменшення концентрації антигемофільних факторів у циркуляторному руслі пацієнта; наявність антитіл до факторів згортання крові.

4.6.1. Рекомбінантний фактор зсідання крові VIIa

У 1989 році U. Hedner et al. вперше продемонстрували ефективність застосування рекомбінантного фактора VII (рФVII) при лікуванні гемофілії. Відомо, що тканинний фактор (ТФ), утворюючи комплекс із ФVIIa, ініціює процес коагуляції крові за “зовнішнім” шляхом. Процес коагуляції виникає при ушкодженні судин, внаслідок чого циркулюючий у крові ФVIIa приєднується до ТФ. Комплекс ФVIIa-ТФ фіксується у локусі ушкодження судини. У

подальшому відбувається активація факторів IX і X за допомогою ТФ. Утворений фактор IXa перетворює протромбін у тромбін, який активує тромбоцити та фактори VIII і V. Із іншого боку, для тривалої активації фактора V необхідна взаємодія факторів IXa і III. Медіатором перетворення фактора IX в активну форму ФІХа виступає комплекс ФVІІа-ТФ. Після утворення ФІХа і тромбіну вплив комплексу ФVІІа-ТФ на гемостаз інгібується каскадом ТФ.

Як показали дані клінічних досліджень останнього часу, ФVІІа у високих концентраціях в плазмі здатний індукувати гемостаз незалежно від ТФ, але у присутності фосфоліпідів. Вірогідним механізмом дії рФVІІа є фіксація означеного фактора до ТФ у місці ушкодження судини та наступною активацією комплексом ФVІІа-ТФ факторів IX і X. Фактор Ха перетворює невеликі кількості протромбіну у тромбін, чого достатньо для дисоціації комплексу, що складається із ФVІІІ і фактора Вілебранда, та активації тромбоцитів. Іншим можливим механізмом дії ФVІІа є його незалежна від ТФ здатність активувати ФХ у присутності достатньої кількості фосфоліпідів на поверхні тромбоцитів.

Саме означений механізм дії лежить у основі гемостатичних ефектів Ново Севен, який на сьогодні застосовують не тільки для замісного лікування дефіциту ФVІІ, а головним чином – для лікування інгібіторних форм гемофілії А і В. Клінічні дані останнього десятиліття свідчать про високий гемостатичний ефект даного засобу при гемофілії. Ефективність рФVІІа за кровотеч при гемофілії, що пов'язані із травмуванням, необхідністю хірургічного втручання, таких, що виникали спонтанно, було доведено багатоцентровими та рандомізованими дослідженнями. Для досягнення і підтримання гемостазу у хворих на гемофілію А або В необхідна наявність високої концентрації рФVІІа у плазмі крові (10 од/мл), тому Ново Севен рекомендують призначати в дозі 70-120 мкг/кг маси тіла хворого. Дана доза дозволяє досягти достатньо високого рівня згортуючої активності – 60-80 од/мл.

Останнім часом з'явилися дані про застосування рФVІІа для лікування інших станів, що супроводжуються порушенням гемостазу, зокрема, при паренхіматозних кровотечах, цирозі печінки, профузних кровотечах при виразковій хворобі, сепсисі і септицемії, лейкоміях, травматичних ушкодженнях, великих хірургічних втручаннях, прийомі антикоагулянтів непрямої дії.

Таким чином, рФVІІа є препаратом нового покоління, що дозволяє ефективно лікувати порушення гемостазу.

Розділ 5 ПОСТТРАНСФУЗІЙНІ УСКЛАДНЕННЯ

Переливання компонентів крові є потенційно небезпечним способом корекції дефіциту певного виду компонентів крові у реципієнта. Ускладнення після трансфузії, які раніше в літературі називали “трансфузійні реакції”, можуть бути обумовлені самими різними причинами і спостерігатися у різні терміни після переливання. Одні з них можна запобігти, а інших – ні. Персонал відділень, у яких проводиться гемокомпонентна терапія, зобов’язаний володіти необхідним обсягом знань та умінь для запобігання і лікування ускладнень переливання крові. Дані стосовно причин безпосередніх ускладнень при проведенні гемокомпонентної терапії наведено в табл. 15 .

Таблиця 15

Можливі безпосередні ускладнення гемокомпонентної терапії

Ускладнення	Причина, що їх обумовила
ІМУНОЛОГІЧНІ УСКЛАДНЕННЯ	
Гострий гемоліз	Групова несумісність еритроцитів донора і реципієнта
Гіпертермічна негемолітична реакція	Домішки (наявність) гранулоцитів у трансфузійному середовищі
Анафілактичний шок	Наявність готових до взаємодії антитіл класу IgA
Уртикарна реакція	Наявність антитіл до білків плазми
Некардіогенний набряк легень	Наявність готових антитіл до лейкоцитів чи активація комплементу
НЕІМУНОЛОГІЧНІ УСКЛАДНЕННЯ	
Гострий гемоліз	Руйнування еритроцитів донора у судинному руслі реципієнта внаслідок порушення температурного режиму, термінів зберігання, їх підготовки до переливання, змішування з гіпотонічними розчинами
Бактеріальний шок	Бактеріальне забруднення трансфузійного середовища
Гостра серцево-судинна недостатність	Волемічне перевантаження
Набряк легень	Волемічне перевантаження

Дані стосовно причин віддалених ускладнень при проведенні гемокомпонентної терапії наведені в табл.16.

Можливі віддалені ускладнення гемокомпонентної терапії

Ускладнення	Причина, що їх обумовила
ІМУНОЛОГІЧНІ УСКЛАДНЕННЯ	
Гострий гемоліз	Утворення антитіл до антигенів еритроцитів внаслідок повторних трансфузій
Реакція “трансплантат проти живителя”	Переливання неопромінених стовбурових клітин та лімфоцитів
Посттрансфузійна пурпура	Вироблення антитромбоцитарних антитіл
Алоімунізація антигенами еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, білків та ферментів плазми	Наявність антигенів донорського походження до означених клітин та ферментів плазми
НЕІМУНОЛОГІЧНІ УСКЛАДНЕННЯ	
Перевантаження залізом	Чисельні (понад 50) переливання еритроцитарних середовищ
Гемотрансмісивні інфекційні захворювання	Бактеріальна, паразитарна, гельмінтна чи вірусна контамінація трансфузійного середовища
Цитратна інтоксикація	Перевантаження натрія цитратом при масивних переливаннях

5.1. Гострий гемоліз

Гострий імунний гемоліз є одним із основних ускладнень переливання еритроцитарних трансфузійних середовищ. В основі його виникнення лежить взаємодія антитіл реципієнта з антигенами донора. Як наслідок, відбувається активація системи комплемента, пускових механізмів системи згортання, гуморального імунітету. Клінічні прояви гемолізу, як правило, обумовлюються розвитком проявів циркуляторного шоку, гострим ДВЗ-синдромом і гострою нирковою недостатністю. Найважчий перебіг має гострий гемоліз при несумісності за антигенами систем АВ0 та Rh. Несумісність за іншими груповими антигенами також може бути причиною виникнення гострого гемолізу у реципієнта, особливо за умови стимуляції алоантитіл попередніми переливаннями клітинних компонентів чи повторних вагітностей. За означених ситуацій підбирання пари донор-реципієнт має здійснюватися за допомогою постановки проби Кумбса.

Надзвичайно важливою умовою своєчасності надання медичної допомоги реципієнту у разі виникнення гострого гемолізу є мінімізація часу між підозрою на його виникнення, діагностикою та початком терапевтичних заходів. Від термінів встановлення факту початку гемолізу та своєчасності заходів залежить важкість перебігу його проявів.

Початкові клінічні ознаки гемотрансфузійного шоку, що обумовлений гемолізом несумісних еритроцитів, можуть виникати безпосередньо під час переливання або поспіль. Це, найчастіше, є біль у ділянці серця, грудній клітці, животі та попереці, відчуття жару, короткочасне збудження. У подальшому з'являються тахікардія, артеріальна гіпотонія. У периферичній крові проявляються ознаки внутрішньосудинного гемолізу – гемоглобінемія, білірубінемія, а в сечі – гемоглобінурія. Пізніше з'являються лабораторні симптоми порушення функції нирок і печінки. Підвищуються показники креатініну і сечовини у крові, з'являється гіперкаліємія, зменшується погодинний діурез, іноді настає анурія. Якщо гемотрансфузійний шок настає під час оперативного втручання, що проводиться під загальним знеболенням, його клінічними ознаками можуть бути немотивована кровоточивість із країв операційної рани, виникнення гіпотонії, а за наявності катетера у сечовому міхурі – поява сечі темно-вишневого чи чорного кольору. Тяжкість клінічного перебігу визначається об'ємом перелитих несумісних еритроцитів, характером основного захворювання, загальним станом реципієнта перед трансфузією. Адекватність і своєчасність лікарських заходів є визначальним моментом для запобігання поглиблення патофізіологічних механізмів подальшого розвитку шоку. В першу чергу терапія має бути спрямована на нормалізацію артеріального тиску та відновлення ниркової перфузії. Непрямим свідченням адекватності ниркової перфузії є нормалізація показника погодинного діурезу, який у дорослих становить не менше 100 мл протягом 18-24 год. після виникнення гострого гемолізу.

Терапія гострого гемолітичного постротрансфузійного шоку починається із припинення переливання еритроцитів (обов'язково зберігають контейнер із трансфузійним середовищем для встановлення справжньої причини його виникнення). Одночасно, через ті ж системи розпочинають проводити інтенсивну інфузійну терапію під контролем центрального венозного тиску. Переливання сольових розчинів і колоїдів (альбумін) проводять для запобігання гіповолемії і порушення перфузії нирок. При відсутності анурії і відновленому ОЦК для стимуляції діуреза і зменшення осадження продуктів гемолізу в дистальних канальцях нефронів, призначають осмотичні діуретики (20% розчин маннітола із розрахунку 0,5 г/кг маси тіла або фуросемід 4-6 мг/кг. У разі позитивної відповіді на діуретики, тактику форсованого діурезу продовжують. Одночасно проводять приготування до проведення термінового плазмафереза в обсязі не менше 1,5 л для вилучення з циркуляторного русла вивільненого гемоглобіна, продуктів деградації фібриногена. Обов'язково заміщують вилучену плазму переливаннями СЗП. Паралельно призначають гепарин під контролем показника часу згортання крові або коагулограми. Оптимальним є внутрішньовенне введення гепарина в дозі 1000 ОД/год. за допомогою інфузомата.

Імунне походження гемолітичного постротрансфузійного шоку обумовлює призначення преднізолону в перші години після його виникнення. Преднізолон призначають внутрішньовенно в дозі 3-5 мг/кг маси. Якщо виникає необхідність корекції анемії (концентрація гемоглобіну менше 50-60 г/л),

здійснюють трансфузію відмитих індивідуально підібраних еритроцитів. Застосування дофаміну в малих дозах (до 5 мкг/кг щохвилини) посилює нирковий кровоток і сприяє успішнішому виведенню реципієнта із шока.

У випадках неефективності означених заходів, коли комплексна терапія не запобігає розвитку гострої ниркової недостатності і у реципієнта виникає анурія, уремія, гіперкаліємія є показаним лікування у відділенні гемодіалізу, куди хворого терміново переводять.

5.2. Відтерміновані гемолітичні реакції

Відстрочені гемолітичні реакції можуть виникнути через декілька годин чи днів поспіль переливання еритроцитів. Вони настають внаслідок імунізації реципієнта під час попередніх трансфузій. Антитіла, що утворені внаслідок імунізації, з'являються у кров'яному руслі реципієнта через 10-14 днів після переливання несумісних еритроцитів. Якщо чергова трансфузія співпала із початком антитілоутворення, то антитіла, що з'являються, можуть взаємодіяти із циркулюючими в руслі крові реципієнта еритроцитами донора. Гемоліз еритроцитів при цьому є невиразним. Діагностується такий гемоліз на підставі зменшення показника концентрації гемоглобіна, появи ретикулоцитозу, підвищення рівня прямого білірубіна, появи антиеритроцитарних антитіл (виявляються пробою Кумбса). Відстрочені в часі гемолітичні реакції в практичній роботі спостерігаються нечасто, тому відносно є мало вивченими. Специфічного лікування не вимагають, але диктують необхідність контролю функції нирок.

5.3. Бактеріальний шок

Основною причиною пірогенних реакцій є потрапляння ендотоксина бактерій до трансфузійного середовища. Це відбувається при пункції вени, підготовці до трансфузії, під час зберігання крові при недотриманні правил консервування та температурного режиму. Ризик бактеріальної контамінації збільшується пропорційно терміну зберігання компонентів крові. Крайнім клінічним проявом контамінації бактеріями трансфузійного середовища за важкістю перебігу є бактеріальний шок. Клінічна картина при переливанні забрудненого бактеріями середовища нагадує таку при септичному шоку. Спостерігається різке підвищення температури тіла, озноб, настає виразна гіперемія обличчя і верхньої частини туловища, з'являється збудження, що змінюється пригніченням, виникає гіпотонія, може бути нудота, блювання, діарея, біль в м'язах.

При виникненні підозри на контамінацію бактеріями трансфузійного середовища і появу клінічних ознак бактеріального шоку, припиняють трансфузію і обстежують на бактеріальний рост кров реципієнта, підозріле трансфузійне середовище та залишки інших розчинів, що переливались внутрішньовенно хворому. Дослідження проводять на предмет виявлення як

аеробної, так і анаеробної інфекції. Бажаним є застосування експрес-методик виявлення бактерій.

Лікування зводиться до призначення антибіотиків широкого спектру дії, проведення протишокових заходів, застосування вазопресорів та інотропних засобів для нормалізації артеріального тиску.

Профілактичні заходи по недопущенню контамінації бактеріями трансфузійного середовища зводяться до ретельного дотримання правил асептики при пункції вени, постійному контролі за температурним режимом при зберіганні трансфузійних середовищ і візуальному контролі перед переливанням.

5.4. Реакції, що обумовлені наявністю антилейкоцитарних антитіл

Негемолітичні фебрильні реакції, що спостерігаються під час переливання або безпосередньо після його закінчення, характеризуються підвищенням температури тіла реципієнта на 1⁰С і вище. Означені фебрильні реакції є наслідком наявності в плазмі крові реципієнта цитотоксичних або аглютинуючих антитіл, що вступають в реакцію з антигенами, які містяться на поверхні мембрани перелитих лімфоцитів, гранулоцитів або тромбоцитів. Переливання відмитих еритроцитів, еритроцитів, що обіднені лейкоцитами і тромбоцитами (ЕМОЛТ), суттєво зменшує частоту виникнення фебрильних негемолітичних реакцій. Підвищує безпеку трансфузійної терапії застосування лейкоцитарних фільтрів. Негемолітичні фебрильні реакції, за звичай, спостерігаються при повтєрих переливаннях, або у жінок, які мали декілька вагітностей. Призначення жарознижуючих лікарських засобів є ефективним для купірування негемолітичних фебрильних реакцій.

Слід пам'ятати, що підвищення температури тіла, яка виникає після трансфузії, нерідко є першими ознаками гемолітичного шоку або бактеріального забруднення трансфузійного середовища. Діагноз негемолітичної фебрильної реакції встановлюють методом виключення інших причин, що можуть пояснити її виникнення.

5.5. Анафілактичний шок

Анафілактичний шок при переливанні компонентів крові проявляється після вливання декількох мілілітрів трансфузійного середовища. Першими проявами анафілактичного шоку може бути раптова поява непродуктивного кашлю, бронхоспазму, задишки, гіпотонічної реакції, спастичного болю в животі, нудоти, блювання, діареї, втрата свідомості. Причиною анафілактичного шоку найчастіше є дефіцит IgA у реципієнтів і утворення у них анти-IgA-антитіл після раніше проведених переливань чи вагітностей, що були в минулому. Дефіцит IgA зустрічається з частотою 1:700 осіб.

Терапія анафілактичного шоку включає наступні заходи: припинення трансфузії, термінове введення адреналіна під шкіру, внутрішньовенну інфузію фізіологічного розчину, застосування 100 мг преднізолону або гідрокортизону

внутрішньовенно. При підозрі на дефіцит IgA у осіб, яким має проводитися трансфузія компонентів крові, доцільно застосовувати аутологічні компоненти крові. У разі відсутності такої можливості можуть переливатися розморожені відмиті еритроцити.

5.6. Гостре волемічне перевантаження

Гіперволемія настає внаслідок різкого підвищення ОЦК за рахунок трансфузії компонентів крові чи колоїдних розчинів. Проявляється гіперволемія підвищенням систолічного артеріального тиску, задишкою, сильним головним болем, цианозом, кашлем, ортопноє, появою ознак набряку легень. Швидке зростання об'єму крові в циркуляторному руслі погано переноситься хворими із захворюваннями серця, легень, анеміями, коли є збільшений об'єм циркулюючої плазми. Трансфузії невеликих об'ємів крові можуть бути причиною судинного перевантаження у новонароджених.

Припинення трансфузії, надання тілу реципієнта вертикального положення, призначення кисню та сечогінних засобів, як правило, швидко усувають клініку гіперволемії. Якщо її явища не проходять, проводять плазмаферез. При схильності до волемічного перевантаження швидкість переливання становить 1 мл/кг маси тіла за годину. При необхідності значних переливань плазми, перед трансфузією призначають діуретики.

5.7. Синдром масивних трансфузій

Для забезпечення рідкого стану компонентів крові поза судинним руслом при їхньому зберіганні, до ємностей, що їх містять додають розчини антикоагулянтів і консервантів. Антикоагуляція досягається додаванням натрія цитрата в кількості, що забезпечує зв'язування іонізованого кальція. Життєздатність консервованих еритроцитів підтримується зменшенням рівня рН та надлишком кількості глюкози. В процесі зберігання еритроцитів, із них постійно вивільнюється калій, що супроводжується підвищенням його рівня в трансфузійному середовищі. Метаболізм амінокислот супроводжується зростанням рівня аміака. Консервовані еритроцити тривалого терміну зберігання відрізняються наявністю гіперкаліємії, різного ступеня гіперглікемії, підвищенням кислотності, вмісту аміака і фосфатів. На разі виникнення важкої масивної крововтрати виникає термінова необхідність переливання значної кількості консервованих еритроцитів. У означеній ситуації відмінності між циркулюючою кров'ю та консервованим еритроцитарним середовищем стають клінічно значимими. Такі ускладнення як цитратне і калієве перевантаження обумовлені швидкістю трансфузії, а інші, наприклад, гіпотермія – залежать як від швидкості так і від обсягів переливання.

Масивне переливання в обсязі ОЦК (3,5 – 5 л для дорослих) протягом 4-5 год. може викликати серйозні метаболічні порушення у організмі реципієнта. Клінічно найзначимішими є наступні прояви синдрому масивних трансфузій є наступні.

Порушення гемостазу. Після масивної крововтрати і переливання значних обсягів гемокомпонентів у 20-25% пацієнтів реєструються різноманітні порушення гемостазу, генез яких обумовлений розвитком ДВЗ-синдрому, розведенням факторів згортання плазми циркулюючої крові, дилуційною тромбоцитопенією та, частково, гіпокальціємією. Вирішальна роль у розвитку істинної постгеморагічної або посттравматичної коагулоп становит атії відіграє ДВЗ-синдром. Трансфузія у обсязі, що дорівнює ОЦК, при наявності крововтрати понад 30% зменшує концентрацію факторів згортання до 18-37% їхнього початкового рівня. Хворі з ДВЗ-синдромом внаслідок масивних трансфузій характеризуються дифузною кровоточивістю із хірургічних ран та місць ін'єкцій. Важкість проявів залежить від величини крововтрати і об'єму переливання, що потребувався, його співвідношення з об'ємом крові у реципієнта.

Терапевтичний підхід до хворих з ДВЗ-синдромом внаслідок масивних трансфузій базується на замісному принципі. У означеній ситуації СЗП і КТ є найкращими трансфузійними компонентами для відновлення компонентів системи гемостазу. СЗП містить оптимальний набір факторів згортання. Кріопреципітат може застосовуватися лише у разі встановлення факту виразного зменшення рівня фібриногена. Трансфузії КТ є показаними при зменшенні кількості тромбоцитів менше $50 \cdot 10^9/\text{л.}$, що дозволяє запобігти кровоточивості.

Цитратна інтоксикація. Рівень натрія цитрату після трансфузії різко знижується внаслідок розведення. Надлишок натрія цитрату швидко метаболізується, але може зв'язуватися із іонізованим кальцієм, який мобілізується із скелетних запасів. При необхідності переливання еритроцитної маси, СЗП із великою швидкістю, цитратній інтоксикації можна запобігти профілактичним призначенням препаратів кальцію для внутрішньовенного введення.

Ацидоз. Показник нормального значення рН циркулюючої крові становить 7,4. Консервовані еритроцити із застосуванням глюкозоцитратного розчину вже після першої доби зберігання мають рН 7,1, а на 21-й добу зберігання – рН 6,7. Таке виразне наростання ацидозу обумовлене утворенням лактату і інших кислих метаболітів клітин крові, а також внесенням натрія цитрату і фосфатів. Слід враховувати, що хворі ще до призначення масивних трансфузій можуть мати виразний метаболічний ацидоз.

Відновлення нормального кровотоку призводить до нормалізації ацидозу, що обумовлений гіповолемією і гіперперфузією.

Гіперкаліємія. В процесі зберігання еритроцитарної маси рівень калію у позаклітинному просторі на 21-й день наростає з 4 до 79 ммоль/л при одночасному зменшенні вмісту натрія. При переливанні значної кількості еритроцитів необхідно контролювати рівень калія в сироватці крові і проводити ЕКГ-моніторинг (можлива поява аритмії, гострого зубця Т, брадікардії, подовження комплексу QRS). У разі виникнення проявів гіперкаліємії призначають препарати кальція, глюкози із відповідною кількістю простого інсуліну.

Гіпотермія. У хворих в стані геморагічного шоку сповільнюються метаболічні процеси, що можна розцінювати як компенсаторно-приспосовну реакцію для збереження енергії. Переливання холодної консервованої крові може поглиблювати гіпотермію і пов'язані із нею патологічні прояви. Для запобігання гіпотермії перед переливанням рекомендують підігрівати гемокомпонентні середовища на водяній бані при температурі не вище 37⁰С та дотримуватися температурного режиму у палатах інтенсивної терапії та операційних.

Практика свідчить, що синдром масивних трансфузій практично не спостерігається, якщо цільну кров замінюють її компонентами. Синдром масивних трансфузій з важкими наслідками і високою летальністю нерідко спостерігається в акушерстві при гострому ДВЗ-синдромі, коли замість СЗП переливається цільна кров.

5.8. Трансфузійно-трансмисивні інфекції, що передаються при трансфузіях компонентів крові

Однією із найважливіших проблем сучасної трансфузіології є гемотрансмисивні інфекції (ГТІ). При організації проведення трансфузійної терапії у клінічній практиці є актуальними визначення ступеню ризику виникнення пострасфузійних ускладнень, у разі їх розвитку - ідентифікація збудника, визначення ступеня його патогенності, можливості персистенції чи здатності викликати субклінічний перебіг захворювання, розробка заходів профілактики можливих інфекційних ускладнень. В останні роки з'явилися дані щодо нових збудників гемотрансмисивних захворювань, зокрема вірусного походження, їх епідеміологію, особливості патогенезу та клінічних проявів, методів діагностики та лікування. Розширення наших знань що до збудників ГТІ, розуміння тієї шкоди, що вони завдають здоров'ю медичного персоналу та реципієнтам компонентів крові, а іноді і ставляють під загрозу їхнє життя, виникає нагальна необхідність інформування широкого загалу лікарів щодо ГТІ.

З позицій сучасних уявлень про структуру ГТІ, їх поділяють на чотири великі групи: **вірусні** (ВІЛ-I та ВІЛ-II; Т-лімфотропний вірус людини I типу (HTLV-I) та II типу (HTLV-II); віруси гепатитів А, В, С, D, E, F, G, TTV, SEN-V; віруси звичайного герпесу I та II типів, вірус вітряної віспи – оперізуючого лишаю (герпесвірус людини типу 3), цитомегаловірус (CMV) або герпесвірус людини типу 5, вірус Епштейна-Барр (EBV) або герпесвірус людини типу 4, віруси герпесу людини VI, VII, VIII типів, парвовірус В19 тощо); **бактеріальні** (збудники сифілісу та фрамбезії, бруцельозу, рикетсиозів, прокази, сальмонельозу, збудники малярії, токсоплазмозу, лейшманіозу, бабезіозу, тріпаносомозу тощо); **обумовлені гельмінтами** (шистосомоз, філяріоз тощо); **інфекції, що можуть бути значимі як гемотрансмисивні у майбутньому** (пріонні хвороби; викликані бактеріями, що здатні утворювати L-форми; вірусні лихоманки, енцефаліти тощо).

Установами служби крові в Україні здійснюється тестування заготовленої крові на наявність збудників гепатитів В та С, ВІЛ-І та ВІЛ-ІІ, сифілісу. Почалось впроваджуватись тестування на виявлення антитіл до CMV.

У структурі ГТІ найпоширенішою групою інфекцій, що має медичне та соціально-економічне значення є посттрансфузійні гепатити (ПГ). ПГ – це група антропонозних вірусних захворювань, які виникають після проведення гемокомпонентної трансфузійної терапії чи препаратів крові, що контаміновані вірусами гепатитів (ВГ), цитомегаловірусом (CMV), а також внаслідок передавання означених вірусів із кров'ю вірусоносія (донора, хворого, медичного персоналу) в процесі заготовлення, фракціонування чи переробки крові або/та під час виконання трансфузіологічних операцій. ПГ розглядаються як варіант штучного, створеного удосконаленням медичних технологій механізму передачі інфекцій вірусної природи. Серед гепатитів з парентеральним шляхом передавання ПГ у різних країнах складають 2 - 21 %. За даними міжнародної асоціації переливання крові (ISBT,1998) в Фінляндії та Голандії ПГ в структурі гепатитів із парентеральним шляхом передавання становить близько 5%, в Німеччині, Франції, США, Японії до 10%, а в Італії та Іспанії до 21%, в країнах СНД - близько 10%. На думку ряду авторів, абсолютна кількість випадків ПГ знаходиться у прямій корелятивній залежності від загальної захворюваності на гепатити у конкретній області чи країні, стану організації служби крові, частоти безсимптомного носійства серед населення, інтенсивності реалізації інших шляхів передавання збудників тощо. Як показало поглиблене вивчення епідеміології вірусних гепатитів, зокрема ПГ, в Україні, не зважаючи на збільшення в останні роки захворюваності на вірусні гепатити, частота ПГ не збільшилась, значно змінилась структура вірусних гепатитів, які передаються парентеральним шляхом. Збільшилась кількість вірусних гепатитів, які виникають внаслідок ін'єкційного уведення наркотичних засобів. В етіологічній структурі ПГ збудники розташовані наступним чином: вірус гепатиту С – 50-88 %, гепатиту В – 25-50 %, цитомегаловірус – 4-6 %, інші віруси – 1-4 %.

Вірус гепатиту В (HBV) було виявлено в 1964 році. Перша назва поверхневого антигену даного віруса – “австралійський антиген” – пов'язана з його виявленням у сироватці крові австралійських аборігенів. Пізніше поверхневий антиген HBV отримав назву HB_sAg. Особливістю HBV є його висока інфекційність. Інфекційність сироватки крові зберігається навіть за умови її розведення в 10⁷-10⁸ разів при t 30-32⁰C вірус зберігається протягом 6 місяців, а при обробці сухим жаром - 160⁰C протягом 1 години.

ПГ D займає незначну долю серед ПГ, оскільки вилучення зразків крові і її компонентів, що мають маркери HBV, призводить до мінімізації ризик зараження вірусним гепатитом D при проведенні гемотрансфузійної терапії.

Збудник вірусного гепатиту С – HCV було ідентифіковано в 1989 році. На сьогодні ПГ С у структурі ПГ у різних країнах складає від 50 до 88 %, причому, існує варіабельність абсолютних і відносних показників його поширеності, як і інших ПГ, по мірі удосконалення медичних технологій його діагностики. Відомо 12 генотипів вірусного гепатиту С. До впровадження в практику

обстеження донорів гемокомпонентів на анти-НСV, сероконверсію протягом 6 місяців спостерігали у 12,4 % кардіохірургічних хворих, у 6,6 % хворих, які отримували 1-12 гемотрансфузій та у 16,3 % пацієнтів, яким було здійснено понад 12 гемотрансфузій.

Перелік збудників ВГ за останні роки поповнився з відкриттям J. Simons та J. Linnen (1996) вірусу гепатиту G (HGV) та TTV (T. Nishizawa et al., 1997). ПГ G може виникати після трансфузій крові та її компонентів, проведення трансплантації. Після гемотрансфузій може виникати гострий та фульмінантний ПГ. Клінічна картина ПГ G найчастіше перебігає з нормальними або незначно підвищеними показниками активності амінотрансфераз. Зниження кількості копій РНК HGV у сироватці крові і поява антитіл до оболонкового антигена (анти-Е₂) є маркерами видужання від гепатиту G. ПГ, що викликається HGV, відносять до інфекцій з парентеральним шляхом передачі. Можливим є вертикальний шлях інфікування.

Діагностика ПГ ТТ (ТТ – аббревіатура за ініціалами хворого, із сироватки якого і було виділено вірус. Хворий занедужав на гепатит після гемотрансфузії) базується на особливостях клініки (гострий, фульмінантний, хронічний гепатит), виявленні ДНК TTV у сироватці, гепатоцитах, а також антитіл до вірусу ТТ. Не дивлячись на незначну питому вагу гепатитів G і ТТ в структурі ПГ, їх роль у випадках коінфекції з іншими вірусами гепатитів, зокрема HBV, HCV, до кінця не в'яснена.

Гепатит, етіологічно зв'язаний із вірусом SEN-V, про який вперше заговорили зовсім недавно (1999), епідеміологічно є подібним гепатитам, які передаються парентерально (B, C, D). Можливо, SEN-V є відповідальним за нерозшифровані випадки спалахів гострого і хронічного гепатиту.

ПГ, пов'язаний з інфікуванням цитомегаловірусом (CMV), в структурі ПГ займає декілька відсотків. Його питома вага зростає у імунокомпроментованих пацієнтів. CMV має здатність персистувати у тканинах і лейкоцитах протягом декількох років після первинного інфікування. Кров, яка не має анти-CMV антитіл не несе ризику інфікування CMV. У реципієнтів, які мають розлади імунітету, приєднання CMV-інфекції призводить до тяжких ускладнень з ураженням внутрішніх органів, розвитку ПГ CMV, часто з летальними наслідками. Для пацієнтів із ознаками імунодефіциту слід застосовувати гемотрансфузійні середовища тільки від CMV-негативних донорів.

Кров практично будь-якого донора, що інфікований збудником вірусного гепатиту (навіть A, E, F) на стадії вірусемії, може стати джерелом зараження реципієнта. Особливостями клініки ПГ називають їхній повільний субклінічний перебіг, настирливий, прогресуючий характер, велику частоту трансформації в цироз та онкологічні захворювання (гепатокарцинома). Цілком ймовірно, що етіологічна структура ПГ по мірі поглиблення знань про гепатотропні віруси, суттєво зміниться з роками.

Наступною актуальною проблемою для установ служби крові є поширеність **ВІЛ-інфекції/СНІДу** серед донороспроміжного населення. Нещодавно Рада безпеки Європи визначила СНІД, поширеність якого набула характеру пандемії, як загрозу для безпеки людства. В 1981 році офіційно було

повідомлено про появу нового захворювання, що отримало назву “синдром набутого імунодефіциту людини” або СНІД (англ. AIDS – The Acquired Immune Deficiency Syndrome). На сьогодні виділено та ідентифіковано два типи вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ-1 та ВІЛ-2), які мають відмінності у геномах та антигенній структурі білків. ВІЛ-1 є причиною теперішньої пандемії ВІЛ-інфекції/СНІДу у світі, а ВІЛ-2 основною причиною ВІЛ-інфекції та СНІДу в 15 країнах Західної Африки. За даними ООН на початок 2000 р. на Земній кулі 33,5 млн. мешканців є ВІЛ-інфікованими, а 18 млн. – вже померли від СНІДу. За вище означеними даними, щодня у світі інфікується близько 16 тис. осіб, причому половина із них – у віці 14-25 років. В Європі основне поширення ВІЛ-інфекції/СНІДу пов’язують із статевими (гомо-, бі- та гетеросексуальними) стосунками, ін’єкційним вживанням наркотиків. Україна за темпами росту кількості ВІЛ-інфікованих займає провідне місце у Східній Європі. Середній показник розповсюдження ВІЛ-інфекції у нашій державі становить 68,8 на 100000 мешканців, а в Дніпропетровській, Донецькій, Миколаївській та Одеській областях він перевищує середній рівень у 2 і більше разів. Особливістю ВІЛ-інфекції є здатність збудника довгий час (8-12 років і більше) перебувати в організмі людини без прояву маніфестних форм хвороби.

Згідно класифікації ВООЗ (1988) у розвитку ВІЛ-інфекції/СНІДу виділяють п’ять стадій захворювання: 1) гострого захворювання; 2) безсимптомного носійства; 3) персистуючої генералізованої лімфаденопатії; 4) СНІД-асоційований комплекс; 5) СНІД.

В Україні з 1987 року проводиться обов’язкова реєстрація всіх випадків ВІЛ-інфекції/СНІД. Наявність ВІЛ-інфекції/СНІД підтверджують виявленням антитіл до ВІЛ у сироватці крові за допомогою спеціальних тестів (ІФА, ІБ). До ВІЛ-інфікованих відносять осіб з позитивними результатами лабораторного дослідження незалежно від наявності ознак клінічних проявів хвороби. СНІД є останньою маніфестною стадією ВІЛ-інфекції і у дорослої людини встановлюється за умови лабораторного підтвердження наявності антитіл до ВІЛ та одного і більше СНІД-індикаторних захворювань: кандидоз трахеї, бронхів, легенів чи стравоходу; кокцидіомікоз поширений або позалегеневий; криптококоз позалегеневий; криптоспоридіоз з діареєю, що триває понад місяць; цитомегаловірусна інфекція у хворих віком понад місяць, що супроводжується ураженням внутрішніх органів; цитомегаловірусний ретиніт із втратою зору; герпетична інфекція із хронічними виразками, що не виліковується протягом місяця, або з ураженням бронхів, легень, стравоходу; гістоплазмоз, поширений або позалегеневий; ізоспороз з діареєю понад місяць; інфекції викликані *M. kansasii*, поширені або позалегеневі; легеневий туберкульоз та його позалегеневі форми; інші захворювання спричинені мікобактеріями, поширені або позалегеневі; пневмонія, що спричинена *P. carinii*; повторні пневмонії; прогресуюча множинна лейкоенцефалопатія; сальмонельозна септицемія, що рецидивує; токсоплазмоз мозку; цервікальний рак; енцефалопатія, що пов’язана з ВІЛ; саркома Капоші; лімфоїдна інтерстиціальна пневмонія у дітей до 13 років; лімфома Беркіта; лімфома

імунобластна; лімфома мозку (первинна); синдром виснаження, обумовлений ВІЛ (схуднення, слім-хвороба).

Джерелом ВІЛ-інфекції/СНІДу є інфікована людина. В організмі такої особи ВІЛ або його антигени виявляються в усіх без винятку біологічних рідинах (кров, сеча, слина, слиз піхви, чоловіче сім'я, піт, сльози, грудне молоко, спинно-мозкова рідина, кров'янисті виділення у жінок інші біологічні рідини, що контаміновані кров'ю). Найбільші концентрації ВІЛ визначаються у крові, чоловічому сімені, слизу піхви, грудному молоці, що має важливе епідеміологічне значення. В інших біологічних рідинах концентрація вірусу є незначною. Зараження медичних працівників відбувається при контакті інфекційно небезпечних біологічних рідин, зокрема, крові, ВІЛ-інфікованого з пошкодженою шкірою, кон'юнктивою чи іншими слизовим оболонками працівника. Таку загрозу представляють маніпуляції під час інвазивних обстежень, взяття крові, оперативних втручань, лабораторних досліджень, лікарських маніпуляцій, проведенні гемотрансфузійної терапії тощо.

Т-лімфотропні віруси людини I та II типів (HIV-I, II) можуть викликати ураження центральної нервової системи та злоякісні захворювання системи крові. У США введений обов'язковий скринінг анти- HIV-I, II-антитіл у донорів. Ендемічними для HIV-I та HIV-II вірусів районами є Карибський басейн, Африка, узбережжя Тихого океану, Японія, Адріатичне узбережжя. В ендемічних районах інфікованість населення сягає до 15%.

Герпесвіруси – це ДНК-вмісні віруси, які широко розповсюджені у популяції людей і є пантропними, тобто здатні уражати практично всі органи та системи організму, викликаючи латентну, гостру та хронічну форми інфекції. Основні шляхи інфікування людини вірусами герпесу представлені повітряно-крапельним, статевим, трансплантаційним, трансплацентарним та гемотрансфузійним. В організмі людини герпесвіруси викликають різноманітні інфекційні захворювання, що проявляється ураженням слизових оболонок і шкірних покривів, поверхонь ран, центральної нервової системи, органу зору, внутрішніх органів тощо. Відомо, що на сьогодні структура герпесвірусних інфекцій у людини представлена вірусами простого герпесу I та II типу (ВПГ-I та ВПГ-II), вірусом вітряної віспи – оперізуючого лишая (варіцелла-зостер), який має назву герпесвірус людини типу III, вірусом Епштейна-Барра (EBV), який офіційно називають герпесвірус людини тип IV, цитомегаловірусом (CMV), який має назву герпесвірус людини тип V. Окрім означеного виділяють віруси герпесу людини типу VI, VII, VIII. На підставі різноманітних біологічних властивостей всіх представників родини герпесвірусів поділяють на три підродини: альфа-, бета- і гамма-герпесвіруси. Альфа-герпесвіруси, що представлені герпесвірусами I, II, та III типу, мають здатність до швидкого поширення, викликають цитоліз та латентні інфекції у нейронах. Бета-герпесвіруси (до них належать віруси герпесу людини типу V, VI, VII,) викликають явища цитомегалії, інфекції з латентним перебігом у нирках та слинних залозах. Гамма-герпесвіруси, до яких відносяться EBV, вірус герпесу людини типу VIII, здатні персистувати у лімфоїдних клітинах та викликати у них лімфопроліферативні порушення. Епідеміологічні дослідження показали,

що понад 90% людей віком понад 40 років мають антитіла до вірусу простого герпеса I типу. Антитіла до ВПГ-I із збільшенням віку виявляються менш часто порівняно із антитілами до ВПГ-II, частота виявлення котрих корелює із статевою активністю. Безсимптомне виділення ВПГ-I із слиною відмічають у 2-9% дорослих та 5-8% дітей, а ВПГ-II виділяють із статевих шляхів 0,3-5,4% чоловіків та 1,6-8% жінок. ВПГ-I та ВПГ-II викликають ураження шкіри (губи, обличчя, руки тощо), слизових (стоматити, гінгівіти, фарингіти тощо), геніталій, органу зору (кон'юнктивіт, кератит, іридоцикліт), внутрішніх органів (езофагіт, гепатит, пневмонія тощо), нервової системи (енцефаліт, менінгіт, арахноїдіт, мієліт, неврити тощо). Інфікування ВПГ-I та ВПГ-II відбувається в перші тижні постнатального періоду.

ВПГ-III викликає вітряну віспу, яка перебігає без ускладнень або супроводжується пневмонією чи менінгоенцефалітом. Персистенція ВПГ-III в організмі призводить до оперізуючого герпесу як локалізованої нервової форми у вигляді гангліоневропатії чи гангліорадикулопатії, так і шкірно-слизової (герпес шкіри, слизових, геніталій, органів слуху, зору тощо) або генералізованої (менінгіт, пневмонія, гепатит, менінгоенцефаліт тощо) чи дисемінованої з ураженням понад двох органів.

Інфікування EBV характеризується виникненням клініки інфекційного моноклеозу, а вторинна – розвитком пухлин: В-клітинної лімфоми, лімфоми Беркіта, карциноми носоглотки, лімфогранулематозу, лейкоплакій. EBV має тропізм до В- і Т-лімфоцитів, які мають поверхневі рецептори до нього. EBV може тривалий час існувати як латентна інфекція, здатний викликати синдром хронічної втоми. Передається вірус, в основному, із слиною. Можливим є гемотрансмісивний шлях передачі. У докільця вірус виділяється із носоглотки протягом 18 місяців після інфікування, а у серопозитивних осіб – протягом усього життя. Через 18-24 години після проникнення вірусу через CD-рецептори, ядерні антигени вірусу EBV уже виявляються в ядрах В-лімфоцитів. На мембранах В-лімфоцитів, що інфіковані EBV, появляються лімфоцит-детерміновані мембранні антигени, які здатні виступати як мішені при формуванні реакцій клітинного імунітету стосовно EBV-інфікованих В-лімфоцитів. Іморталізовані В-лімфоцити здатні продукувати імуноглобуліни під дією поліклональної стимуляції EBV. Дані антитіла можуть грати провідну роль у виникненні різноманітних ускладнень інфекційного моноклеозу. Після інкубаційного періоду, що триває 4-8 тижнів, з'являються продромальні симптоми – ломота, слабкість, зниження апетиту, субфебрилітет. За кілька днів поспіль приєднуються фарингіт, лихоманка (у 90% хворих), лімфаденопатія. При неускладненому перебізі інфекційного моноклеозу явища фарингіта проходять через 7-10 днів, температура нормалізується на 10-14 день, але може спостерігатися і довше. Тривалість лімфаденопатії близько 3 тижнів. Захворювання може супроводжуватися грізними ускладненнями. Це гематологічні ускладнення: аутоімунна гемолітична анемія, тромбоцитопенія, гранулоцитопенія, розрив селезінки; неврологічні: енцефаліт, параліч черепних нервів, зокрема параліч Белла, менінгоенцефаліт, синдром Гійєна-Барре, судоми, множинний моноврит, поперековий мієліт, психози; кардіологічні:

перикардит, міокардит; легеневі: інтерстиціальна пневмонія, обструктивний синдром; з боку печінки – гепатит. Залишається дискусійною роль EBV у онкогенезі та виникненні пухлин і злоякісних новоутворень. Доведеною є його етіологічна роль у виникненні лімфоми Беркітта, анапластичної карциноми носоглотки, лімфатичних лімфом тощо.

CMV інфекція, за звичай, характеризується латентним або субклінічним перебігом, але зустрічаються і тяжкі форми, що обумовлені як первинним інфікуванням, так і реактивацією вірусу. Ці захворювання супроводжуються утворенням характерних крупних клітин. Звідси і назва – цитомегаловірус (CMV). Понад 1% новонароджених вже інфіковані ним. CMV може передаватись з кров'ю, грудним молоком, слиною, сім'яною рідиною тощо. Антитіла до CMV виявляють у 100% жінок-повій та сексуально активних чоловіків-гомосексуалістів. Трансфузії компонентів крові, що містять життєздатні лейкоцити може у 2-10% закінчуватися інфікуванням CMV. Ставши інфікованою, людина залишається вірусоносієм протягом усього життя. Виникнення первинної інфекції у пубертатному чи юнацькому віці супроводжується виразною реакцією Т-лімфоцитів, що проявляється синдромом мононуклеозу, клініка якого подібна до того, що викликається вірусом EBV. Ураження головного мозку CMV зустрічається не часто, головним чином у немовлят та хворих з імунодефіцитними станами, зокрема ВІЛ-інфікованих. При імунодефіцитних станах можуть виникати CMV-пневмонія, гепатит, ретиніт, езофагіт, гастрит, ентероколіт, енцефаліт, мієліт, полірадикулопатія, полінейропатія кінцівок тощо. Генералізована форма CMV-інфекції є потенційно смертельною, як правило супроводжується стійкою вірусемією, панцитопенією, гіпотензією, геморагічними проявами та ураженням декількох органів.

Специфічна профілактика CMV-інфекції відсутня. Як профілактичну міру можна рекомендувати використання у трансфузійній терапії компонентів крові CMV-негативних донорів. Проникнення ВПГ-VI в організм відбувається переважно у ранньому віці, що супроводжується грипоподібним синдромом, збільшенням лімфатичних вузлів та неврологічними проявами у вигляді втомлюваності та депресії. З гострою первинною ВПГ-VI-інфекцією асоціюються мієліт енцефаломієліт (синдром хронічної втоми) та раптова екзантема у немовлят, гістіоцитарний некротичний лімфаденіт, інфекційний мононуклеоз тощо. Із персистентною ВПГ-VI-інфекцією асоційовані лімфопроліферативні захворювання – лімфаденопатія, поліклональна лімфопроліферація та злоякісні лімфоми, неходжкінські лімфоми, Т-клітинний лейкоз, В-клітинна лімфома тощо. Вважається, що ВПГ-VII може спричиняти лімфопроліферативні захворювання, раптову екзантему, синдроми хронічної втоми та імунодефіциту. ВПГ-VIII є асоційованим із саркомою Капоші.

За даними ВООЗ, герпесвірусні захворювання посідають друге місце (15,8%) після грипу (35,8%) серед причин смерті від вірусних захворювань. Серйозним ускладненням герпесвірусних інфекцій є ураження нервової системи, зокрема герпесвірусні енцефаліти, які складають 20-30% інфекційних ускладнень центральної нервової системи. Ураження центральних і

периферичних відділів нервової системи є одним із найзагрозливіших, не завжди зворотніх, ускладнень герпесвірусних захворювань.

“Арбовірусні” інфекції. Арбовіруси – це збірна назва вірусів, поширюються через кровосмоктальних комах між сприйнятливими хребетними хазяями: розмножуються викликаючи вірусемію у хребетних, поширюються у тканинах комах і проникають в організм нового хазяїна при укусах комах після того як пройшли період зовнішньої інкубації. На сьогодні понад 250 антигенно різноманітних “арбовірусів” згруповані у п’ять родин. Геном переважної більшості із них представлений односпіральною РНК. Дані віруси поширені практично у всіх географічних зонах, за винятком полярних регіонів. Більшість “арбовірусних” інфекцій перебігає безсимптомно. У разі виникнення захворювання, клінічна картина варіює як за ознаками подавляючого синдрому, так і за тяжкістю його проявів. Частіше захворювання закінчується самостійно і характеризується пропасницею, головним болем, міалгією та слабкістю. Як самостійна ознака може мати місце лімфаденопатія. “Арбовіруси” частіше викликають три основні клінічні синдроми: артралгію – артрит (наприклад, віруси Майяро, денге, лихоманки Західного Нілу тощо), енцефаліт – асептичний менінгіт (наприклад, віруси Кемерово, західного енцефаліту коней, японського енцефаліту, омської геморагічної лихоманки, російського весняно-літнього енцефаліту, флеботомної лихоманки, Ріфт-Валлі тощо), геморагічні захворювання (віруси жовтої лихоманки денге, омської геморагічної лихоманки, Ебола, Марбург, Хантаан, конго-кримської геморагічної лихоманки, тощо). Специфічною особливістю ряду представників “арбовірусів” є їх здатність викликати в організмі хазяїна інфекцію, що персистує. Таким чином формується резервуар вірусу, причому у організмі це може не супроводжуватись ознаками інфікування та імунної відповіді. Ця група вірусів повинна розглядатись як така, що має значення для гемотрансузійної безпеки.

Як видно із наведеного, гемотрансмисивні інфекції вірусного походження є досить актуальною проблемою для установ служби крові та практичної ланки охорони здоров’я у всьому світі. Удосконалення системи організації донорства, лабораторних технологій і скринінгових досліджень в трансфузійній медицині дозволяють сподіватись на мінімізацію ризику передавання вірусів із кров’ю.

Сифіліс. Перше повідомлення про випадок зараження сифілісом при переливанні крові було зроблено J.F. Fordyce в 1915 р. Серологічні дослідження при участі у донорстві дозволяють упередити передавання сифілісу, але за винятком інкубаційного періоду та перших трьох тижнів первинного періоду, крім ще, за звичай, серологічні тести (мікроагрегація преципітації, реакція зв’язування комплекта), що застосовуються при скринінгових дослідженнях є негативними. Установлено, що трепонема (*Treponema pallidum*) зберігає життєздатність в донорській крові до 4 діб. В останні роки спостерігається підвищення захворюваності на сифіліс у популяції, що неминуче відбивається на інфікованості донорспроможного контингенту. За даними статистики, у Москві кров в первинному серонегативному періоді в 1994 р. здали 0,19% платних та 0,07% безплатних донорів. Реально зростає загроза збільшення

числа гемотрансмісивного шляху передавання сифілісу. Питання участі у донорстві осіб, що хворіли у минулому на сифіліс, активно дискутуються серед трансфузіологів. Нагальною є потреба створення єдиного державного реєстру донорів і контролю за захворюваністю серед них.

Інше захворювання, що також викликається трепоневою (*Treponema pertense*) є **фрамбезія**. Даний вид трепонем є поширеним на Африканському континенті, в той час як *Treponema pallidum* є більш поширеною в Європі та Америці. Збудники відрізняються серологічними характеристиками, але для них властиві спільні закономірності епідеміологічного процесу.

Рикетсіози. Рикетсії – це облигатні внутрішньоклітинні паразити, що за розмірами рівні бактеріям і виглядають при мікроскопічному дослідженні як поліморфні кокові бактерії. Патогенні для людини рикетсії здатні розмножуватися в одному або кількох видах членистоногих, організмі людини та тварин. Для рикетсій є характерним циклічний розвиток, який включає комаху як переносника і тварину як резервуар. Людина не відіграє суттєвої ролі в цьому циклі. Інфікування відбувається через шкіру (укуси кліщів, блох, вошей) або дихальні шляхи. До рикетсіозів належать група плямистих лихоманок (плямиста лихоманка Скалистих гір, марсельська лихоманка, північноазіатський кліщовий риккетсіоз, везикульозний риккетсіоз тощо), група тифів (ендемичний або блошиний, епідемічний або сипний, хвороба Брілла, лихоманка цуцугамуші тощо) та інші (Ку-лихоманка, окопна лихоманка тощо). Можливим є гемотрансмісивний шлях передавання цих інфекцій.

Основні зміни при означених захворюваннях відбуваються в судинах, в результаті чого настає набряк, проліферація та дегенерація ендотеліальних клітин, що часто супроводжується тромбоутворенням. У м'язевому шарі артеріол також спостерігають набряк та фібриноїдні зміни. Адвентиційна оболонка судин інфільтрується мононуклеарними лейкоцитами, лімфоцитами та плазматичними клітинами. Інтерстиціальний міокардит є характерним для всіх захворювань. Можуть виникати мікроінфаркти головного мозку та серцевого м'яза, рикетсіозний пневмоніт тощо.

Паразитарні хвороби. На сьогодні паразитарні хвороби, такі як малярія, трипаносомози, лейшманіози, шистосомози і філятріози слід розглядати як актуальну проблему в трансфузіології. За останні роки в силу ряду причин технічного, соціального, економічного характеру відбулося різке збільшення поширеності деяких із означених захворювань.

Малярія – це протозойне захворювання, що передається від людини до людини через укуси комарів роду *Anopheles*, супроводжується лихоманкою, пропасницею, спленомегалією, анемією та характеризується хронічним рецидивуючим перебігом. В США і Європі щорічно реєструється декілька тисяч завозних випадків малярії у осіб, що прибувають із ендемічних районів. Збудниками малярії є простійші роду *Plasmodium*. Для людини є патогенними *P.vivax*, *P.ovale*, *P.malariae*, *P.falciparum*. Інкубаційний період при триденній і тропічній малярії складає 10-14 днів, а при чотириденній – від 8 днів до 6 тижнів. В патофізіології захворювання важливе місце займає інвазіювання, розмноження, ушкодження та руйнування еритроцитів паразитами, місцеві та

системні порушення кровообігу та пов'язані з цим метаболічні зміни. Для діагностики малярії важливим є ретельно зібраний анамнез у хворого на лихоманку. На другому тижні розвивається спленомегалія. Збільшення кількості лейкоцитів не є властивим для малярії. Діагноз малярії підтверджують виявленням малярійних плазмодіїв в еритроцитах (застосовують метод товстої краплі). У світі продовжують реєструватись випадки посттрансфузійної малярії, тому слід ретельно дотримуватись правил допуску до донорства осіб, що бували у відрядженнях до тропічних країн.

Тріпаносомози. Тріпаносоми – це поліморфні джгутикові простійші, що мають стадійні зміни при зміні хазяїна – хребетного і безхребетного.

Африканський трипаносомоз або сонна хвороба викликається, в основному, джгутиковим паразитом *Trypanosoma brucei*, а також *Trypanosoma brucei gambiense*, *Trypanosoma brucei rhodesiense*, *Trypanosoma brucei brucei*. Переносником є муха цеце. Захворювання характеризується гострою лихоманкою, лімфаденопатією та приєднанням хронічного менінгоенцефаліту. Збудник тривалий час здатний циркулювати у крові інфікованого не даючи про себе знати. Дане захворювання є проблемою як гемотрансмісивна інфекція для країн Африканського континенту.

Американський трипаносомоз (хвороба Шагаса) – інфекція, що викликається *Trypanosoma cruzi*, характеризується тривалим латентним періодом (іноді десятиліття), гострим іноді безсимптомним перебігом та тривалим повільним розвитком хронічних уражень міокарду та травного тракту. Хвороба Шагаса зустрічається в країнах Латинської Америки та Мексиці. Переносником є клопи редувиїди. Клінічні прояви бувають у 30% інфікованих. У хворих клінічно спостерігається лихоманка, генералізована лімфаденопатія, гепатоспленомегалія, а іноді – специфічний набряк обличчя та туловища. Із пізніх клінічних проявів інфекції слід назвати ураження серцево-судинної системи, тромбоемболічні ускладнення, мегаколон, мегаезофагус, неврологічні прояви – розумове відставання та мозочкові симптоми. Діагностика основана на виявленні трипаносом у крові хворого та позитивних результатах серологічних реакцій. Ефективних способів лікування на сьогодні не існує. В ендемічних районах установи, що займаються заготівлею крові або застосовують гемотрансфузії як метод лікування, проводять скринінгові обстеження крові на наявність трипаносом.

Токсоплазмоз. Токсоплазмоз у деякій мірі може являти певну небезпеку при гемотрансфузіях. Викликається облигатними внутрішньоклітинними простійшими *Toxoplasma gondii*. Токсоплазми відносяться до кокцидій і зустрічаються у трьох формах: тахізоїт, циста, ооциста. Тахізоїти паразитують у будь-яких клітинах ссавців, за винятком безядерних еритроцитів. На означеній стадії можливе передавання із компонентами крові від донора до реципієнта.

Бабезіоз. Бабезіоз є захворюванням, що відоме із біблейських часів у диких та домашніх тварин. Викликається простійшими із роду *Babesia*. Бабезії передаються кліщами, розмножуються в еритроцитах, викликають гостру лихоманку, гемолітичну анемію з гемоглобінурією. Вперше у людини захворювання описано в Югославії (1957). На сьогодні описано понад 200

випадків захворювання на бабезіоз. У людини бабезіоз викликають *Babesia bovis*, *Babesia divergens*, *Babesia microti*. Захворювання перебігає важко і у ряді випадків закінчується летально. У ряду хворих відмічено персистуюче носійство збудника і троє з них служили причиною трансфузійної інфекції.

Гельмінтози. Існує цілий ряд гельмінтозів, що можуть передаватись через кров, оскільки самі гельмінти або їх личинки присутні у периферичній крові. Коротко охарактеризуємо деякі із них.

Філятріози – група гельмінтозів, що викликаються ниткоподібними нематодами надсімейства *Filaroidea*. Гельмінти локалізуються в лімфатичних вузлах, підшкірних і глибоких тканинах. Живородячі самки виділяють мікрофілярії в кров або підшкірні тканини, де вони знаходяться до тих пір, поки не будуть захоплені кровосмокतालними членистоногими, де вони трансформуються у ниткоподібні личинки, якими заражають нового хазяїна членистоногі під час укусу.

Шистосомози - група гельмінтозів, що викликається гельмінтами роду *Schistosoma*. Дорослі особи гельмінтів паразитують у венулаз сечовивідних шляхів. За приблизними даними, близько 200 млн. осіб у світі є інфікованими цими гельмінтами.

У останнє десятиліття минулого тисячоліття виникли нові додаткові труднощі для медичної практики – зайшла мова про новий клас гемотрансмісивних інфекцій – **пріонові захворювання**. Про важливість означеної проблеми для людства свідчать дві Нобелівські премії, яких були удостоєні дослідники пріонових хвороб – D.C. Gajdusek (1976) та S.B. Prusiner (1997).

Перші повідомлення щодо пріонових хвороб, що уражають центральну нервову систему, викликають параліч та незмінно закінчуються летально, з'явилися протягом двох останніх десятиліть минулого століття, хоча здавна є відомим одно із них – “скреїпі”(scrapie). Захворювання проявляється ендемічно у Великобританії і є відомим із XVIII століття. На означене захворювання хворіють вівці (рідше – кози), які випасаються на пасовищах. Для scrapie є характерним тривалий інкубаційний період. У хворих тварин виникає прогресуюча “деменція” на фоні дегенерації нервової тканини. Поява перших клінічних проявів цього захворювання у тварин може слугувати мірилом відліку до їх загибелі – від двох місяців - до року. Інфекційний чинник scrapie біологічно неоднорідний, існують його різновиди – штами. Одні штами обумовлюють швидкий перебіг хвороби, інші – повільний, а деякі – взагалі її не викликають. Для різних штамів є властивою різноманітна інтенсивність і локалізація викликаних у мозку змін.

Певний історичний інтерес може представляти інформація про ендемічну хворобу “куру”(kuru), яка уразила плем'я канібалів форе, яке проживає у важко доступних горах Папуа Нової Гвінеї. У племені форе існує звичай з'їдати мозок померлих родичів як свідчення особливої поваги до них. У захворівших після тривалого інкубаційного періоду (від кількох місяців до 40 років) з'являлись перші розлади, що проявлялись клінічно: втрата рівноваги тіла, тремтіння (kuru – перекладається як тремтіння), емоційні розлади, що супроводжувалися

неадекватним плачем або сміхом. В термінальній стадії неадекватні виснажені люди помирали голодною смертю, за що журналісти охрестили дане захворювання як “усміхнена смерть”. Електронно-мікроскопічне дослідження губчатих утворень сірої речовини мозку померлих внаслідок захворювання на “куру” виявляло наявність амілоїдних ниткоподібних бляшок та фібрилових структур аналогічних тим, що виявляюли у тварин, які хворі на “скреїпі”. Хворобу kuru описав у 1957 році D.C. Gajdusek.

Клініка хвороби Крейтцфельда-Якоба була описана німецькими невропатологами Hans Gerhard Creutzfeld (1920) та Alfons Jacob (1921) незалежно одим від іншого. Синдром Герстманна-Страусслера-Шейнкера був описаний в 1936 році.

В 1986 році описано фатальне сімейне безсоння. Цього ж року виникла епідемія губчатої енцефалопатії великої рогатої худоби у Великобританії. Саме тоді ветеринарний патолог G.A.H.Wells досліджуючи мозок корови, яка здохла від невідомої хвороби з неврологічними проявами, відкрив хворобу скажених корів (BSE). Наслідком спалаху BSE стало ураження близько 200 тис. тварин протягом двох років. Було встановлено, що означених тварин підгодовували високобілковими кормами із відходів забитих овець та корів. З часом BSE було зареєстровано у антилоп, котів, бізонів, усурійського тигра, пум, гепардів. Усі ці тварини (за винятком антилопи, яка заразилася вертикально) отримували збагачений протеїнами корм та кісткову муку. Особливу занепокоєність викликали факти передавання інфекції людині, як при вживанні м'яса, так і при безпосередньому контакті з тваринами. На сьогодні у Великобританії наслідком епідемії “коров'ячого сказу” стала смерть близько 40 осіб. Однак, існує думка, що кількість уражених пріонами у світі на сьогодні становить декілька мільйонів людей. У Франції за 15 років від пріонових хвороб померло близько 900 осіб, причому в останні роки минулого століття спосерігали значне зростання загибелі людей від губчатої енцефалопатії.

Існують свідчення розвитку губчатої енцефалопатії у осіб, які приймали замісну терапію соматостатином та гонадотропіном, які оримували із гіпрофізів великої рогатої худоби. У 1993 році V.Askanas et al. навели дані щодо своєрідного міозиту, що, можливо, поповнить перелік пріонових хвороб. У Великобританії тривають інтенсивні дослідження BSE у тварин та хвороби Крейтцфельда-Якоба у людини. Зафіксовані випадки захворювання фермерів, які вирощували корів з BSE. У США (1998) зареєстровано випадок хвороби Крейтцфельда-Якоба у подружньої пари з інтервалом її розвитку 4,5 роки, проте переконливих свідчень про пряме зараження одного пацієнта від іншого немає, як і немає доказів про випадковий збіг обставин. Вивчення пріонових білків, можливо, дозволить остаточно з'ясувати причину хвороби Альцгеймера. Вивчення амілоїдних білків мозку при хворобі Альцгеймера показало тотожність їх структури пріонним білкам.

Про стан захворюваності на пріонові хвороби у Росії існують протиречиві дані. Даних щодо стану захворюваності на пріонові хвороби в Україні ми не зустріли.

Пріонові захворювання – це група захворювань, етіологічним фактором у виникненні яких є білковоподібні інфекційні молекули – пріони. На сьогодні до пріонових хвороб відносять: хворобу Крейтцфельда-Якоба та групу спонгіоформних енцефалопатій – хвороба куру, синдром Герстманна-Страусслера-Шейнкера, синдром Альперса, аміотрофічний лейкоспонгіоз та синдром “фатального сімейного безсоння”.

Пріони є надзвичайно стійкими до кип'ятіння, дії рентгенівського випромінювання, формальдегіда, протеїназ. При 132° С пріонний білок зберігає свої інфекційні властивості. Знезараження можна досягти лише застосовуючи автоклавування при 138° С протягом 1-2 годин.

Поняття “пріон” було запропоноване S. Prusiner. Слово “prion” є утвореним від комбінації букв від “proteinaceous infectious particle” та “-on”, що означає “протеїнові інфекційні нуклеоли”. На відміну від відомих раніше збудників інфекційних захворювань, пріони не мають нуклеїнових кислот і складаються із пріонового протеїна (PrP), який існує у вигляді двох ідентичних за амінокислотним складом ізоформ: PrP^C, яку виявляють у всіх здорових ссавців, та PrP^{Sc} – молекул, які викликають трансмісивні губчаті енцефалопатії. Пріонний білок є трансмембранним сіалоглікопротеїдом. Він у нормі існує в організмі і розміщується на клітинній мембрані за умови, що організм здоровий. Молекула PrP має масу близько 33-35 кД. Вона утворена із 250-260 амінокислот і включає 22-членний N-термінальний сигнальний пептид. Доведено, що амінокислотна послідовність PrP людини є на 90% гомологічною відповідно до такої у інших видів ссавців. Існує вірогідність спонтанного переходу нормального пріонного білка в патогенну форму, яка відрізняється просторовою структурою молекули. Із мутаціями гена PrP, що розміщений на короткому плечі 20-ї хромосоми, пов'язують сімейні випадки губчатих енцефалопатій. Структурні та функціональні відмінності ізоформ пріонного білка пов'язують із посттрансляційними модифікаціями специфічних неорганічних молекул. При цьому α -ланцюжок трансформується в β -листок. На відміну від нормальної ізоформи PrP^C, аномальна - PrP^{Sc} – має здатність утворювати агрегати – амілоїдні фібрили. Поступове накопичення амілоїдних фібрил *in situ* призводить до утворення амілоїдних бляшок, дегенерації нейронів та проліферації астроцитів, внаслідок чого сіра речовина головного мозку набуває губкоподібної структури.

Стан гена PrP є визначальним для тривалості інкубаційного періоду та ступеня видової сприйнятливості організму. Головним компонентом інфекційного пріона є його дериват PrP²⁷⁻³⁰, що утворюється із PrP^{Sc} внаслідок розщеплення протеїназою K. Синдром Герстмана-Страусслера-Шейнкера пов'язують саме із мутацією гена PrP, що підвищує вірогідність переходу нормального пріонного білка в патологічну ізоформу. Існує гіпотеза згідно якої змінений пріонний білок починає активно приєднувати до себе мономерні молекули, які є структурними компонентами клітинної мембрани. Утворюється “моноліт”, що стійкий до дії ензимів, які в нормі розщиплюють протеїни. Достатньо в клітині утворитися одному такому комплексу, як внаслідок

аутокаталітичних процесів інші пріонні білки мембрани набувають патогенних властивостей.

Пріонові захворювання можуть передаватися від тварин (хворих чи носіїв) до людини через продукти харчування (ентеральний шлях передачі) та при безпосередньому контакті (догляд). Дискутується питання про можливість зараження пріонами в побуті. Є докази вертикального шляху передавання пріонів. Як свідчать дані літератури останнього часу, пріони поповнили перелік інфекцій, що можуть передаватися з кров'ю, її компонентами та препаратами, що, очевидно, найближчим часом обумовить суттєві зміни в діяльності лабораторної ланки установ служби крові та суттєво вплине на тактику гемотрансфузійної терапії в цілому.

Пріонові захворювання відрізняються від відомих гемотрансмісивних хвороб відсутністю гуморальної відповіді у вигляді специфічних антитіл у сироватці крові та ознак репродукції патогенного агента. Після інфікування настає фаза пріонемії, що супроводжується накопиченням пріонів у фагоцитах, лімфоцитах та поширення інфекції у циркуляторному руслі. Тобто, інфекційність крові людини формується задовго до появи клінічних ознак захворювання. Передавання пріонів з тканинами для трансплантації та компонентами крові продемонстрована в експерименті. Встановлено, що з донорською кров'ю та продуктами її переробки можуть передаватися хвороба Крейтцфельда-Якоба (спорадичні, сімейні, ятрогенні форми та її "новий варіант", що пов'язаний із збудником BSE. Оpubліковано повідомлення про випадки посттрансфузійного походження хвороби Крейтцфельда-Якоба. Експериментально та клінічно доведено, що саме завдяки В-лімфоцитам здійснюється нейроінвазія пріонів.

Переважна більшість трансфузіологів визнають реальною загрозу поширення пріонових захворювань при проведенні гемокомпонентної терапії, хоча є дані стосовно того, що частота донорів і реципієнтів серед пацієнтів з хворобою Крейтцфельда-Якоба не відрізняється від популяційної. Оприлюднені дані досліджень 2000 пацієнтів, які отримували компоненти та препарати крові від донорів, які потім померли від хвороби Крейтцфельда-Якоба. Вони свідчать про відсутність ознак хвороби Крейтцфельда-Якоба у обстежених реципієнтів. Але, очевидно, остаточні висновки робити завчасно. Продемонстровано, що для можливості інфікування, окрім мутацій гену PrP, є важливим стан генетичного апарату людини в цілому. Ятрогенні форми хвороби Крейтцфельда-Якоба, окрім гемотрансфузій, можуть бути обумовлені застосуванням соматостатина, гонадотропіна тваринного походження, офтальмологічними (пересадка рогової оболонки) та нейрохірургічними втручаннями. Існує думка, що контингент донорів віком понад 50 років не повинен допускатися до участі у донорстві, оскільки цей вік є найураженішим хворобою Крейтцфельда-Якоба. Є думка про гіподіагностику цього недуга у осіб літнього та похилого віку.

Найдостовірнішим методом діагностики пріонових хвороб є посмертне патологоанатомічне дослідження. Гістологічно досліджують тканини мозочка, кори головного мозку лобної, височної та затылочної ділянок, базальних

гангліїв та зорового бугра. Шматочки тканин знезаражують в розчині 96% кислоти мурашиної. Приготовані парафінові зрізи фарбують гематоксиліном та еозіном. Характерними є макро- та мікроскопічні ознаки пріонових енцефалопатій. Макроскопічно знаходять зменшеною масу речовини головного мозку, а іноді – атрофію його звинин. Класичними мікроскопічними ознаками пріонових хвороб є наступні нейропатологічні зміни: спонгіозні зміни, відмирання нейронів, астроцитоз та формування амілоїдних бляшок. При хворобі Крейтцфельда-Якоба, окрім кори, спонгіозні зміни та вакуолізацію цитоплазми нейронів виявляють по ходу всіх полів аммонових рогів, зубчатої фасції, в області підкоркових ядер, гіпоталамусі і корі мозочка. Спонгіозні зміни, як правило, корелюють із ступенем зменшення щільності нейронів. Відмічають проліферацію астроглії при збереженні мієлінових волокон кори. Характерною морфологічною ознакою ураження головного мозку пріонами є поява пріон-протеїнових бляшок у клітинах мозочка. До сучасних методів дослідження належить Western-блотинг, гістоблотинг та імуноблотинг виявлення пріонів. Може застосовуватися електроімуноцитохімічний аналіз.

Враховуючи, що пріонові захворювання слід розглядати як нову гемотрансмісивну хворобу, міри профілактики якої не розроблені, стає цілком очевидним, що слід обмежити участь у донорстві осіб старших вікових категорій, виключити з числа донорів осіб, родичі яких страждають на хворобу Крейтцфельда-Якоба та тих, що мають в анамнезі операції з трансплантації рогової оболонки чи нейрохірургічні втручання. Значення у профілактиці гемотрансфузійного шляху передачі пріонів може мати застосування сучасних спеціальних фільтрів, що затримують лейкоцити як при заготівлі крові, так і при переливанні еритроцитарних середовищ та концентрату тромбоцитів.

Таким чином, для пріонових захворювань є властивим тривалий інкубаційний період – від року до тридцяти, повільно прогресуючий перебіг, тяжкі морфо-функціональні зміни центральної нервової системи, відсутність ознак інфекційного запалення та імунологічної відповіді та летальні наслідки. Їх слід віднести до інфекцій, що можуть передаватись гемотрансмісивним шляхом. Не дивлячись на те, що деякі клінічні захворювання та синдроми, які відносять до групи пріонових захворювань описані давно, а їх етіологія встановлена недавно, на підставі нашого дослідження літератури можна стверджувати, що на сьогодні проблема пріонових уражень людини знаходиться лише на початковому ступені вивчення.

Профілактика ГТІ полягає у проведенні не тільки відповідних медичних, а, насамперед, загальнодержавних оздоровлюючих заходів: доквілля, умов праці та побуту, житлове будівництво, комунальний благоустрій, підвищення матеріального добробуту, доступність медичної допомоги, безплатне донорство, забезпечення наркоманів разовими шприцами, лікувальних установ достатньою кількістю разового медичного інструментарія, дезінфікантів, захистного одягу тощо. Серед медичних заходів суттєве значення для упередження виникнення та поширення трансфузійно-трансмисивних захворювань має санітарна освіта та підвищення санітарно-гігієнічного рівня населення, насамперед, донорів. Донори мають бути добре

інформованими про гемотрансмісивні захворювання, їх збудників, шляхи передачі та поширення, клініку та їх профілактику. Медичний персонал відділень заготовки крові, виїздних бригад повинен бути добре підготовленим з питань гемотрансмісивних захворювань, інформованим про санітарно епідеміологічну обстановку в установі, де планується проведення “Дня донора”. Основним завданням виїздної бригади чи спеціалістів відділення заготовки крові при підготовці до процедури взяття крові є ретельне медичне обстеження донорів. Всіх осіб із мікросимптоматикою можливих інфекційних захворювань негайно вилучають із числа потенційних донорів. Медичний огляд та індивідуальна співбесіда з донором повинні бути спрямовані на виявлення характерних ознак гемотрансмісивних та інфекційних захворювань. Заходами профілактики по упередженню ГТІ є ретельне додержання інструкцій з обстеження донорів крові та її компонентів і медперсоналу на предмет носійства вірусів, зокрема тих, що викликають гепатити, дотримання правил заготовки, обстеження та зберігання гемотрансфузійних засобів тощо. Заходом специфічної профілактики ПТГ є вакцинація персоналу установ служби крові, донорів, реципієнтів, медперсоналу відділень гемодіалізу та тих, що застосовують гемотрансфузії, як метод лікування. Сподіваємось, що наш огляд приверне увагу широкого загалу лікарів до проблеми гемотрансмісивних інфекцій і налаштує на зважений обґрунтований підхід до застосування гемокомпонентної терапії та препаратів крові.

Розділ 6

АУТОДОНОРСТВО КОМПОНЕНТІВ КРОВІ І АУТОГЕМОТРАНСФУЗІЇ

Під аутодонорством розуміють заготовку і переливання крові і її компонентів (еритроцитів, СЗП, тромбоцитів) у осіб, що є для себе одночасно і донорами і реципієнтами. Достоїнством аутодонорства як лікувального трансфузійного міроприємства полягає у відсутності алоїмунізації, відсутності ризику передавання інфекцій, менших потребах в об'ємах алогенних компонентів крові, стимуляції еритропоеза, завдяки чому досягається більша безпека замісної трансфузійної терапії компонентами крові.

Показаннями до аутодонорства еритроцитів або плазми є: складні і об'ємні операції з планованим обсягом крововтрати понад 20% ОЦК; плануємо оперативне втручання у вагітних – кесарів розтин (в III триместрі вагітності проводять заготовлення аутодонорської плазми обсягом 500 мл); неможливість підбирання адекватної кількості донорських компонентів крові пацієнтам з рідкісними групами крові; відмова пацієнтів від трансфузії крові за релігійними мотивами за наявності показань до її проведення під час планових хірургічних втручань.

6.1. Методи проведення аутологічних трансфузій

Передопераційне заготовлення аутокрові або аутоеритроцитів, що дозволяє зібрати за 3-4 тижні до планового хірургічного втручання 3-4 дози крові або еритроцитів (до 1000 – 1200 мл крові або 600 – 800 мл еритроцитарної маси). Обсяг разової кроводонації для осіб із масою тіла понад 50 кг не повинен перевищувати 450 мл. Якщо маса тіла менша 50 кг. То об'єм донації повинен становити не більше 8 мл/кг маси тіла. Особи з масою тіла менше 10 кг до аутодонорства не допускаються. Кількість антикоагулянтного розчину зменшують пропорційно кількості крові, що планують ексфузіювати.

Рівень гемоглобіну у аутодонора перед кожною донацією крові повинен бути не менше 110 г/л, показник гематокрита – не менше 33%. Частота аутологічного здавання крові визначається лікуючим лікарем і трансфузіологом. Останню донацію крові перед операцією здійснюють не пізніше як за три доби. Більшість аутодонорів, особливо при заготовці у них понад одну дозу крові, мають отримувати пероральні засоби заліза. Відомо, що швидкість еритропоезу залежить від рівня заліза в організмі. Кожна донація однієї дози крові зменшує запаси заліза на 200 – 250 мг. Питання про призначення засобів заліза вирішується після визначення початкових параметрів метаболізму заліза. Застосовують пероральні препарати заліза.

Заготовлену аутокров або її компоненти зберігають згідно тих же правил, що і гомологічні компоненти.

Не допускаються до участі у аутодонорстві особи з вогнищевою інфекцією, бактеріємією, тромбоцитопенією, хворі на стенокардію, набуті та уроджені вади серця і судин, серповидно-клітинну анемію, а також такі, що

мають позитивні результати попереднього тестування крові на ВІЛ-інфекцію, гепатити та сифіліс.

Передтрансфузійний контроль аутологічних трансфузійних середовищ, обсяг та техніка їх проведення такі ж як і у випадках застосування компонентів алогенної крові.

Плазма, яку отримують із аутологічної крові, може заготовлюватися в терапевтично значимих кількостях (500 – 1000 мл) і застосовуватися в акушерській практиці, ортопедії, серцево-судинній, торакальній хірургії тощо.

Аутологічний концентрат тромбоцитів і аутологічна СЗП використовують при операціях в серцево-судинній, торакальній хірургії із застосуванням апаратів штучного кровообігу, які в післяопераційному періоді можуть супроводжуватися тромбоцитопенією. Заготовлені за 1-3 днів до операції аутотромбоцити зберігають при температурі 20 – 24⁰С в умовах постійного перемішування. Переливання аутотромбоцитів здійснюють під час операції або відразу ж після її проведення.

Передопераційна нормоволемічна або гіперволемічна гемоділюція, що дозволяє заготовлення 1-2 доз крові (600 – 800 мл) безпосередньо перед операцією з обов'язковим поповненням тимчасової крововтрати сольовими розчинами та плазмозамінниками для підтримання нормо- або гіперволемії. Достоїнством цього методу аутодонорства є те, що під час оперативного втручання пацієнт втрачає кров із меншим вмістом клітинних елементів, зокрема, еритроцитів. Наступне переливання заготовлених за декілька годин до операції аутоеритроцитів дозволяє швидко підвищити концентрацію гемоглобіну, ОЦК та інші параметри.

Гемоділюція може бути ізоволемічною. При ній зберігається і підтримується початковий нормальний ОЦК, в якому лише тимчасово зменшується об'єм і концентрація клітин крові.

При гіперволемічній гемоділюції лікар перед її проведенням іде на підвищення нормального внутрішньосудинного ОЦК за рахунок надлишку переливання плазмозамінників під контролем показників гемодинаміки і центрального венозного тиску. Передопераційна гіперволемічна гемоділюція не показана хворим із коронарною недостатністю, порушеннями ритма серця, гіпертонічною хворобою, важкими ураженнями легень із респіраторною недостатністю, порушеннями функції печінки, нирок, порушеннями системи згортання, наявності вогнищ інфекції. Хворий повинен бути завчасно інформованим стосовно проведення передопераційної гемоділюції і дати на неї згоду, що фіксується в історії хвороби. В історії хвороби обґрунтовуються показання до гемоділюції. Безпосередньо перед початком процедури вимірюють і фіксують артеріальний тиск, пульс, показники концентрації гемоглобіну та гематокриту. Здійснюють пункцію двох вен: одну для ексфузії, іншу – для переливання інфузійного розчину. Об'єм крові при ексфузії поповнюють сольовими розчинами (3 мл на кожний 1 мл вилученої крові) або колоїдами (1 мл на кожний 1 мл вилученої крові). Постгемоділюційний рівень гемоглобіну не повинен бути меншим 90-100 г/л, а рівень гематокрита не менше 28%. Ведуть протокол гемоділюції, в якому відмічають стан хворого,

об'єм крові, що вилучена, обсяги поповнення ОЦК. Стан гемодинаміки, час початку і закінчення процедури.

Інтервал між ексфузією і реінфузією не повинен перевищувати шість годин. При проведенні передопераційної гемоділюції контейнери із аутокров'ю не виносять із операційної. Переливання аутокрові розпочинають після того етапу операції, що супроводжується найбільшою крововтратою. Переливають кров через стандартні системи для переливання із фільтром.

Інтраопераційна реінфузія крові дозволяє збирати під час операції із операційної рани і порожнин тіла кров, що туди вилася. Реінфузія крові, що втрачається під час операції, диктує необхідність її аспірації за допомогою стерильного апарата для відсмоктування із операційної рани або порожнин тіла. Потім здійснюють відмивання і наступне переливання аутоеритроцитів реципієнту в теміни не триваліші за шість годин від початку процедури. Застосування інтраопераційної реінфузії крові є показане при прогнозі крововтрати понад 20% ОЦК (при розриванні позаматочної вагітності, в серцево-судинній хірургії, ортопедичній практиці, травматології).

На тепер створені спеціальні прилади для проведення інтраопераційного збирання і відмивання крові, що втрачається під час операції.

Аутологічні компоненти крові.

Аутологічні компоненти крові заготовлюються від пацієнтів, які потребують введення еритроцитів в майбутньому. Компоненти крові, призначені для аутологічного застосування, можуть відповідати не всім вимогам, що висуваються до компонентів крові, призначених для алогенного застосування.

Існує два види аутодонорства:

перший – коли у пацієнтів, в передопераційному періоді, проводиться заготівля власної крові, для виготовлення компонентів, з подальшим зберіганням та використанням у зв'язку з небезпекою крововтрати під час оперативного втручання;

другий вид аутодонорства – самозапобіжний. Він передбачає, що за бажанням будь-якої дієздатної особи, за її рахунок здійснюється заготівля та довготривале зберігання власних компонентів крові з метою використання, в разі необхідності, при наданні медичної допомоги даній особі.

Особа, яка здає кров для аутотрансфузії, повинна бути зареєстрована за тими самими правилами, що є чинними для алогенних донорів. В журналі реєстрації донорів слід записати різновид донації (Аутологічний донор). Аутологічна кров та її компоненти на етикетці повинні мати попередження «ТІЛЬКИ ДЛЯ АУТОЛОГІЧНОЇ ТРАНСФУЗІЇ».

Невикористаний аутологічний компонент не може бути застосований ні для введення іншому реципієнтові, ні для промислового виробництва препаратів крові. Невикористана аутологічна кров або її компоненти знищуються.

Аутодонорство є методом підвищення безпеки трансфузій для конкретного пацієнта. Аутологічна донація компонентів крові не повинна застосовуватися, якщо немає припущення про їхнє застосування під час операції. Хворий має дати письмову згоду на заготівлення крові, що фіксується в історії

хвороби. Тестування аутокрові і її компонентів є аналогічним тому, що проводиться для алогенних компонентів крові. При маркіруванні аутологічної крові на етикетці вказують “Для аутологічної трансфузії”. Критерії допуску до донцій аутокомпонентів такі ж самі як і для звичайних донорів. Для аутодонорів немає верхньої вікової межі. В кожному конкретному випадку рішення щодо можливості аутодонації вирішують лікуючий лікар та трансфузіолог.

Розділ 7

ТРАНСПЛАНТАЦІЯ ГЕМОПОЕТИЧНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН

Трансплантацією гемопоетичних стовбурових клітин називають використання завсуду гемопоетичних стовбурових клітин (аутологічних, алогенних) після призначення пацієнту максимально переносимих (мієлоаблативних) доз цитостатичних препаратів і (або) променевої терапії. Трансплантація гемопоетичних стовбурових клітин (кісткового мозку, периферичної крові, пуповинної крові) є одним із ефективних методів лікування різних форм гемобластозів у дорослих і дітей.

7.1. Різновиди трансплантації гемопоетичних стовбурових клітин

Залежно від джерела одержання гемопоетичних стовбурових клітин для трансплантації, виділяють наступні види трансплантації гемопоетичних стовбурових клітин:

- **алогенну трансплантацію кісткового мозку** (ало-ТКМ), за якої джерелом гемопоетичних стовбурових клітин є кістковий мозок здорової людини, повністю або частково сумісний із реципієнтом за антигенами HLA-системи;

- **алогенну трансплантацію периферичних стовбурових клітин крові** (ало-ТПСМК), коли джерелом трансплантата є периферичні стовбурові клітини крові здорової людини (спорідненого чи неспорідненого донора), повністю або частково сумісні з реципієнтом за антигенами HLA-системи, отримані шляхом апаратного афереза після мобілізації гемопоетичних стовбурових клітин до циркулюючої крові рекомбінантними факторами росту – гранулоцитарним/ гранулоцитарно-макрофагальним колонієстимулюючими факторами – G-KSF, GM-KSF;

- **алогенну трансплантацію гемопоетичних стовбурових клітин пуповинної крові** ;

- **аутологічну трансплантацію кісткового мозку** (ауто-ТКМ), при якій джерелом гемопоетичних стовбурових клітин є кістковий мозок хворого, що знаходиться у стані повної клініко-гематологічної ремісії або не має ознак метастатичного процесу;

- **аутологічну трансплантацію периферичних стовбурових клітин крові** (ауто-ТПСМК), коли джерелом гемопоетичних стовбурових клітин є периферичні стовбурові клітини крові, отримані шляхом апаратного афереза після мобілізації гемопоетичних стовбурових клітин в кров рекомбінантними факторами росту – G-KSF, GM-KSF;

- **сингенну ТКМ або ТПСМК**, при якій донором гемопоетичних стовбурових клітин є гомозиготний близнюк, який генетично абсолютно ідентичний із реципієнтом.

7.2. Процес добору донора гемопоетичних стовбурових клітин

Одним із визначальних факторів для успішного проведення алотрансплантації гемопоетичних стовбурових клітин є добір якомога повністю сумісного за антигенами HLA-системи донора. Типірування антигенів HLA-системи I і II класів здійснюють за допомогою: моноклональних антитіл; молекулярно-біологічних способів; спеціальних імунних сироваток в лімфоцитотоксичному тесті. Визначення ступеню сумісності донора і реципієнта за антигенами HLA-системи II класу проводять і в змішаній культурі лімфоцитів (MLC – mixed lymphocyte culture). Співпадіння антигенів HLA-системи I і II класів у донора і реципієнта свідчить про повну їх сумісність. Неспівпадіння за 1-3 антигенами HLA-системи вказує на часткову сумісність донора і реципієнта. Відмінність донора і реципієнта за усіма антигенами HLA-системи I і II класів розцінюють як повну несумісність.

Донором кісткового мозку може бути повністю сумісна за HLA-системою здорова людина без вікових обмежень. У разі відсутності повністю сумісного донора, визначаються із можливістю використання донора, який частково сумісний за антигенами HLA-системи I і II класів. При виборі донора кісткового мозку не мають значення відмінності за групою крові і статевую хромосоמוю.

Успадкування генів MHC від батьків дітям відбувається за кодомінантним типом. При цьому нащадки отримують по одному гаплотипу від батьків. Розрахункова вірогідність наявності повністю сумісного сиблінга у сім'ї із 4 дітей дорівнює 25%. При загальній тенденції до зменшення народжуваності, підбирання спорідненого донора кісткового мозку значно обмежується.

Забір кісткового мозку проводять під загальною анестезією, можливе застосування перидуральної анестезії. Аспірацію кісткового мозку здійснюють голками великого діаметру шляхом чисельних пункцій гребня крила здухвинної кістки з обох боків у шприци, що містять антикоагулянт (гепарин). Об'єм ексфузії кісткового мозку не повинен перевищувати 10-15 мл/кг маси тіла донора. Клітинність трансплантату кісткового мозку повинна становити понад $1,0 \times 10^8$ ядромістких елементів на 1 кг маси тіла реципієнта. Процедура ексфузії кісткового мозку не викликає серйозних ускладнень у 99% донорів. У 0,27% випадків відмічають загрозливі для життя ускладнення: серцева недостатність, емболія легеневої артерії, аспіраційна пневмонія, ДВЗ-синдром, церебральні інфаркти. У решти – 0,63% донорів виникали наступні ускладнення: бактеріємія, інфікування місць пункцій, гематоми у ділянці пункцій, температурні реакції, переломи здухвинної кістки, переломи голки для пункції, які потребували оперативного втручання, повітряна емболія.

Після ексфузії аутологічний кістковий мозок, як правило, кріоконсервують застосовуючи клітинні (диметилсульфоксид) і позаклітинні (гідроксиетилкрохмаль) кріопротектори. Зберігають заморожені клітини при температурі від -86°C (до 6 міс.) до -196°C (до декількох років). У процесі зберігання та перед трансплантацією оцінюють вплив зберігання на

життєздатність гемопоетичних стовбурових клітин і можливість їх приживлення. Найкращим вважають спосіб визначення якості трансплантата за ідентифікацією CD34+-клітин специфічними моноклональними антитілами.

Для профілактики розвитку гострої реакції “трансплантат проти хазяїна” (РТПХ), із алогенного трансплантата кісткового мозку перед інфузією реципієнту проводять вилучення Т-лімфоцитів за допомогою моноклональних антитіл. Однак, останнім часом встановлено, що збіднення трансплантата Т-популяцією клітин перед ало-ТКМ може мати негативні наслідки, зокрема, збільшення вірогідності його відторгнення, повільне приживлення, зростання випадків рецидиву основного захворювання. Домішку злякисних клітин із аутологічного кісткового мозку вилучають *in vitro* за допомогою цитостатичних препаратів (4-гідропероксициклофосфан, мафосфамід тощо), моноклональних антитіл до антигенів злякисних клітин, олігонуклеотидів, що припиняють синтез специфічних білків, шляхом тривалого культивування у рідких середовищах. Альтернативним є метод виділення CD34+-клітин імунологічними методами позитивної і негативної селекції.

Інфузію кісткового мозку реципієнту при ало-ТГСК або сингенній ТГСК проводять внутрішньовенно через 24-48 год після завершення хіміопроменевої терапії. Аутологічний кістковий мозок із периферичними стовбуровими клітинами вводять аналогічним способом. Процедуру здійснюють у максимально короткі після розморожування терміни при температурі трансплантата 42-45⁰С.

7.3. Одержання периферичних стовбурових клітин крові

До недавна основним джерелом гемопоетичних стовбурових клітин для трансплантації був кістковий мозок (алогенний, аутологічний). Одержання кісткового мозку для трансплантації має ряд недоліків (необхідність загальної анестезії, больовий синдром у місці ексфузії, висока вірогідність контамінації пухлинними клітинами, неможливість отримання достатньої кількості ексфузату після променевої і хіміотерапії тощо). Останнім часом було розроблено методи виділення периферичних гемопоетичних стовбурових клітин. Їх трансплантація має ряд переваг перед трансплантацією кісткового мозку. Для одержання ПСКК, процедуру їх вилучення можна проводити в амбулаторних умовах, оскільки немає необхідності у загальній анестезії. Перший досвід показав, що при ТПСКК після режиму кондиціонування скоріше відбувається відновлення гранулоцитарного, тромбоцитарного і еритроїдного паростків гемопоезу. При застосуванні ауто-ТПСКК у період ремісії вірогідність домішку злякисних клітин у трансплантаті значно менша, ніж при трансплантації аутологічного кісткового мозку. Окрім того, після аферезу ПСКК немає необхідності у проведенні компонентної терапії. Удосконалення процедури ТПСКК дозволяє отримувати їх ефективну концентрацію.

Виділення ПСКК здійснюють методом лейкофезу за допомогою клітинних сепараторів з перервним або постійним током крові. Для здійснення процедури у дітей застосовують спеціальні камери до сепараторів, які

дозволяють працювати із малим об'ємом циркулюючої крові. Мобілізацію ПСКК виконують за допомогою цитостатиків (циклофосфан в дозі 4-7 г/м², іфосфамід – 5-7,5 г/м²). Основними засобами мобілізації на теперішній час вважають рекомбінантні ростові фактори G-KSF, GM-KSF (нейпоген, граноцит, лейкомакс) у дозі 10 мкг/кг/добу протягом 5-6 днів. Аферез ПСКК проводять на 4-й, 5-й і 6-й день. Саме в цей час спостерігають значне збільшення (в 4-6 разів) кількості лейкоцитів периферичної крові, що супроводжується збільшенням рівня клітин-попередниць різних ліній гемопоезу, зокрема і CD34+-клітин. Критерієм адекватності дози ПСКК в трансплантаті, що застосовується для аутологічної трансплантації є кількість моноклеарів, яка перевищує 4-8,0x10⁸/кг, або CD34+-клітин понад 5,0x10⁸/кг. Кріоконсервування ПСКК здійснюють методом, аналогічним заморожуванню трансплантата кісткового мозку.

7.4. Режим кондиціонування

Режимом кондиціонування називають призначення мієлоаблативних доз цитостатиків та/або променевої терапії для досягнення високого рівня імуносупресії (при ало-ТГСК) і повної ерадикації кровотворення (нормального і патологічного клонів) реципієнта перед введенням йому гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку або периферичної крові. Від ступеню імуносупресії реципієнта залежать ефективність приживлення трансплантата і вірогідність виникнення реакції його відторгнення. Вибір комбінації різних цитостатиків у мегадозах і променевої терапії перед ТГСК обумовлюється джерелом одержання клітин для трансплантації (ало-, аутологічні), типом і стадією захворювання. Для досягнення максимального імуносупресивного ефекту можливе додаткове включення до режиму кондиціонування антилімфоцитарного (антитимоцитарного) глобуліну (АЛГ/АТГ) у дозі 30 мг/кг. Призначення АЛГ/АТГ до режиму кондиціонування, або його застосування у ранньому посттрансплантаційному періоді є заходом профілактики відторгнення трансплантату і розвитку гострої РТПХ при проведенні споріденої або неспорідненої ало-ТГСК.

Призначення режиму кондиціонування може супроводжуватись виникненням ускладнень з боку внутрішніх органів (кардіоміопатія, гепатит, ниркова недостатність, пневмонія тощо) як у найближчі після високодозових хіміо- та променевої терапії терміни, та і у віддалений період. Корекція означених ускладнень може стати основною проблемою після ТГСК, особливо у дітей.

Вибір оптимального режиму кондиціонування у кожному конкретному випадку залежить від виду ТГСК, типу і стадії захворювання, віку і загального стану хворого (індекс Карновського).

7.5. Показання до трансплантації гемопоетичних стовбурових клітин

Слід відмітити, що *не існує екстрених показань* до того чи іншого виду ТГСК. Завжди необхідна ґрунтовна підготовка, зокрема психологічна, як реципієнта так родичів.

Абсолютними показаннями до ало-ТГСК є хронічний мієлолейкоз, мієлодиспластичний синдром у осіб віком до 45 років при наявності сумісного за антигенами HLA-системи донора. Близькими до абсолютних показаннями можна вважати першу ремісію гострого мієлобластного лейкозу (окрім М3 за ФАБ-класифікацією), гострий лімфобластний лейкоз (високий ризик) у другу та наступні ремісії незалежно від прогностичних критеріїв у момент встановлення діагнозу.

Відносними показаннями до ауто-ТГСК є гострий мієлобластний лейкоз (окрім М3 за ФАБ-класифікацією), гострий лімфобластний лейкоз (високий ризик) в першу і наступні ремісії, гострий лімфобластний лейкоз (стандартний ризик) при досягненні другої і наступних ремісій (за відсутності сумісного за антигенами HLA-системи донора).

Показаннями до ало-ТГСК у дорослих за наявності сумісного за антигенами HLA-системи донора можуть бути: гострий мієлобластний лейкоз (окрім М3 за ФАБ-класифікацією), гострий лімфобластний лейкоз, мієлодиспластичний синдром, хронічний мієлолейкоз (стадії хронічна, прогесуюча, бастного кризу), зляквісна лімфома, хронічний лімфолейкоз, хронічний мієлофіброз, множинна мієлома. При наявності сумісного за антигенами HLA-системи донора кісткового мозку абсолютними показаннями до ало-ТГСК вважають наступні форми гемобластозів: гострий лімфобластний лейкоз (високий ризик), гострий мієлобластний лейкоз, мієлодиспластичний синдром, хронічний мієлолейкоз. При зляквісній лімфомі і множинній мієломі показання до ало-ТГСК залежать від наявності сумісного за антигенами HLA-системи донора кісткового мозку/ПСКК, стадії захворювання, гістологічного варіанту і відсутності негативних прогностичних факторів ризику.

Показаннями до ауто-ТГСК є наступні нозологічні форми захворювань: зляквісна лімфома, множинна мієлома, гострий мієлобластний лейкоз (окрім М3 за ФАБ-класифікацією), гострий лімфобластний лейкоз. Проведення ауто-ТГСК при хронічному мієлолейкозі і хронічному лімфолейкозі є також можливим, але потребує попереднього застосування методів, які дозволяють вилучати із трансплантанта клітини зляквісного клону. Окрім того, при даних захворюваннях досягнення стану повної клініко-гематологічної ремісії є складним.

Проведення високодозової хіміо- і променевої терапії під захистом ауто-ТГСК показано хворим зляквісними лімфомами (проміжного, високого ступеня зляквісності), лімфогранулематозом, множинною мієломою на більш ранніх стадіях захворювань за наявності негативних прогностичних ознак і низькій ефективності стандартної терапії. На теперішній час ауто-ТГСК при хронічному мієлолейкозі, мієлодиспластичному синдромі є експериментальними методами лікування.

7.6. Ускладнення, пов'язані із трансплантацією гемопоетичних стовбурових клітин

Ускладнення, які виникають при ТГСК поділяють на: раннього посттрансплантаційного періоду (виникають протягом 100 днів після ТГСК); пізнього посттрансплантаційного періоду (виникають пізніше 100 днів після трансплантації).

7.6.1. Ускладнення раннього посттрансплантаційного періоду

Серед ускладнень раннього посттрансплантаційного періоду виділяють: такі, що пов'язані із токсичністю режиму кондиціонування; інфекційні ускладнення; гостру реакцію “трансплантат проти хазяїна”, реакцію відторгнення (неприживлення) гемопоетичних стовбурових клітин донора; венооклюзивну хворобу печінки. Із групи ускладнень, які пов'язані із токсичністю режиму кондиціонування, насамперед, слід назвати панцитопенічний синдром (анемія, тромбоцитопенія, кількість гранулоцитів менше $0,5 \times 10^9/\text{л}$). Період аплазії кісткового мозку, що виникає після режиму кондиціонування, часто ускладнюється геморагічним синдромом. Показанням до переливання КТ є тромбоцитопенія менше $20,0 \times 10^9/\text{л}$. Посилюють геморагічний синдром порушення білково-синтетичної функції печінки (зокрема проявляється дефіцитом основних факторів згортання крові) та ураження ендотеліальних клітин судинного ложа цитостатиками і опроміненням. При рівні гемоглобіну менше 80 г/л показано переливання еритроцитарної маси, що містить мінімальні кількості лейкоцитів. Для профілактики розвитку посттрансфузійної РТПХ проводять передтрансфузійне опромінення всіх компонентів крові, що мають переливатись, у дозі 25 Гр. До групи ускладнень, які пов'язані із токсичністю режиму кондиціонування також відносять ушкодження травного тракту (нудота, блювання, езофагіт, гастрит, дуоденіт, ентерит, діарея, гепатит, панкреатит), інтерстиціальний пневмоніт (частіше виникає при використанні у режимі кондиціонування тотального опромінення тіла), зміни серцево-судинної системи (гіпотонія, гіпертензія, ендокардит, міокардіодістрофія, порушення ритму), ушкодження сечостатевої системи (гостра ниркова недостатність, геморагічний цистит, гемолітико-уремічний синдром), зміни шкіри і придатків (дерматит, алопеція), нефротоксичний синдром, порушення водно-електролітного балансу.

Інфекційні ускладнення (вірусні, бактеріальні, грибові інфекції) виникають внаслідок розвитку важких імунодефіцитних станів і гранулоцитопенії. Інфекційно-запальні процеси виникають практично у всіх хворих після ТГСК на тому чи іншому етапі (сепсис, пневмонія, інфекції уrogenітальних органів, органу зору, травного тракту тощо). Для профілактики і лікування бактеріальних інфекцій застосовують комбінації антибіотиків широкого спектру дії: β -лактамі (цефалоспорини III і IV покоління, амінопеніциліни, карбапенеми, монобактами); аміноглікозиди; фторхінолони; макроліди. Для профілактики і лікування пневмонії, яка викликається

Pneumocystis carinii, призначають триметоприм-сульфаметоксозол (бісептол). У ряді випадків препаратами вибору стають глікопептиди. Для посилення дії антибіотиків і ефективної нейтралізації ендотоксинів велике значення має своєчасне застосування імуноглобулінів, особливо тих, що містять IgG і IgM. Для лікування мікозів (кандидоз, аспергільоз тощо) широко призначають амфотерицин В, інтраконазол, флуконазол, флюцитозин. Суттєвими заходами профілактики цитомегаловірусної (CMV) інфекції є скринінг донорів кісткового мозку, периферичних гемопоетичних стовбурових клітин і компонентів крові на наявність CMV-носійства і застосування лейкоцитарних фільтрів при переливанні еритроцитарної маси і КТ. Тяжким ускладненням після трансплантації є розвиток CMV-пневмонії. Для її лікування призначають цимвен, ганцикловір, фоскарнет тощо. Для профілактики і лікування герпесвірусної інфекції призначають ацикловір.

Ще одним грізним ускладненням раннього посттрансплантаційного періоду є гостра реакція “трансплантат проти хазяїна” (graft versus host disease). Означене ускладнення виникає приблизно у 30% випадків і є однією із основних причин смерті реципієнтів. У основі патогенезу цього ускладнення лежить несумісність клітин донора і реципієнта за антигенами системи HLA і реакція зрілих Т-лімфоцитів на клітини реципієнта. При виконанні ало-ТКМ від неспорідненого сумісного донора кісткового мозку зростає можливість розвитку гострої реакції “трансплантат проти хазяїна” збільшується до 80%. Гостра реакція “трансплантат проти хазяїна” клінічно проявляється різним ступенем виразності ушкодження шкіри у вигляді висипки, а у тяжких випадках руйнуванням епідермісу, утворенням бул, порушенням функцій травного тракту (нудота, блювання, болі в животі, діарея), порушенням функціонування печінки (жовтяниця, зниження детоксикаційної і білково-синтетичної функції тощо). Накопичено дані про взаємозв'язок проявів гострої РТПХ і подальшим рецидивом злоякісного захворювання. На теперішній час не викликає сумніву, що клінічні прояви гострої РТПХ свідчать лише про частину імунологічної відповіді на введення реципієнту донорських клітин. Іншим компонентом цього складного імунологічного процесу є реакція “трансплантат проти лейкозу” (graft versus leukemia/lymphoma), яка розвивається паралельно гострій РТПХ. При цьому гостра РТПХ є своєрідним контролем наявності протирецидивної дії донорських клітин після ало-ТГСК. Залежно від інтенсивності клінічних проявів гострої реакції “трансплантат проти хазяїна” виділяють чотири стадії її перебігу (табл. 16).

Таблиця 16

Класифікація стадій гострої РТПХ (за Н. Glucksberg et al., 1974)

Ступінь	Ознаки пошкодження		
	шкіри	печінки	травного тракту
I	Макулопапульозна висипка менше 25% поверхні тіла	Білірубін 34-52 ммоль/л	Діарея 500-1000 мл за добу
II	Макулопапульозна висипка 25-50% поверхні тіла	Білірубін 52-103 ммоль/л	Діарея 1000-1500 мл за добу
III	Генералізована еритродермія	Білірубін 103-256 ммоль/л	Діарея понад 1500 мл за добу
IV	Десквамація епітелію, утворення бул	Білірубін понад 256 ммоль/л	Діарея понад 1500 мл за добу

Розвиток гострої РТПХ I або II ступеню після аlogenної трансплантації кісткового мозку чи ТГСК потягує ретельного медичного нагляду. Спеціальне лікування, як правило, не проводиться. Поява гострої РТПХ III або IV ступеню є вкрай небезпечним ускладненням, оскільки терапія цього стану часто буває безуспішною, а смертність досягає 80-100%. Виразність проявів гострої реакції “трансплантат проти хазяїна” дозволило виділити чотири ступені тяжкості її перебігу (табл. 17).

Таблиця 17

Клінічні критерії ступеню важкості гострої РТПХ

(за Н. Glucksberg et al., 1974)

Ступінь	Ознаки пошкодження		
	шкіри	печінки	травного тракту
0	0	0	0
I	Від + до ++	0	0
II	Від + до +++	+	+
III	Від ++ до +++	Від ++ до +++	Від ++ до +++
IV	Від ++ до ++++	Від ++ до ++++	Від ++ до ++++

Для профілактики гострої РТПХ застосовують циклоспорин А або поєднують його із іншими імунодепресантами (глюкокортикоїди, метотрексат, антилімфоцитарний імуноглобулін, імуран), а також вилучають Т-лімфоцити із

трансплантату (методи вилучення див. вище). Лікування гострої РТПХ проводять великими дозами глюкокортикоїдів.

Серед ускладнень раннього пострасплантаційного періоду виділяють і реакцію відторгнення (неприживлення) гемопоетичних стовбурових клітин донора, яку спостерігають у 1-3% випадків ало-ТГСК. Вірогідність її виникнення набагато вища (до 20%) у пацієнтів із апластичною анемією та алоімунізованих чисельними гемотрансфузіями хворих. Дане ускладнення проявляється ознаками аплазії кісткового мозку і периферичною цитопенією. Заходами профілактики виникнення реакції відторгнення (неприживлення) гемопоетичних стовбурових клітин донора є: проведення режиму кондиціонування у повних дозах, включення до режиму кондиціонування додаткової імуносупресивної терапії, тривале призначення імунодепресантів після ало-ТГСК. При підозрі на відторгнення (неприживлення) застосовують рекомбінантні ростові фактори G-KSF, GM-KSF, ІЛ-3, ІЛ-6, тромбопоетин, еритропоетин тощо.

Венооклюзивна хвороба печінки також є ускладненням раннього пострасплантаційного періоду, яку виникає у 10-60% хворих після ТГСК. Даний синдром обумовлений пошкодженням ендотелію печінки, синусоїдів і гепатоцитів високими дозами цитостатиків. Перші ознаки венооклюзивної хвороби можуть з'являтися на 10-14 день після трасплантації. Клінічними проявами венооклюзивної хвороби печінки є болі у епігастрії і верхній правій частині живота, жовтяниця, швидке збільшення розмірів органу, маси тіла (набряки), приєднання асцити. За важкого перебігу виникає печінкова недостатність, тромбози судин печінки, тромбоцитопенія, яка резистентна до трансфузій КТ, печінкова енцефалопатія. Терапія венооклюзивної хвороби є складною і включає препарати гепатопротекторної, дезінтоксикаційної дії, антикоагулянти (гепарин), сечогінні, регулятори водно-електролітного балансу тощо. При виникненні печінкової недостатності проводять гемодіаліз. Для профілактики венооклюзивної хвороби призначають гепарин у малих дозах (150 од/кг/добу), простагландин E1.

7.6.2. Ускладнення пізнього пострасплантаційного періоду

Серед ускладнень пізнього пострасплантаційного періоду виділяють: хронічну реакцію “трансплатат проти хазяїна”, яка розвивається приблизно у 33% випадків ало-ТКМ від сумісного за антигенами HLA системи донора і може виникати самостійно чи бути продовженням гострої РТПХ; рецидиви основного захворювання; затримку росту у дітей; порушення функції репродуктивних органів і щитоподібної залози; пошкодження органу зору (кератокон'юнктивіти); виникнення вторинних пухлин.

Як видно із викладеного у даному розділі матеріалі, ТГСК є сучасним ефективним методом лікування хворих із гемобластозами, МДС, апластичною анемією тощо. До теперішнього часу відсутні чіткі загально визнані показання до призначення названого методу лікування, тому рекомендують керуватися

наступними міркуваннями: проводити порівняння ефективності і частоти ускладнень при застосуванні стандартної хіміотерапії і ТГСК при конкретній нозологічній формі; згодою хворого і його родичів на проведення ТГСК (бажано сумісне обговорення проблеми “перехрещування” кривих виживаємості; аналізом фінансових можливостей.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Аюпова Р.Ф. Эффективность переливания единичных и сдвоенных доз тромбоцитов / Р.Ф. Аюпова, У.С. Султанбаев, Е.Б. Жибурт // Тромбоз, гемостаз и реология. - 2017. - № 2. - С.20 - 22.
2. Баринов, Э.Ф. Тромбоциты / Э.Ф. Баринов, О.Н. Сулаева, А.М. Гнилорыбов. [Текст] — Донецк: Новый мир, 2012. — 316 с.
3. Барышев, Б.А. Кровезаменители. Компоненты крови: справочник для врачей / Б.А. Барышев. [Текст] – СПб.: Издательство Н-Л., 2018. – 204 с.
4. Видиборець С.В. Донорство крові та метаболізм заліза: монографія / С.В. Видиборець, Ю.Ю. Дерпак, О.В. Сергієнко. [Текст] — Вінниця; Бориспіль: Меркьюрі-Поділля, 2012. — 143 с.
5. Видиборець, С.В. Альбумін: спектр можливостей застосування (лекція) / С.В. Видиборець // Сімейна медицина. – 2018. - № 2(76). – С. 109 – 117.
6. Видиборець, С.В. Тромбоцити: структура і функції (лекція) / С.В. Видиборець, С.М. Гайдукова, О.В. Мулярчук // Сімейна медицина. – 2018. - № 2(76). – С. 98 – 102.
7. Видиборець, С.В. Організація системи управління запасами компонентів крові / С.В. Видиборець, Г.О. Слабкий, В.Й. Шатило, А.М. Чугрієв // Методичні рекомендації (123.16/222.16). [Текст] - К.: Український центр науково-медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи МОЗ України, 2017. – 29 с.
8. Видиборець, С.В. Методика підготовки плазми до біохімічних досліджень / Видиборець С.В., Дерпак Ю.Ю., Борисенко Є.О., Корж А.В., Бублій Ю.С. [Текст] // Інформаційний лист Вип. 1, № 68-2017 по проблемі «Гематологія та трансфузіологія». - К.: Український центр науково-медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи МОЗ України, 2017. – 2 с.
9. Видиборець С.В. Метаболізм заліза і залізодефіцитні стани: монографія. Boston: Publisced by Primedia eLaunch. 2022: 264 p. Available at: <https://doi.org/10.46299/979-8-88831-932-1>
10. Видиборець С.В., Дерпак Ю.Ю. Донації крові і метаболізм заліза: монографія. Boston: Publisced by Primedia eLaunch. 2022: 137 p. Available at: <https://doi.org/10.46299/979-8-88831-933-8>
11. Видиборець С., Дерпак Ю., Кучер О., Горяїнова Н. Трансфузійнотрансмісивні захворювання. Trends in the development of medicine, biology and pharmacy: collective monograph. Boston: Publisced by Primedia eLaunch, 2021. С. 126-166. Available at: <https://doi.org/10.46299/ISG.2021.MONO.MED.1>
12. Вирусные гепатиты: Клиника, диагностика, лечение [Текст] / Н.Д. Ющук, Е.А. Климова, О.О. Знойко и др. [Текст] — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. — 160 с.

13. Выдыборец, С.В. Вирус лихорадки Западного Нила – новый вид гемотрансфузиологической инфекции / С.В. Выдыборец [Текст] // Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. – 2018. – Т. 4, № 1. – С. 85 – 90.
14. Выдыборец, С.В. Контейнеры полимерные для крови и ее компонентов: стандартизация, классификация и терминология / С. В. Выдыборец [Текст] // Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. – 2016. – Т.2, №2. – С. 256-269.
15. Выдыборец, С.В. Посттрансфузионные реакции и осложнения / С.В. Выдыборец, С.Н. Гайдукова [Текст] // Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. – 2017. – Т. 3, № 1. – С. 67 – 81.
16. Выдыборец, С.В. Синдром острого посттрансфузионного повреждения легких / С. В. Выдыборец, А. А. Андрияка [Текст] // Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. – 2016. – Т.2, №4. – С. 480-489.
17. Выдыборец, С. В. Информированное согласие в трансфузиологической практике (лекция) / С. В. Выдыборец // Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. – 2019. – Т.5, №4. – С. 422-429.
18. Гайдукова, С.Н. Особенности обработки рук при проведении гематологических и трансфузиологических процедур / Гайдукова С. Н, Кучер Е. В., Мороз Г. И., Ременник О. И., Гартовская И. Р. // Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. – 2016. – Т.2, №4. – С.443-449.
19. Гемофілії: навчальний посібник для студентів медичних університетів та лікарів – слухачів курсів установ післядипломної освіти / Мороз Г. І., Видиборець С. В., Гайдукова С. М. і співавт. [Текст] — К.: НМАПО імені П.Л. Шупика, 2011. — 164 с.
20. Дерпак Ю.Ю. Метод диагностики нарушений обмена железа и меди у регулярных доноров крови // Міжвідомчий збірник "Гематологія і переливання крові". – 2008. – Вип. 34, Т. II. – С.92 – 98.
21. Дерпак Ю.Ю. Показник проникливості мембран еритроцитів як один із критеріїв змін еритропоезу у регулярних донорів крові // Український журнал екстремальної медицини ім. Г. О. Можаяєва. – 2010. – Т. 11, № 3. – С. 93 – 95.
22. Дерпак Ю.Ю. Показники агрегації еритроцитів і тромбоцитів периферичної венозної крові // Світ медицини та біології. – 2010. – № 2. – С. 57 – 59.
23. Дерпак Ю.Ю. Морфометричний аналіз еритроцитів у регулярних донорів крові // Збірник наукових праць «Актуальні питання медичної науки та практики» - Запоріжжя. – 2009.- Вип. 76, том 1, кн. 2. – С. 108 – 113.
24. Дерпак Ю.Ю. Практичне значення визначення кількості ретикулоцитів у периферичній крові регулярних донорів // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика. – 2010. – Вип. 19, кн. 3. – С. 365 – 368.

25. Дерпак Ю.Ю. Особливості розподілення еритроцитів периферичної крові за об'ємом клітин у активних донорів крові // Збірник наукових праць «Актуальні питання медичної науки та практики». – Запоріжжя. – 2011. – Вип. 78, том 1, кн. 2. – С. 81 – 85.
26. Дерпак Ю.Ю. Вивчення показників механічної, теплової та кислотної резистентності еритроцитів у регулярних донорів крові // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2011. – Т. 6, № 1. – С. 64 – 66.
27. Дерпак Ю.Ю. Сравнительный анализ показателей железосвязывающей способности и ферритина сыворотки крови у регулярных доноров крови // Медицинская наука и образование Урала. – 2012. – № 4. – С. 56 – 58.
28. Дерпак Ю.Ю., Видиборець С.В. Патогенетичні механізми змін енергетичного обміну еритроцитів у донорів крові // Сімейна медицина. – 2014. – № 6 (56). – С. 108 – 110.
29. Дерпак Ю.Ю. Состояние энергетического обмена в эритроцитах доноров крови // Медицинская наука и образование Урала. – 2014. – № 4. – С. 43 – 46.
30. Дерпак Ю.Ю. Коррекция выявленных нарушений обмена железа у регулярных доноров крови // Медицинская наука и образование Урала. – 2015. – № 1. – С. 34 – 37.
31. Дерпак Ю.Ю., Видиборець С.В. Вплив змін порушень обміну заліза на показники механічної та теплової резистентності еритроцитів у регулярних донорів крові // Сімейна медицина. – 2015. – № 3 (59). – С. 251 – 253.
32. Дерпак Ю.Ю. Динамика показателей содержания 2,3-дифосфо-глицерата в эритроцитах регулярных доноров крови в процессе коррекции латентного дефицита железа // Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. – 2015. – № 2 (02). – С. 54 – 59.
33. Дерпак Ю.Ю., Видиборець С.В. Стан обміну аденозиндифосфорної кислоти та аденозинмонофосфату в еритроцитах у донорів крові // Міжвідомчий збірник "Гематологія і переливання крові". – 2015. – Вип. 38. – С. 125 – 131.
34. Дерпак Ю.Ю. Распределение эритроцитов по плотности у активных доноров // Медицинская наука и образование Урала. – 2016. – № 3 (57). – С. 109 – 110.
35. Дерпак Ю.Ю. Практичне значення визначення кількості ретикулоцитів у периферичній крові регулярних донорів / Ю. Ю. Дерпак // Світ медицини та біології. – 2016. – № 2. – С. 57 – 59.
36. Дерпак Ю.Ю. Исследование реологических свойств периферической венозной крови у регулярных доноров крови // Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. – 2016. – Т. 2, № 3. – С. 361 – 367.
37. Дерпак Ю.Ю. Комплексная оценка морфологических изменений и физических свойств эритроцитов у активных доноров крови // Здоровье и образование в XXI веке. – 2016. – Т. 18, № 7. – С. 54 – 59.

38. Дерпак Ю.Ю. Загальна характеристика показників ефективного еритропоезу та периферичної крові в активних донорів крові // Шпитальна хірургія. Журнал імені Л. Я. Ковальчука. – 2016. – № 3 (75). – С. 97 – 100.
39. Дерпак, Ю. Ю. Распределение эритроцитов по плотности у активных доноров / Ю. Ю. Дерпак // Медицинская наука и образование Урала. – 2016. – № 2. – С. 23 – 26.
40. Дерпак, Ю. Ю. Исследование реологических свойств периферической венозной крови у регулярных доноров крови / Ю. Ю. Дерпак // Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. – 2016. – Т. 2, № 3. – С. 361 – 367.
41. Дерпак, Ю. Ю. Комплексная оценка морфологических изменений и физических свойств эритроцитов у активных доноров крови [Текст] / Ю. Ю. Дерпак // Здоровье и образование в XXI веке. – 2016. – Т. 18, № 7. – С. 54 – 59.
42. Донсков, С.И. Группы крови человека: руководство по иммуносерологии / С.И. Донсков, В.А. Мороков. – М: ИП Скороходов В.А., 2011. – 1016 с.
43. Жибурт, Е.Б. Трансфузиологический словарь. Монография / Е.Б. Жибурт. — М.: Издание Российской академии естественных наук, 2011. — 320 с.
44. Заневська, Л.Й. Реінфузія крові: монографія / Л.Й. Заневська, О.В. Сергієнко, С.М. Гайдукова, С.В. Видиборець / за заг. ред. проф. Видиборця С.В., к.мед.н. Сергієнка О.В. — К.: НМАПО імені П.Л. Шупика, 2013. — 158 с.
45. Интенсивная терапия: национальное руководство. Краткое издание / под ред. акад. РАМН Б.Р. Гельфанда, чл.-кор. РАМН А.И. Салтанова. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. — 800 с.
46. Діяльність закладів служби крові України у 2020 році: довідник. – МОЗ України, НАМН України, ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України». – К.; ТОВ «ДІА», 2021. – 76 с.
47. Донорство: залучення донорів крові та її компонентів: навч. посіб. / Леслі Ботос [та ін.]; за заг. ред. проф. С. Гайдукової, проф. С. Видиборця, канд. мед. наук О. Сергієнка. — Київ; Вашингтон: [б. в.], 2014. — 199 с.
48. Закон України від 23.06.1995 р. № 239/95-ВР «Про донорство крові та її компонентів» / Верховна Рада України: офіційний веб-портал: Законодавство України [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/239/95-%D0%B2%D1%80>.
49. Діяльність закладів служби крові України у 2020 році: довідник. – МОЗ України, НАМН України, ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України». – К.; ТОВ «ДІА», 2021. – 76 с.
50. Донорство: залучення донорів крові та її компонентів: навч. посіб. / Леслі Ботос [та ін.]; за заг. ред. проф. С. Гайдукової, проф. С. Видиборця, канд. мед. наук О. Сергієнка. — Київ; Вашингтон: [б. в.], 2014. — 199 с.

51. Закон України від 23.06.1995 р. № 239/95-ВР «Про донорство крові та її компонентів» / Верховна Рада України: офіційний веб-портал: Законодавство України [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/239/95-%D0%B2%D1%80>.
52. Клінічна трансфузіологія / за ред. В.П. Польового, В.Д. Фундюра, М.Д. Желіби, В.В. Загороднього. — Чернівці: Мед університет, 2014. — 404 с.
53. Либман Г. ВІС-інфекція: пер. с англ. под ред. А.И. Мазуса, Т.П. Бессараба / Г. Либман, Х. Дж. Макадон. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. — 560 с.
54. Любчак, В.В. Виробнича трансфузіологія: монографія / В.В. Любчак, В.П. Любчак, А.С. Тимченко, В.А. Сміянов. [Текст] — Суми: Сумський державний університет, 2017. — 272 с.
55. Менеджмент якості в службі крові / за заг. ред. проф. С. Видиборця, к.мед.н. О. Сергієнка, Дж. Стенлі. [Текст] — Видання друге. — Київ — Вашингтон: ТОВ «НВП Інтерсервіс», 2017. — 308 с.
56. Мясников Г.В. Керівництво з воєнно-польової терапії (спеціальна частина) / Г.В. Мясников. [Текст] — К., 2015. — 256 с.
57. Національне керівництво з виробничої трансфузіології для закладів, підрозділів, та лабораторій служби крові. [Текст] — Харків: Золоті сторінки, 2015. — 336 с.
58. Невідкладна військова хірургія / пер. з англ. [Текст] — К.: Наш формат, 2015. — 568 с.
59. Новак В.Л. Донорська плазма. Препарати плазми крові та їх клінічне застосування: посіб. для лікарів / В.Л. Новак, П.В. Гриза, С.В. Примак. [Текст]. - Львів: ДУ «Ін-т патології крові та трансфузійної медицини НАМН України», Львів. нац. мед. ун-т ім. Данила Галицького. — Дніпропетровськ: АРТ-ПРЕС, 2011. — 261 с.
60. Організація трансфузіологічної допомоги в закладах охорони здоров'я: Керівництво для лікарів. / за заг. ред. проф. С. Видиборця, к.мед.н. О. Сергієнка. - Видання друге. — К.- Вашингтон, 2019. — 260 с.
61. Основи законодавчого забезпечення діяльності фахівців в службі крові та гематології / за ред. проф. Видиборця С.В., проф. Михайличенка Б.В. [Текст] — К.: НМАПО імені П.Л. Шупика, 2014. — 558 с.
62. Основи клінічної гемостазіології Навчальний посібник для студентів і слухачів вищих медичних навчальних закладів III-IV рівнів акредитації / за заг. ред. проф. Видиборця С.В. [Текст] — К.: НМАПО імені П.Л. Шупика, 2012. — 192 с.
63. Сучасна трансфузіологія: навч.-метод. посіб. для лікарів-інтернів і лікарів-слухачів закл. (ф-тів) післядиплом. освіти / В.В. Бойко та ін. [Текст] // Харк. мед. акад. післядиплом. освіти. — Харків: Бровін О.В., 2012. — 199 с.
64. Трансфузіологія: національне керівництво / под ред. проф. А.А. Рагімова. [Текст] — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. — 1184 с.
65. Физиология и патология гемостаза / под ред. проф. Н.И. Стуклова. [Текст] - М.: ГЭОТАР-Медиа. - 2016. - 120 с.

66. AABB Standards for Blood Banks and Transfusion Services, 30th edition — AABB Press: Bethesda, Maryland, 2016. — 120 p.
67. AABB Technical Manual / editor Fung Mark K. — 18th ed. — AABB Press: Bethesda, Maryland, 2014. — 1044 p.
68. Blood donor counselling: WHO-CDC-IFRC Implementation guidelines, 2014 / Всесвітня організація охорони здоров'я: офіційний веб-портал [Електронний ресурс]. — Режим доступу: http://www.who.int/bloodsafety/voluntary_donation/Blooddonorcounselling.pdf.
69. Blood donor selection: Guidelines on assessing donor suitability for blood donation, 2012 / Всесвітня організація охорони здоров'я: офіційний веб-портал [Електронний ресурс]. — Режим доступу: http://www.who.int/bloodsafety/publications/guide_selection_assessing_suitability.pdf.
70. Blood services in south-eastern Europe: current status and challenges / Всесвітня організація охорони здоров'я, 2007: офіційний веб-портал [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/Health-systems/blood-safety/publications2/2007/blood-services-in-south-eastern-europe-current-status-and-challenges-2007>.
71. Global database (GDBS) on blood safety: Summary report 2004–2005 / Всесвітня організація охорони здоров'я: офіційний веб-портал [Електронний ресурс]. — Режим доступу: http://www.who.int/bloodsafety/global_database/GDBSReport2004-2005.pdf.
72. Global database (GDBS) on blood safety: Summary report 2008 / Всесвітня організація охорони здоров'я: офіційний веб-портал [Електронний ресурс]. — Режим доступу: http://www.who.int/bloodsafety/global_database/GDBS_Summary_Report_2008.pdf.
73. Global database (GDBS) on blood safety: Summary report 2009 / Всесвітня організація охорони здоров'я: офіційний веб-портал [Електронний ресурс]. — Режим доступу: http://www.who.int/bloodsafety/global_database/GDBS_Summary_Report_2009.pdf.
74. Global database (GDBS) on blood safety: Summary report 2011 / Всесвітня організація охорони здоров'я: офіційний веб-портал [Електронний ресурс]. — Режим доступу: http://www.who.int/bloodsafety/global_database/GDBS_Summary_Report_2011.pdf.
75. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components: Recommendation No. R (95) 15. — 20th Edition. — European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare: Strasbourg, 2020. — 436 p.

76. List of countries reported collection of blood from 100% (or almost 100%) voluntary non-remunerated blood donors (in alphabetical order), 2011 (Updated in June 2013) / Всесвітня організація охорони здоров'я: офіційний веб-портал [Електронний ресурс]. — Режим доступу: http://www.who.int/campaigns/world-blood-donor-day/2013/blood_donor_countries.pdf.
77. South-eastern Europe Health Network. Current status and future strategies in safe blood and blood components transnational availability for medical emergencies and special circumstances in South-eastern Europe / Всесвітня організація охорони здоров'я, 2011: офіційний веб-портал [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/Health-systems/blood-safety/publications2/2011/current-status-and-future-strategies-in-safe-blood-for-emergencies-in-south-eastern-europe>.
78. WHO-CDC Inter-regional workshop on blood donor selection and donor counselling for priority countries in the African and Eastern Mediterranean regions, June 2011, Nairobi, Kenya / Всесвітня організація охорони здоров'я: офіційний веб-портал [Електронний ресурс]. — Режим доступу: http://www.who.int/bloodsafety/WHO-CDC_ReportDonorSelectionCounsellingWorkshopKenya2011.pdf.

Додаток 1

Приклад інформованої добровільної згоди на трансфузію/відмови від трансфузії компонентів крові.

Інформована добровільна згода на трансфузію /відмова від трансфузії компонентів крові

Я, _____,
(П.І.Б. пацієнта повністю)

перебуваючи на лікуванні в _____,
(назва закладу охорони здоров'я)

та структурного підрозділу закладу охорони здоров'я

отримав(ла) інформацію про процедуру трансфузії компонентів крові з дотриманням вимог ст. 6, 39 Закону України «Основи законодавства України про охорону здоров'я».

Мене поінформовано про мету проведення трансфузії компонентів крові, особливості проведення медичного втручання, альтернативні методи лікування, а також про ризики, пов'язані з ним, у т. ч. про можливі передачу трансфузійно-трансмисивних інфекцій та виникнення трансфузійних ускладнень.

Я проінформований(на) про можливе погіршення перебігу захворювання у випадку відмови від трансфузії компонентів крові.

Я погоджуюсь з планом і схемою проведення трансфузії компонентів крові за рекомендацією лікаря.

Я мав(ла) можливість ставити будь-які питання, які мене цікавлять, стосовно процедури трансфузії компонентів крові та отримав(ла) на них вичерпні відповіді.

Я _____
(даю згоду на/відмовляюсь від проведення трансфузії компонентів крові, знаючи добровільно й усвідомлюючи наслідки ухваленого рішення)

_____ ГОД. _____ ХВ «__» _____ 20__ р.
(час заповнення форми)

(підпис пацієнта)

(П.І.Б. підпис лікаря)

Примірник інформованої добровільної згоди отримав _____
(підпис пацієнта)

У разі наявності ознак прямої загрози життю пацієнта за умови неможливості отримання з об'єктивних причин інформованої добровільної згоди на таке втручання від самого пацієнта, консилиум лікарів у складі:

(П.І.Б., посада, підпис лікаря)

(підпис лікаря)

(П.І.Б., посада, підпис лікаря)

(підпис лікаря)

(П.І.Б., посада, підпис лікаря)

(підпис лікаря)

ухвалив рішення проводити трансфузію компонентів крові пацієнту

(П.І.Б. пацієнта)

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Відомості про авторів

ВИДИБОРЕЦЬ Станіслав Володимирович – д.мед.н., професор, завідувач кафедри гематології і трансфузіології Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика

ORCID: 0000-0003-0546-4325

ДЕРПАК Юрій Юрійович - д.мед.н., доцент кафедри гематології і трансфузіології Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика

ORCID: 0000-0002-5945-8775

вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112