

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 616.132.2-089.86-06:616-092:612.118.3]-074

С. П. Чумакова¹, О. И. Уразова¹, В. В. Новицкий¹, В. М. Шипулин², О. А. Хохлов¹, И. В. Мальцева¹, Т. В. Емельянова², М. В. Корчагина¹**СВЯЗЬ АВ0- И РЕЗУС-ФЕНОТИПОВ ЭРИТРОЦИТОВ С ВЫРАЖЕННОСТЬЮ ИНТРАОПЕРАЦИОННОГО ГЕМОЛИЗА У КАРДИОХИРУРГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ**¹ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития РФ, Томск; ²Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт кардиологии СО РАМН, Томск

В исследование вошли больные ишемической болезнью сердца с умеренным (70 человек) и выраженным (36 человек) гемолизом после коронарного шунтирования в условиях искусственного кровообращения. После операции оценивали содержание свободного гемоглобина в плазме крови, АВ0- и резус-фенотип эритроцитов. Установлено, что у больных с выраженным интраоперационным гемолизом достоверно чаще, чем при умеренном гемолизе, встречаются фенотипы эритроцитов В(III), АВ(IV), ссDЕЕ, ссDЕе, ссDее и достоверно реже – 0(I)-фенотип. Фактором риска выраженного интраоперационного гемолиза является верификация ссD(E/e)-фенотипа эритроцитов, при других резус-фенотипах – группа крови В(III) или АВ(IV).

Ключевые слова: антигены эритроцитов, АВ0, резус-фенотип, гемолиз, искусственное кровообращение

S.P. Tchumakova, O.I. Urazova, V.V. Novitskiy, V.M. Shipulin, O.A. Khokhlov, I.V. Maltseva, T.V. Yemelyanova, M.V. Kortchagina

THE RELATIONSHIP OF AB0- AND RHESUS-PHENOTYPES OF ERYTHROCYTES WITH EXPRESSION OF INTRA-OPERATIONAL HEMOLYSIS IN CARDIO-SURGICAL PATIENTS

The study sampling included patients with ischemic heart disease with mild (70 patients) and marked (36 patients) hemolysis after coronary artery bypass grafting under artificial blood circulation. During post-operation period the content of free hemoglobin in blood plasma, AB0- and rhesus-phenotype of erythrocytes were evaluated. It is established that in patients with marked intra-operational hemolysis as compared with cases of mild hemolysis the phenotypes of erythrocytes B(III), AB(IV), ccDEE, ccDEe are found reliably more often and 0(I)-phenotype is found reliably more rare. The risk factor of marked intra-operational hemolysis is a verification of ccD(E/e)-phenotype of erythrocytes and in case of different rhesus-phenotypes - blood type B(III) or AB(IV).

Key words: antigens of erythrocytes, AB0, rhesus-phenotype, artificial blood circulation.

Несмотря на очевидный прогресс в области экстракорпоральных технологий, развитие гемолиза во время операций с использованием искусственного кровообращения (ИК) до сих пор остается серьезной проблемой мировой кардиохирургии и перфузиологии [2, 13, 14]. Прогнозировать выраженность постперфузионной гемоглобинемии возможно на сегодняшний день лишь путем учета предполагаемой длительности ИК и характеристик компонентов экстракорпорального контура, которые должны быть наименее травматичными и максимально биосовместимыми [13]. Между тем кардиохирургические клиники всегда работают на более современном оборудовании, стремясь обеспечить его наличие всем пациентам, и тогда на первый план выступает необходимость создания индивидуального подхода к оценке риска гемолитических расстройств у кардиохирургических больных после ИК. Вполне вероятно, что индивидуальные особенности внутренней среды организма могут обуславливать различную гемолитическую стойкость эритроцитов у пациентов и быть причиной развития различного уровня гемоглобинемии при равном травмирующем воздействии аппарата ИК.

Самым известным индивидуальным, генетически детерминированным свойством эритроцитов является их АВ0- и резус-фенотип, определяемый набором полисахаридных и белковых антигенов соответственно. Несмотря на то что комплекс детерминант эритроцитов принято считать лишь структурной характеристикой клеточной мембраны, они, вероятно, могут влиять и на свойства эритроцитов. Так, у лиц с фенотипом D_{null}, у которых отсутствуют все антигены системы резус,

определяются сфероцитоз, нарушение ионной проницаемости эритроцитарной мембраны и гемолитическая анемия [7]. При этом главную роль в развитии данных изменений клетки, очевидно, играет дефицит антигенов С/с и Е/е, а не D-белка, отсутствие которого не сопровождается какими-либо функциональными нарушениями эритроцитов у резус-отрицательных лиц. Кроме того, для резус-антигенов показана структурная гомология с транспортером аммония в тканях почки [11].

Вопрос о функции полисахаридных антигенов остается открытым. С одной стороны, люди с различными АВ0-фенотипами, в том числе и "бомбейским" (отсутствие на эритроцитах антигенов А, В и Н), не различаются между собой по физиологическим признакам. С другой стороны, нейтральный признак, не проявляющий себя в стабильных условиях, может оказаться значимым при неблагоприятных воздействиях, например в условиях инфекционной патологии (многие бактерии и вирусы имеют антигенную структуру, сходную с таковой антигенов с антигенами А, В и Н эритроцитов человека) [7]. К экстремальным воздействиям можно также отнести операции с ИК, когда кровь приходит в соприкосновение с неэндотелизированной поверхностью аппарата и подвергается мощным сдвиговым нагрузкам [2, 13, 14].

В связи с этим целью исследования явилась оценка прогностической значимости АВ0- и резус-фенотипов эритроцитов для оценки риска выраженного постперфузионного гемолиза у кардиохирургических больных.

Материалы и методы. В исследование вошло 106 больных (93 мужчины и 13 женщин) в возрасте от 45 до 72 лет ишемической болезнью сердца (ИБС), перенесших операцию коронарного шунтирования с использованием ИК. Реваскуляризация миокарда проводилась в условиях нормотермии (36,07 ± 0,18°C) и кристаллоидной кардиopleгии ("Кустодиол", Германия). Экстракорпоральная перфузия осуществлялась на аппаратах ИК (Stokert, Германия), оснащенных роликовыми насосами, и с применением одноразовых

Для корреспонденции:

Чумакова Светлана Петровна, докторант каф. патофизиологии
Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, 2
Телефон: 8 (3822) 55-36-13
E-mail: Chumakova_S@mail.ru

мембранных оксигенаторов (Quadrox, Германия). Критериями исключения из исследования считали проведение у пациентов продленного (после операции) ИК и выполнение сочетанных операций.

В соответствии с обозначенной целью исследования были сформированы 2 группы пациентов в зависимости от концентрации свободного гемоглобина в плазме крови после операции: 1-я – с умеренным гемолизом (гемоглобинемия менее 40 мг/дл, 70 человек), 2-я – с выраженным гемолизом (гемоглобинемия свыше 40 мг/дл, 36 человека). Концентрация свободного гемоглобина в плазме крови 40 мг/дл была выбрана в качестве критерия распределения больных на группы с учетом того, что при гемоглобинемии свыше этого уровня наблюдаются клинические проявления внутрисосудистого гемолиза (прежде всего желтуха) [3]. Больные двух групп сравнения оказались сопоставимыми по возрасту ($57,14 \pm 1,59$ года), полу (85–90% мужчин), тяжести ИБС (III–IV функциональный класс стенокардии), количеству выполненных анастомозов ($2,81 \pm 0,26$), длительности ИК и ишемии миокарда ($125,95 \pm 14,56$ мин и $85,23 \pm 15,01$ мин соответственно).

Материалом исследования служила гепаринизированная венозная кровь (50 ед/мл), полученная непосредственно после операции. Цельную кровь использовали для оценки ее АВ0- и резус-принадлежности. Группу крови по антигенам системы АВ0 определяли перекрестным методом с применением моноклональных реагентов (целиклоны анти-А, анти-В и анти-АВ; ООО "Гематолог", Россия). Резус-фенотип эритроцитов исследуемой крови определяли в реакции прямой гемагглютинации на плоскости с помощью целиклонов анти-D, анти-C, анти-c, анти-E, анти-e Супер (ООО "Гематолог", Россия). Содержание свободного гемоглобина (в мг/дл) в плазме крови оценивали бензидиновым методом [8].

Математическую обработку данных проводили методами вариационной статистики. Для каждой выборки вычисляли W – выборочную долю и S_w – среднюю ошибку выборки для доли, выраженные в процентах. Проверку гипотезы о равенстве долей в двух исследуемых выборках проводили методом угловой трансформации, основанном на ф-преобразовании Фишера, с введением поправки Йейтса [4]. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Вероятность

Частота встречаемости (в %) АВ0- и резус-фенотипов эритроцитов при умеренном и выраженном гемолизе у кардиохирургических больных, оперированных в условиях искусственного кровообращения ($n \pm S_w$)

Фенотип эритроцитов	Группа обследованных	
	с умеренным гемолизом ($n = 70$)	с выраженным гемолизом ($n = 36$)
0(I)	42,85 ± 5,96	13,89 ± 5,85**
A(II)	38,57 ± 5,86	33,33 ± 7,97
B(III)	12,86 ± 4,02	30,56 ± 7,78*
AB(IV)	8,57 ± 3,37	22,22 ± 7,02*
CcDee	45,71 ± 6,00	25,00 ± 7,32
CCDee	18,57 ± 4,68	8,33 ± 4,67
CcDEe	8,57 ± 3,37	8,33 ± 4,67
ccDEE	2,86 ± 2,01	11,11 ± 5,31*
ccDEe	2,86 ± 2,01	13,89 ± 5,85*
ccDee	1,43 ± 1,43	11,11 ± 5,31**
ccdee	15,71 ± 4,38	22,22 ± 7,03
CCdee	4,29 ± 2,44	–

Примечание. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ по сравнению с пациентами с умеренным гемолизом.

развития выраженного гемолиза для прогностически значимых признаков вычисляли как отношение числа больных с данным признаком и выраженной гемоглобинемией, отнесенное к общему количеству обследованных, обладающих данным признаком (вне зависимости от степени тяжести гемолиза).

Результаты и обсуждение. Фенотипирование эритроцитов крови по антигенам системы АВ0 и резус обнаружило неравнозначную их встречаемость у пациентов с умеренным и выраженным гемолизом (см. таблицу). Формирование выраженной гемоглобинемии после ИК сочеталось с достоверно более частым носительством фенотипов В(III), АВ(IV), ccDEE, ccDEe, ccDee (в общем ccD(E/e)-фенотипы) и редкой встречаемостью 0(I)-фенотипа.

По данным литературы, среди больных атеросклерозом и другой сосудистой патологией группа крови АВ(IV) и резус-фенотипы ccDee и ccDEe обнаруживаются чаще, а группа 0(I) – реже, чем у здоровых доноров [10]. Данное обстоятельство (наряду с полученными нами результатами) позволяет рассматривать пациентов с выраженным гемолизом как лиц, генетически более подверженных развитию ИБС, чем больные с умеренным гемолизом. Поскольку ключевым патогенетическим фактором коронарной недостаточности является гипоксия сердца и к ее формированию эритроциты имеют непосредственное отношение, возможно, что у больных с выраженным гемолизом клетки красной крови обладают свойствами, ассоциированными с АВ0- и резус-фенотипом, изменяющими их кислородотранспортную функцию или гемолитическую стойкость.

Известно, что полисахаридные антигены, которыми являются в том числе А-, В- и Н-молекулы, участвуют в образовании гликокаликса, препятствующего агглютинации эритроцитов за счет формирования отрицательного заряда на их поверхности [11]. При этом количество Н-молекул на эритроцитах зависит от экспрессии А- и В-антигенов и убывает в последовательности 0–A₂–B–A₂B–A₁–A₁B [9]. Между тем показано, что в ядродержащих клетках Н-антиген является фактором ангиогенеза и синтеза межклеточной молекулы адгезии-1 [15]. Наряду с этим известен факт исчезновения А- и В-антигенов при опухолевой трансформации эпителиальных клеток, что предположительно сочетается с гликозилированием на них интегрина рецептора, так как данный феномен коррелирует со степенью злокачественности и метастазирования опухолей различной локализации [7]. Вышеизложенное демонстрирует важную роль антигенов системы АВ0 в определении не только фенотипа клеток, но и их свойств. Возможно, именно Н-антиген придает эритроцитам максимальный поверхностный отрицательный заряд, благотворно влияющий на реологические характеристики крови. Поэтому отсутствие Н-антигена (или наличие В-антигена) снижает резистентность эритроцитов к ИК.

Частая встречаемость ccDee-фенотипа при атеросклерозе вообще [10] и у кардиохирургических больных с выраженным гемолизом в частности (см. таблицу) может быть связана с низкой вязкостью гликокаликса и большим объемом эритроцитов, что показано у доноров с резус-фенотипом ccDee относительно носителей С-антигена [1]. Не исключено, что это характерно и для ccDEe- и ccDEE-фенотипов, также лишенных С-молекулы. При этом D- и с-антигены являются наиболее многочисленными интегральными белками среди детерминант системы резус [6]. Однако известно, что увеличение содержания белка в мембране эритроцитов снижает ее микровязкость [5]. Видимо, данное обстоятельство наряду с большим объемом ccD(E/e)-эритроцитов, ухудшает реологические свойства клеток, а низкая плотность гликокаликса делает мембрану эритроцитов более доступной для действия агрессивных факторов – протеиназ и антител. Протеиназы в свою очередь, могут изменять прочность связи компонентов мембраны с цитоскелетом и тем самым влиять на подвижность клеток [11]. В условиях ИК, когда ламинарный

ток крови часто переходит в турбулентный [13], обогащаясь большим количеством продуктов распада и секреции клеток [12], вышеназванные особенности эритроцитов с ссD(E/e)-фенотипом, вероятно, оказываются значимыми и реализуются усиленной деструкцией клеток.

Поскольку проведенное исследование обнаружило несколько "рисковых" эритроцитарных фенотипов как по групповым (AB0), так и по резус-антигенам, интересно было оценить прогностическую значимость таковых у кардиохирургических больных. Так, вероятность развития выраженного гемолиза после ИК у носителей различных фенотипов составила: при 0(I) – 0,14; B(III) – 0,55; AB(IV) – 0,57; ссDEE – 0,67; ссDEe – 0,71; ссDee – 0,80. Указанные значения достоверно отличались от вероятности развития выраженной гемоглобинемии у кардиохирургических больных в целом, равной 0,34 (36 больных из 106 оперированных). Из этого следует, что определение резус-фенотипа эритроцитов является более информативным, но прогностическую значимость при этом имеют минорные фенотипы (ссDEE, ссDEe и ссDee), которые редко встречаются в популяции – менее чем у 10% доноров [1]. Очевидно, что отсутствие данных резус-фенотипов эритроцитов у кардиохирургических больных не гарантирует развития умеренного гемолиза после операции с ИК. Прогнозирование уровня гемоглобинемии у таких лиц целесообразно проводить по антигенам системы AB0.

Заключение. Предварительные клинические данные о возможности прогнозирования выраженности постперфузионного гемолиза по антигенам системы AB0 и резус (0(I), B(III) и AB(IV); ссDEE, ссDEe и ссDee) у кардиохирургических пациентов имеют убедительную теоретическую основу и могут стать прототипом для разработки системы дооперационного прогнозирования гемолитических расстройств после ИК.

© Н. А. МАКАРОВА, И. И. ШАПОШНИК, 2013

УДК 616.12-008.46-036.12-06:616.155.194.8]-074

Н. А. Макарова, И. И. Шапошник

ПРОГЕПСИДИН В ДИАГНОСТИКЕ ДЕФИЦИТА ЖЕЛЕЗА У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ И АНЕМИЕЙ

ГБОУ ВПО Челябинская государственная медицинская академия

Обследовали 52 больных с хронической сердечной недостаточностью; среди них 26 больных имели анемию. Не отмечено ожидаемого увеличения продукции прогепсидина на фоне повышенных сывороточных концентраций провоспалительных цитокинов. Тенденция к снижению уровня прогепсидина наряду со снижением содержания железа и ферритина в сыворотке крови свидетельствовала об истощении запасов железа в организме.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, провоспалительные цитокины, прогепсидин, дефицит железа, анемия

N.A. Makarova, I.I. Shaposhnik

PROHEPSIDIN IN DIAGNOSTIC OF IRON DEFICIENCY IN PATIENTS WITH CHRONIC CARDIAC FAILURE AND ANEMIA

The sample for examination included 52 patients with chronic cardiac failure and 26 patients with anemia amongst. The expected increase of production of prohepsidin against the background of increased serum concentrations of anti-inflammatory cytokines was not detected. The tendency to decrease level of prohepsidin alongside with decrease of content of serum iron and ferritin in blood serum testified depletion of iron resources in organism.

Key words: chronic cardiac failure, anti-inflammatory cytokines, prohepsidin, iron deficiency, anemia

ЛИТЕРАТУРА

1. *Веснина Н. В.* Rh-антигены эритроцитов: аллоиммунизация и влияние на состояние периферического звена эритрона при гемотрансфузии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Томск, 2008.
2. *Дементьева И. И., Морозов Ю. А., Чарная М. А.* // Кардиол. и сердечно-сосуд. хир. – 2008. – № 6. – С. 60–63.
3. *Дуткевич И. Г.* // Вестн. хир. – 2007. – № 5. – С. 77–80.
4. *Лакин Г. Ф.* Биометрия – 4-е изд. – М.: Высшая школа, 1990.
5. *Луценко М. Т., Андриевская И. А., Пишуткина Н. А.* // Современные методы системного анализа и возможности их применения в медицинской науке. – 2010. – Т. 24, № 2. – С. 98–100.
6. *Минеева Н. В.* Группы крови человека. Основы иммунологии. – СПб., 2004.
7. *Оловникова Н. И., Николаева Т. Л.* // Гематол. и трансфузиол. – 2001. – Т. 46, № 5. – С. 37–45.
8. *Рождественская М. А.* // Актуальные вопросы переливания крови. – 1955. – № 4. – С. 55.
9. *Токарев Ю. Н.* Техническое руководство американской ассоциации банков крови: Пер. с англ. – Милан: Европейская школа трансфузионной медицины, 2000.
10. *Турбасова Н. В., Плотникова М. В., Ильдебенева С. А.* // Вестн. Уральск. мед. акад. науки. – 2009. – № 2. – С. 108–109.
11. *Daniels G.* // Blood Rev. – 1999. – Vol. 13, № 1. – P. 14–35.
12. *Paparella D., Yau T. M., Young E.* // Eur. J. Cardiothorac. Surg. – 2002. – Vol. 21, № 2. – P. 232–244.
13. *Vercaemst L.* // J. Extra Corporeal. Technol. – 2008. – Vol. 40, № 4. – P. 257–267.
14. *Wright G.* // Perfusion. – 2001. – Vol. 16, N 5. – P. 345–351.
15. *Zhu K., Amin M. A., Kim M. J. et al.* // J. Biol. Chem. – 2003. – Vol. 278, N 24. – P. 2169–2177.

Поступила 19.01.12

Течение большинства сердечно-сосудистых заболеваний осложняется развитием хронической сердечной недостаточности (ХСН). К ключевым звеньям ее патогенеза относятся нейрогуморальный дисбаланс и хроническая ак-

тивация иммунной системы. Активированные макрофаги и Т-лимфоциты продуцируют реактивные перекисные соединения и провоспалительные цитокины – интерлейкин-6 (ИЛ-6), фактор некроза опухолей α (ФНО α), участвующие