

АНТИГЕННЫЕ И МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТРОМБОЦИТОВ В НОРМЕ И ПРИ ГЕМОФИЛИИ ПРИ РАЗЛИЧНОЙ АВО-ГРУППОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ КРОВИ

Ф.Н. Гильмиярова, О.А. Гусякова, И.Ф. Сидорова, А.А. Епифанова,
Р.Г. Гильмутдинов, И.А. Давыдкин, Ю.А. Косякова,
ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет»

Гильмиярова Фрида Насыровна – e-mail: bio-sam@yandex.ru

Обнаружена неодинаковая антигенная структурная организация тромбоцитов у доноров с разной АВО-групповой принадлежностью крови. Особенностью лиц с O(I) группой крови является отсутствие HPA-5-5a/b и наличие HPA-6-6a/b. При кровотечении у больных гемофилией реакция тромбоцитарного звена неоднозначна: при A(II) группе крови часто возникает анемия, количество тромбоцитов небольшое, с малыми размерами. У больных с B(III) группой крови наблюдается нарушение агрегационной способности тромбоцитов. У пациентов с АВ(IV) группой крови обнаружено большое количество мелких тромбоцитов с сохранённой функцией, анемия у них не диагностирована.

Ключевые слова: антигены тромбоцитов, группы крови, количество тромбоцитов, агрегация тромбоцитов, гемофилия.

Found unequal antigenic structural organization of platelets from donors with different ABO blood group. Feature of individuals with O (I) blood group is the absence of HPA-5-5a / b and the presence of HPA-6-6a / b. In case of bleeding in hemophiliacs platelet reaction is mixed: the A (II) blood group is often anemia, low platelet count with small dimensions. Patients with B (III) blood group observed a violation of platelet aggregation. In patients with AV (IV) blood group found a large number of small platelets with preserved function, anemia, they are not diagnosed.

Keywords: platelet antigens, blood group, platelet count, platelet aggregation, hemophilia.

Введение

В настоящее время изучено 250 антигенных детерминант эритроцитарных мембран, образующих три уровня «антигенных этажей». Они выполняют, помимо иммунологической функции, роль в защите и обеспечении гомеостаза клеток крови, служат рецепторами эндогенных лигандов, вирусов, бактерий, паразитов, осуществляют ферментативную и структурную функцию, участвуют в адгезии различных молекул. Антигены системы АВО находятся практически на всех клетках организма, в том числе и на тромбоцитах [1].

Тромбоциты являются важным звеном в обеспечении гемостаза, репарации ткани. Полиморфизм тромбоцитспецифических антигенов (HPA) обусловлен заменой единичных нуклеотидов в молекуле ДНК гена, что соответственно приводит к замене аминокислот в белковой молекуле. Все аллоантигены HPA локализуются на гликопротеидных комплексах на мембране тромбоцита: антигены HPA-1 на GPIIb, HPA-2 – на GPIb, HPA-3 – на GPIIb, HPA-4 – на GPIIb, HPA-5 – на GPIa, HPA-7bw – на GPTTа, HPA-8bw – на GPIIa [2, 3]. В литературе есть единичные работы, посвященные особенностям системы гемостаза при различной АВО-групповой принадлежности крови. Известно, что лица с O (I) группой крови склонны к гипокоагуляции, у них уровень фактора Виллебранда ниже, чем при других группах крови. Лица с A (II) группой крови склонны к гиперкоагуляции, у них выше активность факторов VIII, V, IX свертывания крови, часто наблюдаются тромбозы [4, 5]. Представляют интерес особенности антигенной структуры тромбоцитов, сопряженность с другими антигенными системами, в частности, с системой АВО, связь с функциональными способностями. Выяснение АВО-группоспецифических особенностей систе-

мы гемостаза поможет сформировать группы риска лиц с повышенной кровоточивостью или угрожаемых по развитию тромбоза.

Цель исследования – выяснение антигенных и морфо-функциональных особенностей тромбоцитов при разной АВО-групповой принадлежности крови в норме и при врожденных нарушениях системы гемостаза.

Материал и методы

Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России и ГБУЗ «Оренбургская областная станция переливания крови». Под наблюдением находились 5673 донора, среди которых было 2954 мужчин и 2719 женщин. Проанализированы материалы 187 историй болезни 92 больных гемофилией в возрасте от 18 до 38 лет, госпитализированных по поводу кровотечений различной локализации в ряде случаев повторно в Самарском НИИ гематологии, трансфузиологии и интенсивной терапии. Контрольную группу составили 74 практически здоровых мужчин.

Генотипирование системы антигенов тромбоцитов проведено у 114 доноров молекулярно-генетическим методом ПЦР, включающим SSO-генотипирование, блот-гибридизацию на приборе BeeBlot 48 (Invitrogen). Выделение ДНК осуществлялось на магнитных частицах с использованием магнита MPC-T4 (Invitrogen), выполняли магнитную сепарацию ДНК, ПЦР-амплификацию, детекцию ДНК с помощью спектрофотометра WPA Biochrom (Invitrogen), анализ результатов проведен с помощью компьютерной программы Reli SSO PMP.

Исследования клеток крови выполняли на автоматическом гематологическом анализаторе «Sysmex KX-21»

(«Roche»), на коагулометре «STA-Compact» («Roche»). Оценку агрегационной способности тромбоцитов проводили методом визуальной детекции времени начала агрегации с различными индукторами (АДФ, коллаген, универсальный индуктор агрегации -УИА).

Статистический анализ результатов исследований выполнен с помощью пакета компьютерных программ SPSS 12, STATISTICA 8.

Результаты и их обсуждение

Распределение доноров по системам ABO и резус показало, что доминирует группа крови A(II) с наличием резус-фактора, что встречалось у 35,5% мужчин и у 33,4% женщин. Далее следуют O(I) Rh(+) группа крови – у 28,5% мужчин и 30,5% женщин, B(III) – у 18,3% мужчин и 19,2% женщин, AB(IV) – у 7,1% мужчин и 8,2% женщин. Доля резус-отрицательных доноров составила 18,2%.

У доноров обнаружены следующие тромбоцитспецифические антигены с частотой встречаемости в порядке убывания: HPA-6-6a – 98%, HPA-15-15a – 94%, HPA-5-5a – 89%, HPA-2-2a – 89%, HPA-1-1a – 74%, HPA-3-3a – 65%, HPA-3-3b – 25%, HPA-1-1a/b – 21%, HPA-3-3a/b – 11%, HPA-2-2a/b – 11%, HPA-1-1b – 4,4%, HPA-5-5b – 3,5%, HPA-5-5a/b – 7%, HPA-6-6b – 0,9%, HPA-6-6a/b – 0,9%.

У здоровых лиц с O(I) – AB(IV) группами крови распределение аллельных вариантов антигенов тромбоцитов было различным (таблица 1).

ТАБЛИЦА 1.

Распределение аллельных вариантов антигенов тромбоцитов у доноров с различной ABO-групповой принадлежностью крови

П/п	Вариант HPA	O(I)		A(II)		B(III)		AB(IV)	
		n	%	n	%	n	%	n	%
HPA-1	1a	24	72,7	29	80,6	22	84,6	10	52,6
HPA-1	1b	0	0	3	8,3	0	0	2	10,5
HPA-1	1a/b	9	27,3	4	11,1	4	15,4	7	36,8
Всего HPA-1		33	100	36	100	26	100	19	100
HPA-2	2a	29	87,9	35	97,2	21	80,8	17	89,5
HPA-2	2b	0	0	0	0	0	0	0	0
HPA-2	2a/b	4	12,1	1	2,8	5	19,2	2	10,5
Всего HPA-2		33	100	36	100	26	100	19	100
HPA-3	3a	21	63,6	23	63,9	19	73,1	11	57,9
HPA-3	3b	11	33,4	9	25	4	15,4	4	21,1
HPA-3	3a/b	1	3	4	11,1	3	11,5	4	21,1
Всего HPA-3		33	100	36	100	26	100	19	100
HPA-4	4a	33	100	36	100	26	100	19	100
HPA-4	4b	0	0	0	0	0	0	0	0
HPA-4	4a/b	0	0	0	0	0	0	0	0
Всего HPA-4		33	100	36	100	26	100	19	100
HPA-5	5a	30	90,9	34	94,4	23	88,5	15	78,9
HPA-5	5b	3	9,1	1	2,8	0	0	0	0
HPA-5	5a/b	0	0	1	2,8	3	11,5	4	21,1
Всего HPA-5		33	100	36	100	26	100	19	100
HPA-6	6a	32	97	35	97,2	26	100	19	100
HPA-6	6b	0	0	1	2,8	0	0	0	0
HPA-6	6a/b	1	3	0	0	0	0	0	0
Всего HPA-6		33	100	36	100	26	100	19	100
HPA-15	15a	32	97	32	88,9	25	96,2	18	94,7
HPA-15	15b	1	3	4	11,1	1	3,8	1	5,3
HPA-15	15a/b	0	0	0	0	0	0	0	0
Всего HPA-15		33	100	36	100	26	100	19	100

Примечание: % - доля определенного варианта соответствующего антигена HPA.

Из 21 изученного варианта аллелей антигенов тромбоцитов у доноров с O(I) группой крови определено 14, с A(II) – 16, с B(III) – 13, с AB(IV) – 14. Особенностью лиц с O(I) группой крови по сравнению с другими группами крови является отсутствие HPA-5-5a/b и наличие HPA-6-6a/b. Полученные данные могут свидетельствовать об ассоциированности антигенных структур тромбоцитов с антигенами системы ABO.

С ABO-групповой принадлежностью крови связаны и морфо-функциональные особенности тромбоцитов. У здоровых лиц статистически значимых различий между группами крови в количестве тромбоцитов, их объеме, агрегационной способности не отмечено (таблица 2), сравнение значений медианы показателя позволяет говорить об определенных тенденциях.

ТАБЛИЦА 2.

Характеристики тромбоцитов у клинически здоровых мужчин при различной ABO-групповой принадлежности крови

Показатель	O (I) M±m, медиана	A (II) M±m, медиана	B (III) M±m, медиана	AB (IV) M±m, медиана
Количество тромбоцитов (x10 ⁹ /л)	233±13 241	251±28 228	237±20 247	276±19 262
Средний объем тромбоцитов (фл)	10,7±0,2 10,8	10,4±0,33 10,7	10,9±0,46 11,4	9,97±0,09 10
АДФ-агрегация тромбоцитов (сек.)	12,7±0,99 12,1	13,5±1,22 13,8	11,8±1,0 11,9	14,8±0,14 14,9
Коллаген-агрегация тромбоцитов (сек.)	15,2±1,0 15,1	16,9±1,42 16,9	14,9±1,0 14,5	16,6±1,3 16,9
УИА-агрегация тромбоцитов (сек.)	15,2±0,99 15	16,5±1,22 16,5	14,3±0,99 14,2	16,8±1,4 16,4

ТАБЛИЦА 3.

Характеристики тромбоцитов у больных с тяжелой гемофилией при различной ABO-групповой принадлежности крови

Показатель	O (I) n=73	A (II) n=58	B (III) n=47	AB (IV) n=9	Достоверные различия
Количество тромбоцитов (x10 ⁹ /л)	336±19	293±19	263±14	400±23	p I – II = 0,02 p II – III = 0,001 p II – IV = 0,007 p III – IV = 0,001
Средний объем тромбоцитов (фл)	9,76±0,14	9,41±0,12	9,99±0,15	8,5±0,09	p I – II = 0,03 p II – III = 0,005 p III – IV = 0,01
АДФ-агрегация тромбоцитов (сек.)	18,27±5,88	18±2,65	21,4±2,94	17,5±0,1	p II – III = 0,005 p III – IV = 0,002
Коллагенагрегация тромбоцитов (сек.)	16,85±1,57	17,33±3,33	21,5±2,33	16,22±1,37	p I – III = 0,01
УИА-агрегация тромбоцитов (сек.)	17,45±2,91	17,3±1,41	22,9±2,89	16±2,5	p III – IV = 0,004

Примечание: p - достоверность разницы показателя между группами крови.

У обследованных с B(III) группой крови средний объем тромбоцитов был наибольшим, при этом время агрегации со всеми стимуляторами было наименьшим, что могло свидетельствовать об их хорошей агрегационной способности. При AB(IV) группе крови количество тромбоцитов было наибольшим при минимальном среднем объеме. По данным О.А. Гусяковой с соавторами (2009) [6], у здоровых обследованных с O (I) группой крови отмечена гипокоагуляционная направленность гемостаза, показатель АПТВ был максимальным, хотя оставался в пределах нормы, при этом отмечен самый высокий уровень фибриногена; при A (II) группе крови показатель АПТВ был минимальным, отмечены низкие значения естественного антикоагулянта – антитромбина III,

отражая склонность носителей данной группы крови к гиперкоагуляции. Следовательно, некоторые сдвиги в тромбоцитарном звене в норме компенсированы за счет соответствующих реакций других про- и антикоагулянтных систем [7].

Практически важным является оценка адекватности изменений в системе гемостаза при кровотечении, когда, как известно, количество тромбоцитов возрастает, их объем уменьшается [8]. У больных с тяжелой гемофилией при различной АВО-групповой принадлежности крови реакция тромбоцитарного звена на кровопотерю имела существенные отличия (таблица 3).

У больных гемофилией с АВ (IV) группой крови, как и у здоровых мужчин, обнаружено наибольшее число тромбоцитов при небольшом объеме с сохранной агрегационной способностью, в наших исследованиях анемия у данных больных не диагностирована. У больных с А (II) группой крови число и размер тромбоцитов были небольшие, у них чаще наблюдалась анемия, трудно поддающаяся лечению, одной из причин могла быть неполноценность тромбоцитарного звена гемостаза.

У пациентов с В (III) группой крови часто отмечали нарушение агрегационной способности тромбоцитов как при легкой, так и при тяжелой форме гемофилии. Изучение времени стимулированной агрегации тромбоцитов у одного и того же больного гемофилией при разных госпитализациях по поводу кровотечений показало, что нарушение агрегационной способности тромбоцитов имело преходящий характер, следовательно, нарушение функций тромбоцитов определяется не только генетически детерминированными факторами.

Таким образом, сравнительный анализ антигенных и морфо-функциональных свойств тромбоцитов у лиц с разной АВО-групповой принадлежностью крови выявил особенности, с которыми, возможно, связан неодинаковый гемостатический потенциал. Если у здоровых лиц система гемостаза располагает механизмами компенсации, то у больных гемофилией с врожденным дефицитом факторов свертывания крови такой возможности нет. Следовательно, при возникновении кровотечения больные гемофилией с А(II) группой крови, у которых не происходит нарастания

количества тромбоцитов, нарушается их агрегационная способность, требуется более интенсивная гемостатическая терапия.

Выводы

1. Здоровые лица с O(I)–AB(IV) группами крови имеют отличия в спектре тромбоцитспецифических антигенов. Особенностью лиц с O(I) группой крови является отсутствие НРА-5–5a/в и наличие НРА-6–6a/в.

2. У больных гемофилией при кровотечении реакция тромбоцитарного звена ассоциирована с АВО-групповой принадлежностью крови:

- при А(II) группе крови количество тромбоцитов и их размеры небольшие;
- при В (III) группе крови наблюдается нарушение агрегационной способности тромбоцитов, увеличено время АДФ-, коллаген-, УИА-агрегации;
- при АВ(IV) группе крови обнаружено большое количество мелких тромбоцитов с сохранённой функцией.



ЛИТЕРАТУРА

1. Гильмиярова Ф.Н., Радомская В.М., Гергель Н.И. и др. Группы крови: биологическая вариабельность клеточного состава и метаболизма в норме и патологии. М: «Известия», 2007. 490 с.
2. Savage B., Sixma J.J., Ruggeri Z.M. Functional self-association of von Willebrand factor during platelet adhesion under. Flow. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002. Vol. 99. P. 425-430.
3. Kasiret-Friede A., Cozzi M.R. Signaling through GP Ib-IX-V activates alphaIIb-beta 3 independently of other receptors. Blood. 2004. Vol. 103. P. 3403-3411.
4. Донсков С.И., Мороков В.А. Группы крови человека. М.: ИП Скороходов В.А., 2011. 1016 с.
5. Boven D.J. An influence of ABO blood group on the rate of proteolysis of von Willebrand factor by ADAMTS 13. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2003. № 1. P. 33-40.
6. Гусякова О.А., Зубова И.А., Гильмиярова Ф.Н. Биологическая вариабельность основных гемостазиологических показателей, ассоциированная с групповой АВО-принадлежностью крови. В монографии: И.Л. Давыдкин, В.А. Кондурцев, Т.Ю. Степанова С.А. Бобылев. «Основы клинической гемостазиологии». Самара: «Офорт», 2009. С. 96-124.
7. Давыдкин И.Л., Косякова Ю.А., Гусякова О.А. и др. Особенности системы гемостаза при гемофилии. Казанский медицинский журнал. 2010. № 4. С. 438-441.
8. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. С.-Пб.: Форма Т, 2006. 208 с.