



современная медицина

БЕЗОПАСНОЕ ПЕРЕЛИВАНИЕ КРОВИ

Ю. Л. Шевченко
Е. Б. Жибурт



 ПИТЕР

Ю. Л. Шевченко
Е. Б. Жибурт

БЕЗОПАСНОЕ ПЕРЕЛИВАНИЕ КРОВИ

РУКОВОДСТВО ДЛЯ ВРАЧЕЙ

 **ПИТЕР®**
Санкт-Петербург
Москва • Харьков • Минск
2000

Ю. Л. Шевченко, Е. Б. Жибурт
БЕЗОПАСНОЕ ПЕРЕЛИВАНИЕ КРОВИ
Руководство для врачей

Серия «Современная медицина»

Главный редактор
Заведующий редакцией
Редактор
Художественный редактор
Корректор
Дизайн и верстка

*В. В. Усманов
П. В. Алесов
Т. П. Ульянова
В. Б. Шимкевич
А. М. Михайлова
М. И. Прохорцов*

ББК 53.535я7

УДК 615.38(075)

Шевченко Ю. Л., Жибурт Е. Б.

Ш37 Безопасное переливание крови: руководство для врачей. — СПб: Издательство «Питер», 2000. — 320 с. — (Серия «Современная медицина»).

ISBN 5-8046-0148-2

Переливание крови, ее компонентов и препаратов в хирургической клинике является неотъемлемой частью профилактики и коррекции анемического, геморрагического и иммунодефицитного синдромов. Совершенствование специализированного лечения в трансплантологии, онкологии, гематологии, кардиохирургии, травматологии, ортопедии и других областях медицины предусматривает увеличение потребности в компонентах и препаратах крови. Особенно резко возрастает необходимость одномоментного использования большого количества гемотрансфузионных средств в рамках медицины катастроф. Указанные вопросы подробно освещены в настоящем руководстве.

Для врачей хирургического профиля, гематологов, трансфузиологов и студентов старших курсов медицинских вузов.

© Шевченко Ю. Л., Жибурт Е. Б., 2000

© Серия, оформление, Издательство «Питер», 2000

ISBN 5-8046-0148-2

Все права защищены. Никакая часть данной книги не может быть воспроизведена в какой бы то ни было форме без письменного разрешения владельцев авторских прав.

Издательство «Питер», 196103, Санкт-Петербург, ул. Благодатная, 67.

Лицензия ЛР № 066333 от 23.02.99.

Подписано в печать 28.02.00. Формат 70×100¹/₁₆. Усл. п. л. 25,8. Тираж 3000 экз. Заказ № 348.

Отпечатано с готовых диапозитивов в ГПП «Печатный Двор» Министерства РФ по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций. 197110, Санкт-Петербург, Чкаловский пр., 15.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений	9
Введение	11
Глава 1. Иммунологическая безопасность гемокомпонентной терапии	13
Общие положения	13
1.1. Иммунологические исследования при переливании крови	14
1.1.1. Группы крови	14
1.1.2. Система группы крови АВ0	16
1.1.2.1. Общие положения	16
1.1.2.2. Определение групповой принадлежности крови по системе АВ0	17
1.1.3. Система группы крови резус	29
1.1.3.1. Общие положения	29
1.1.3.2. Методы определения резус-принадлежности крови	30
1.1.4. Менее иммуногенные антигены эритроцитов	35
1.1.4.1. Фенотипирование эритроцитов по антигенам К и с	35
1.1.4.2. Фенотипирование эритроцитов по антигенам системы Lewis	37
1.1.5. Проведение пробы на индивидуальную совместимость крови доно- ра и реципиента	41
1.1.5.1. Общие положения	41
1.1.5.2. Методы проб на индивидуальную совместимость крови донора и реципиента	41
1.1.6. Исследование аллоантител к антигенам эритроцитов	45
1.1.6.1. Общие положения	45
1.1.6.2. Методы исследования антител к антигенам эритроцитов	45
1.1.6.3. Рациональный подход к определению аллоантиэритроцитарных антител у доноров и реципиентов гемокомпонентов	48
1.1.7. Нормирование труда при проведении иммуногематологических ис- следований	53
1.2. Метод агглютинации в геле для определения антигенов эритроцитов и антиэритроцитарных антител	62
1.2.1. Введение	62
1.2.2. Принцип гелевого теста	63
1.2.2.1. Характеристика идентификационных карт	64
1.2.2.2. Оборудование и реактивы	64
1.2.2.3. Общие правила использования идентификационных карт	65
1.2.3. Типирование антигенов эритроцитов	65
1.2.3.1. Алгоритм проведения исследований	65
1.2.3.2. Используемые идентификационные карты	67
1.2.4. Выявление антиэритроцитарных антител	70
1.2.4.1. Принцип метода	70
1.2.4.2. Алгоритм проведения исследований	70

1.2.4.3. Скрининг и идентификация антител	71
1.2.4.4. Методы исследования антител к антигенам эритроцитов	71
1.2.5. Определение совместимости крови донора и реципиента	74
1.2.6. Заключение к разделу 1.2.	76
1.3. Обеспечение гистосовместимости донора и реципиента	77
1.4. Антигены лейкоцитов, тромбоцитов и белков сыворотки крови	78
1.4.1. HLA-антигены	78
1.4.1.1. Номенклатура HLA-антигенов	79
1.4.1.2. Серологическое определение HLA-антигенов	79
1.4.1.3. HLA-генотипирование	79
1.4.1.4. Анти-HLA-антитела	80
1.4.2. Антигены гранулоцитов	80
1.4.3. Методы иммунологического подбора совместимого донора в трансфузиологии	81
1.4.4. Определение лейкоцитарных антигенов	82
1.4.4.1. Выделение лимфоцитов в градиенте плотности	82
1.4.4.2. Получение, обработка, стандартизация и хранение комплемента	83
1.4.4.3. Техника постановки микролимфоцитотоксической реакции	83
1.4.4.4. Реакция смешанной культуры лимфоцитов (микровариант)	84
1.4.5. Определение антилейкоцитарных антител	86
1.4.5.1. Перекрестная проба в микролимфоцитотоксическом тесте	86
1.4.5.2. Перекрестная проба в тесте лейкоцитоагглютинации	86
1.4.6. Антигены тромбоцитов	86
1.4.6.1. Исследование антигенов тромбоцитов в реакции связывания комплемента с тромбоцитами (микровариант)	87
1.4.7. Определение антитромбоцитарных антител	89
1.4.7.1. Перекрестная проба в тесте тромбоцитоагглютинации	89
1.4.8. Определение антигенов белков сыворотки крови	90
1.4.8.1. Определение аллотипов иммуноглобулинов	90
1.4.8.2. Техника постановки реакции подавления гемагглютинации	90
1.5. Аллосенсибилизация при гемотрансфузиях и ее клинические последствия	91
1.5.1. Характер развития аллоиммунизации при гемотрансфузионной терапии	92
1.5.2. HLA-фенотип и уровень аллосенсибилизации при гемотрансфузиях	93
1.5.3. Клиническое значение аллосенсибилизации и методы ее профилактики	94
1.6. Посттрансфузионная иммуносупрессия и ее профилактика	95
1.6.1. Трансфузии и послеоперационные инфекции	96
1.6.2. Трансфузии и онкогенез	96
1.6.3. Механизмы посттрансфузионной иммуносупрессии	97
1.7. Болезнь «трансплантат против хозяина» и переливание крови	99
1.8. Иммунологическое обеспечение гемокомпонентной терапии после трансплантации костного мозга	101
1.9. Организация подбора гистосовместимых компонентов крови в многопрофильном лечебном учреждении	103
1.10. Молекулярно-генетические методы в трансфузионной медицине	107
1.10.1. Полимеразная цепная реакция	108

1.10.1.1. Генотипирование лимфоцитов (исследование генов системы HLA)	111
1.10.1.2. Генотипирование эритроцитов	113
1.10.1.3. Генотипирование тромбоцитов	113
1.10.1.4. Генотипирование гранулоцитов	114
1.10.2. Производство рекомбинантных продуктов крови	114
1.10.3. Ингибция генного синтеза с применением антисмысловых олигонуклеотидов	115
1.10.4. Генная терапия в трансфузионной медицине	116
Глава 2. Гемотрансмиссивные инфекции и их профилактика	117
Общие положения	117
2.1. Посттрансфузионные гепатиты	118
2.1.1. Этиологическая структура посттрансфузионных гепатитов	119
2.1.2. Закономерности эпидемиологии посттрансфузионных вирусных гепатитов	122
2.1.3. Организация донорства в профилактике посттрансфузионных гепатитов	124
2.1.4. Обследование доноров в профилактике посттрансфузионных гепатитов	125
2.1.4.1. Отбор проб крови для лабораторных исследований, маркировка, доставка	125
2.1.4.2. Лабораторное исследование маркеров вирусных гепатитов	126
2.1.5. Профилактика посттрансфузионных гепатитов при заготовке и хранении гемотрансфузионных средств	142
2.1.5.1. Подготовка персонала	142
2.1.5.2. Подготовка помещения	143
2.1.5.3. Правила техники инфекционной безопасности	144
2.1.5.4. Организация карантина плазмы	153
2.1.5.5. Элиминация и инаktivация вирусов	154
2.1.6. Контроль за состоянием здоровья персонала учреждений службы крови, доноров и реципиентов	155
2.2. Другие гемотрансмиссивные инфекции	159
2.2.1. Совершенствование профилактики гемотрансмиссивного сифилиса	159
2.2.2. ВИЧ-инфекция	163
2.2.3. Цитомегаловирусная инфекция	166
2.2.3.1. Механизмы активации цитомегаловирусной инфекции	174
2.2.4. Маркеры инфекции вирусом Эпштейна—Барр у пациентов с хирургическими инфекциями	175
2.2.5. Другие гемотрансмиссивные инфекции	179
2.2.5.1. Вирус гепатита G	181
2.2.5.2. Прионы — новый класс гемотрансмиссивных инфекций	182
2.2.5.3. Вирус ТТ	186
2.3. Полимеразная цепная реакция в диагностике гемотрансмиссивных инфекций	189
2.4. Распространенность маркеров гемотрансмиссивных инфекций у доноров	192
2.5. Заключение к главе 2	196
Глава 3. Оптимизация клинического применения гемокомпонентов	201
3.1. Гемокомпонентная терапия в профилактике и коррекции вторичного иммунодефицита	201

3.1.1. Афферентная гемокомпонентная терапия в профилактике и коррекции иммунодефицитного синдрома	201
3.1.2. Оценка эффективности трансфузий цельной крови у кардиохирургических пациентов	203
3.1.3. Эритроцитоконцентрат как трансфузионная среда с уменьшенным содержанием иммунокомпетентных клеток	209
3.1.4. Клинико-лабораторная оценка эффективности трансфузий гемокомпонентов у кардиохирургических пациентов	211
3.1.5. Иммунная плазма: получение и применение	215
3.2. Влияние гемотрансфузионной терапии на иммунный статус онкологических больных	217
3.2.1. Влияние гемотрансфузионной терапии на иммунный статус больных с неходжкинскими лимфомами	217
3.2.2. Влияние гемотрансфузионной терапии на иммунный статус некоторых групп хирургических больных	228
3.2.2.1. Влияние гемотрансфузионной терапии на иммунный статус больных со злокачественными новообразованиями желудочно-кишечного тракта	228
3.2.2.2. Влияние гемотрансфузий на иммунный статус кардиохирургических пациентов	229
3.2.2.3. Влияние гемотрансфузий на иммунный статус больных светлоклеточным раком почки	234
3.3. Эфферентная гемокомпонентная терапия в профилактике и коррекции иммунодефицитного синдрома	239
3.3.1. Эфферентная терапия в лечении пациентов с инфекционным эндокардитом	240
3.3.2. Новые возможности оценки эффективности экстракорпоральных методов гемокоррекции в лечении больных с острыми гнойно-деструктивными заболеваниями легких и плевры	242
3.4. Квантовая гемотерапия в профилактике и коррекции иммунодефицитного синдрома	245
3.4.1. Ультрафиолетовая фотомодификация функционального состояния лейкоцитов	249
3.4.2. Фотомодификация крови с использованием гелий-неонового лазера	252
3.4.3. Использование методов экстракорпоральной гемокоррекции в лечении пациентов с облитерирующим атеросклерозом после реконструктивных операций на бедренно-подколенном сегменте	254
Глава 4. Альтернативы переливанию крови	254
4.1. Эритропоэтин	257
4.2. Колонистимулирующий фактор гранулоцитов в хирургической практике	262
4.3. Эмульсии перфторуглеродов — кровезаменители с газотранспортной функцией	265
4.4. Плазмозаменители на основе гидроксипропилированного крахмала в клинической практике	268
4.5. Лейкоцитарные фильтры	272
Заключение	277
Список литературы	279

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АДА — аденозиндезаминаза
АИК — аппарат искусственного кровообращения
АКШ — аорто-коронарное шунтирование
АЛТ — аланинаминотрансфераза
АСТ — аспартатаминотрансфераза
АУФОК — аутоотрансфузия УФ-облученной крови
БТ — бледная трепонема
БТПХ — болезнь «трансплантат против хозяина»
ВГА — вирус гепатита А
ВГВ — вирус гепатита В
ВГС — вирус гепатита С
ВГD — вирус гепатита D
ВГЕ — вирус гепатита Е
ВИЧ — вирус иммунодефицита человека
ВЛОК — внутривенное лазерное облучение крови
ВЭБ — вирус Эпштейна—Барр
ГКГ — главный комплекс гистосовместимости
ГТТ — гемотрансфузионная терапия
ДВС — диссеминированное внутрисосудистое свертывание
ДГФР — дегидрофолатредуктаза
ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота
Ед. изм. — единица измерения
ЕК — естественный киллер
ИБС — ишемическая болезнь сердца
ИЛ — интерлейкин
ИФ — интерферон
ИФА — иммуноферментный анализ
ИЭ — инфекционный эндокардит
К — критерий; минимальная оптическая плотность положительной пробы
КТ — концентрат тромбоцитов
ЛДГ — лактатдегидрогеназа
ЛИИ — лейкоцитарный индекс интоксикации
МДА — малоновый диальдегид
НЛ — неходжкинская лимфома
ОГДЗЛ — острые гнойно-деструктивные заболевания легких
ОКХ — овариоциты китайского хомяка
ОП — оптическая плотность
ОЦК — объем циркулирующей крови
ОЦП — объем циркулирующей плазмы

- ПВТ — посттрансфузионный выход тромбоцитов
- ПГЕ₂ — простагландин Е₂
- ПДН — продукты деградации нуклеопротеидов
- ПДРФ — полиморфизм длин рестрикционных фрагментов
- ПОЛ — перекисное окисление липидов
- ПОН — полиорганная недостаточность
- ПТБТПХ — посттрансфузионная болезнь «трансплантат против хозяина»
- ПХТ — полихимиотерапия
- ПЦР — полимеразная цепная реакция
- ПЦР-ССО — ПЦР с последующей гибридизацией продукта с сайт-специфическими олигонуклеотидными зондами
- ПЦР-ССП — ПЦР с сайт-специфическими праймерами
- РАРС — ретровирус, ассоциированный с рассеянным склерозом
- РИБТ — реакция иммобилизации бледных трепонем
- РИФ — реакция иммунофлюоресценции
- РНК — рибонуклеиновая кислота
- РОЭ — размороженные отмытые эритроциты
- РТ-ПЦР — РТ — от *reverse transcription*; сочетание ревертазной и ДНК-полимеразной цепной реакции
- СЗП — свежзамороженная плазма
- СОД — супероксиддисмутаза
- СПИД — синдром приобретенного иммунодефицита
- СПТ — скорректированный прирост тромбоцитов
- ТКМ — трансплантация костного мозга
- УФ — ультрафиолетовый
- УФО — ультрафиолетовое облучение
- УФОК — ультрафиолетовое облучение крови
- УФОЭМ — ультрафиолетовое облучение реинфузируемой эритроцитной массы
- ФНО — фактор некроза опухоли
- ЦНС — центральная нервная система
- ЧПН — число признаков напряженности, неполноценности адаптационной реакции
- ЭКК — экстракорпоральное кровообращение
- ЭЛФК — энтропия лейкоцитарной формулы крови
- ЭМ — эритроцитная масса
- ЭМОЛТ — эритроцитная масса, обедненная лейкоцитами и тромбоцитами
- HBsAg — сердцевинный антиген вируса гепатита В
- HBeAg — антиген инфекционности вируса гепатита В
- HBsAg — поверхностный антиген вируса гепатита В
- HTLV — Т-лимфотропный вирус человека

ВВЕДЕНИЕ

Открыв в начале XX в. систему группы крови АВ0, Карл Ландштейнер с сотрудниками заложили основу развития современной науки о переливании крови. Трансфузионная медицина сегодня — уникальная дисциплина, базирующаяся на научном знании и высоких технологиях и охватывающая широчайший спектр проблем: **социальных** — при организации донорства; **технологических** — при производстве, хранении и транспортировке компонентов и препаратов крови; **клинических** — при проведении трансфузионной терапии и гемокоррекции; **фундаментальных** проблем молекулярной и клеточной биологии — при обеспечении биологической полноценности, безопасности и эффективности гемокомпонентов; **этических** — переливание крови фактически является трансплантацией аллогенной ткани; **военно-медицинских** — при организации деятельности службы крови в полевых условиях и чрезвычайных ситуациях.

Трансфузионная медицина традиционно является одним из приоритетных направлений работы Военно-медицинской академии: в ее стенах проведены первое в стране переливание крови с учетом групповой совместимости и первый плазмаферез. Значительный вклад в различные разделы трансфузиологии внесли профессора академии: Н. И. Пирогов, С. П. Федоров, В. Н. Шамов, И. Р. Петров, П. А. Куприянов, А. П. Колесов, И. С. Колесников, С. В. Рыжков, Г. А. Сафронов и многие другие.

В настоящее время принято считать, что единственным действием гемотерапевтических средств является заместительное — «протезирование» дефицита структурно-функционального компонента крови пациента (эритроцитов, тромбоцитов, белков плазмы). Из этой парадигмы современной трансфузионной медицины вытекают несколько важных следствий:

- отсутствуют показания для переливания цельной крови;
- переливание гемокомпонентов с целью детоксикации, парентерального питания, стимуляции защитных сил организма и т. д. недопустимо;
- основными требованиями к компонентам и препаратам крови являются безопасность, биологическая полноценность и клиническая эффективность;
- необходимо стремиться к использованию гемокомпонентов, максимально очищенных от «балластных» клеточных и гуморальных примесей, не направленных на реализацию замещения дефицита функции крови;
- учитывая потенциальную опасность аллогенных гемокомпонентов, необходимо строго ограничить показания к их применению, максимально использовать методы, альтернативные аллогенным гемотрансфузиям.

Все диагностические и лечебные процедуры содержат в себе элемент риска. На современном этапе развития трансфузионной медицины перед врачом, переливающим компоненты и препараты крови, стоит вопрос о соотношении лечебной эффективности гемотрансфузионного средства и потенциальной опасности его при-

менения. В проблеме безопасности трансфузии аллогенных гемокомпонентов (фактически — пересадки аллогенной ткани) целесообразно выделить два ключевых аспекта: иммунологическую и инфекционную безопасность. Также важное значение имеют нарушение качества гемотрансфузионной среды при хранении, ошибки медицинского персонала, и другие факторы (табл. 1).

Таблица 1

**Неблагоприятные последствия гемотрансфузий
«технологического» геноза**

Вид	Частота *
Циркуляторная перегрузка	1:100—1:200 ¹
Сепсис	1:435—1:12 500 ²
Механический гемолиз	Редко ³
Термический гемолиз	Редко ³
Осмотический гемолиз	Редко ⁴
Дисбаланс электролитов (K^+ , Mg^{2+})	Редко ⁵
Цитратная интоксикация	Редко ⁵
Угнетение эритропоэза	Редко ⁵
Посттрансфузионный гемосидероз	Редко ⁶

Примечание:

* Здесь и далее приводится расчетная частота встречаемости осложнений при переливании одной дозы гемокомпонента по данным современной литературы и собственных исследований. Следует подчеркнуть значительную вариабельность этого показателя, зависящего от множества факторов (уровень знаний, эффективность профилактических и диагностических мер, контингент доноров и реципиентов и т. д.).

¹ Часто не регистрируется.

² Преимущественно связан с трансфузиями пулированных концентратов тромбоцитов, хранящихся при комнатной температуре.

³ Связан со случайными ошибками при хранении и транспортировке крови.

⁴ При ошибке в выборе ресуспендирующего раствора.

⁵ Преимущественно у реципиентов массивных трансфузий.

⁶ Преимущественно у трансфузиозависимых пациентов с гемоглобинопатиями.

В последующих главах авторы подробно рассмотрели основные проблемы безопасности переливания аллогенной крови. Название книги «Безопасное переливание крови» отражает не явление, а основной вектор развития трансфузионной медицины.

Внедрение в практику современных трансфузиологических технологий — неотъемлемая составляющая прогресса медицины в целом. Лучшее доказательство тому — тысячи жизней, спасти которые помогает переливание компонентов и препаратов крови.

Разделы 1.3, 1.10, 3.2 и 4.2 написаны совместно с Н. Б. Серебряной. Авторы выражают признательность О. В. Барановой, А. В. Голубевой и Э. М. Насретдиновой за помощь в работе над книгой.

Глава 1. ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ ГЕМОКОМПОНЕНТНОЙ ТЕРАПИИ

Общие положения

Виды и расчетная частота посттрансфузионных осложнений иммунного генеза представлены в табл. 1-1.

Таблица 1-1

Неблагоприятные последствия гемотрансфузий иммунного генеза

Вид	Частота *
Острый гемолиз: всего с летальным исходом	1:500 000—1:800 000 1:6000—1:33 000
Отсроченный гемолиз	1:4000
Аллоиммунизация антигенами эритроцитов	1:200
Фебрильная негемолитическая реакция	1:200 ¹
Аллоиммунизация антигенами лейкоцитов и тромбоцитов	1:100 ²
Аллергическая реакция	1:300 ³
Острое поражение легких	1:5000 ⁴
Анафилаксия	1:20 000—1:50 000 ⁵
Пурпура	Редко ⁶
Болезнь «трансплантат против хозяина»	Редко
Иммуносупрессия	?

Примечание:

¹ Индуцирована цитокинами, чаще встречается у реципиентов множественных трансфузий.

² Распространенность у реципиентов множественных трансфузий клеточных компонентов достигает 100 %.

³ Распространенность у реципиентов множественных трансфузий плазмы достигает 3 %.

⁴ В основном связано с антилейкоцитарными антителами в плазме донора, часто не регистрируется.

⁵ В основном связана с продукцией специфических антител у пациентов с дефицитом IgA.

1.1. Иммунологические исследования при переливании крови

1.1.1. Группы крови

Понятие группы крови охватывает все генетически наследуемые факторы, выявляемые в крови человека.

1. Клеточные факторы:

- а) эритроцитарные, выявляемые реакцией антиген—антитело, проявляющейся агглютинацией тест-эритроцитов;
- б) ферментные группы эритроцитов;
- в) антигены лейкоцитов и тромбоцитов.

2. Сывороточные группы крови.

В практической трансфузиологии под группами крови традиционно понимают различные сочетания антигенов эритроцитов (агглютиногенов). Антигены групп крови — генетические признаки, наследуемые от родителей и не изменяющиеся в течение жизни.

Прошло почти столетие с открытия первых групп крови. За это время были открыты сотни антигенов эритроцитов и предлагались самые разнообразные терминологии и классификации групп крови. Для преодоления разобщенности исследователей и практических врачей Международным обществом переливания крови (ISBT, International Society of Blood Transfusion) в 1980 г. было создано Рабочее совещание по терминологии антигенов поверхности эритроцитов (ISBT working party on terminology for red cell surface antigens). Задача совещания — на основе генетического картирования создать числовую (номерную) терминологию для антигенов эритроцитов.

Около 270 антигенов эритроцитов имеют четкую генетическую характеристику и относятся к одной из четырех классификаций:

1. Системы группы крови.
2. Коллекции группы крови.
3. Редко встречающиеся антигены (700-е серии).
4. Часто встречающиеся антигены (901-е серии).

Система группы крови состоит из одного или более антигенов, контролируемых одним генетическим локусом или двумя и более, очень тесно связанными гомологичными генами с небольшой или не выявляющейся рекомбинацией между ними. Для каждой системы показана четкая генетическая дискретность от другой системы группы крови. Известны 23 системы группы крови, содержащие 194 антигена (табл. 1-2). Нумерация систем в основном соответствует порядку их открытия: AB0 — в 1901 г. (Landsteiner), MNS — в 1927 г. (Landsteiner, Levine), RH — в 1940 г. (Wiener, Landsteiner, Levine) и т. д.

Коллекция группы крови содержит серологически, биохимически или генетически родственные антигены, характеристики которых не соответствуют критериям системы. Известно 5 коллекций, содержащих 11 антигенов.

К редко встречающимся антигенам (700-е серии) относят 37 антигенов, распространенность которых в популяции не превышает 1 %.

Часто встречающиеся антигены (901-е серии), распространенность которых в популяции более 90 %, насчитывают 14 антигенов.

**Системы группы крови, кодирующие их гены
и их хромосомная локализация**

№ системы	Наименование системы	Обозначение системы	Наименование генов	Хромосомная локализация
001	ABO	ABO	<i>ABO</i>	9q34.1—q34.2
002	MNS	MNS	<i>GYPA, GYPB, GYPE</i>	4q28—q31
003	P	P1	<i>P1</i>	22q11.2—qter
004	Rh	RH	<i>RHD, RHCE</i>	1p36.2—p34
005	Lutheran	LU	<i>LU</i>	19q12—q13
006	Kell	KEL	<i>KEL</i>	7q33
007	Lewis	LE	<i>FUT3</i>	19p33
008	Duffy	FY	<i>FY</i>	1q22—q23
009	Kidd	JK	<i>JK</i>	18q11—q12
010	Diego	DI	<i>AE1</i>	17q12—q21
011	Yt	YT	<i>ACHE</i>	7q22
012	Xg	XG	<i>XG</i>	Xp22.32
013	Scianna	SC	<i>SC</i>	1p36.2—p22.
014	Dombrock	DO	<i>DO</i>	неизвестна
015	Colton	CO	<i>AQP1</i>	7p14
016	Landsteiner—Wiener	LW	<i>LW</i>	19p13.2—cen
017	Chido/Rogers	CH/RG	<i>C4A, C4B</i>	6p21.3
018	Hh	H	<i>FUT1</i>	19q13
019	Kx	XK	<i>XK</i>	Xp21.1
020	Gerbich	GE	<i>GYPC</i>	2q14—q21
021	Cromer	CROM	<i>DAF</i>	1q32
022	Knops	KN	<i>CR1</i>	1q32
023	Indian	IN	<i>CD44</i>	11p13

Каждый антиген, принадлежащий к системе группы крови, обозначается шестизначным номером: первые три цифры соответствуют номеру системы (например, 004 для RH), вторые три цифры — специфичности антигена внутри системы (например, 004003 для антигена E системы RH). Также возможно написание RH003 или RH3.

Антигены коллекций группы крови обозначаются аналогичным образом. Обозначения антигенов серий 700 и 901 начинаются с этих цифр. Практически еже-

годно Рабочее совещание уточняет номенклатуру поверхностных антигенов эритроцитов.

Для практической трансфузиологии важное значение имеют наиболее иммуногенные антигены, в первую очередь систем АВ0, RH (резус), Kell (Келл) и другие, указанные в табл. 1-3. Антигены коллекций, редко и часто встречающиеся, менее иммуногенны и необходимость их специфической идентификации в повседневной практике лечебных учреждений отсутствует.

Таблица 1-3

Наиболее иммуногенные антигены эритроцитов

№ системы	Наименование системы	Номер антигена				
		001	002	003	004	005
001	ABO	A	B	AB	A1	...
002	MNS	M	N	S	s	U
004	RH	D	C	E	c	e
005	LU	Lu ^a	Lu ^b	Lu3	Lu4	Lu5
006	KEL	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Ku
007	LE	Le ^a	Le ^b	Le ^{ab}		
008	FY	Fy ^a	Fy ^b	Fy3	Fy4	Fy5
009	JK	Jk ^a	Jk ^b	Jk3		
010	DI	Di ^a	Di ^b	Wr ^a	Wr ^b	

Проводятся достаточно интенсивные исследования генетического полиморфизма антигенов групп крови, особенностям их тканевой экспрессии, биологических свойств и структурно-функциональных взаимосвязей. С учетом имеющейся информации антигены групп крови можно предварительно классифицировать на 5 категорий: 1) транспортеры и мембранные каналы; 2) рецепторы для экзогенных лигандов и микроорганизмов; 3) молекулы адгезии; 4) ферменты; 5) структурные белки. Подробнее см. прекрасный обзор J. P. Carton и соавт. (1998), а также разделы 1.1.4.2, 2.1.4.2, 2.4.

1.1.2. Система группы крови АВ0

1.1.2.1. Общие положения

Систему группы крови АВ0 составляют два групповых агглютиногена — А и В и два соответствующих агглютенина в плазме — альфа (анти-А) и бета (анти-В). Различные сочетания этих антигенов и антител образуют четыре группы крови: группа 0(I) — оба антигена отсутствуют; группа А(II) — на эритроцитах присутствует только антиген А; группа В(III) — на эритроцитах присутствует только антиген В; группа АВ(IV) — на эритроцитах присутствуют антигены А и В. Уникаль-

ность системы АВ0 состоит в том, что в плазме у неиммунных людей имеются естественные антитела к отсутствующему на эритроцитах антигену: у лиц группы 0(I) — антитела к А и В; у лиц группы А(II) — анти-В-антитела; у лиц группы В(III) — анти-А-антитела; у лиц группы АВ(IV) нет антител к антигенам системы АВ0.

В последующем тексте анти-А и анти-В-антитела будут обозначаться как анти-А и анти-В.

Определение группы крови АВ0 проводят путем идентификации специфических антигенов и антител (двойная или перекрестная реакция). Анти-А и анти-В выявляют в сыворотке крови с помощью стандартных эритроцитов А(II) и В(III). Наличие или отсутствие на эритроцитах антигенов А и В устанавливают при помощи моноклональных или поликлональных антител (стандартных гемагглютинирующих сывороток) соответствующей специфичности.

Определение группы крови проводят дважды: первичное исследование — в лечебном отделении (бригаде заготовки крови); подтверждающее исследование — в лабораторном отделении. Алгоритм проведения иммуногематологических лабораторных исследований при переливании крови представлен на рис. 1-1.

Результат определения группы крови записывается в правом верхнем углу лицевого листа истории болезни или в донорский журнал (карту) с указанием даты и за подписью врача, производившего определение.

На северо-западе России распределение групп крови системы АВ0 в популяции следующее: группа 0(I) — 35 %; группа А(II) — 35–40 %; группа В(III) — 15–20 %; группа АВ(IV) — 5–10 %.

Следует отметить, что существуют различные виды (слабые варианты) как антигена А (в большей степени), так и антигена В. Наиболее часто встречаются виды антигена А — А₁ и А₂. Распространенность антигена А₁ у лиц групп А(II) и АВ(IV) составляет 80 %, а антиген А₂ — около 20 %. Образцы крови с А₂ могут содержать анти-А₁-антитела [2 % в группе крови А₂(II) и 30 % — в группе А₂В(IV)], взаимодействующие со стандартными эритроцитами группы А(II). Наличие анти-А₁ выявляется при перекрестном определении групп крови и при проведении пробы на индивидуальную совместимость.

Для дифференцированного определения вариантов антигена А (А₁ и А₂) необходимо использовать специфические реагенты (фитогемагглютинины или моноклональные антитела анти-А₁). Пациентам групп А₂(II) и А₂В(IV) нужно переливать эритроцитсодержащие гемокомпоненты, соответственно, групп А₂(II) и А₂В(IV). Также могут быть рекомендованы трансфузии отмытых эритроцитов: 0(I) — пациентам с группой крови А₂(II); 0(I) и В(III) — пациентам с группой крови А₂В(II).

1.1.2.2. Определение групповой принадлежности крови по системе АВ0

Группы крови определяют по стандартным сывороткам (простая реакция) и стандартным эритроцитам (двойная или перекрестная реакция).

Группу крови простой реакцией определяют обязательно двумя сериями стандартных изогемагглютинирующих сывороток.

Ход определения:

Определение группы крови производят при хорошем освещении и температуре от 15 до 25 °С на планшетах. На левой стороне планшета надписывают 0(I), в се-

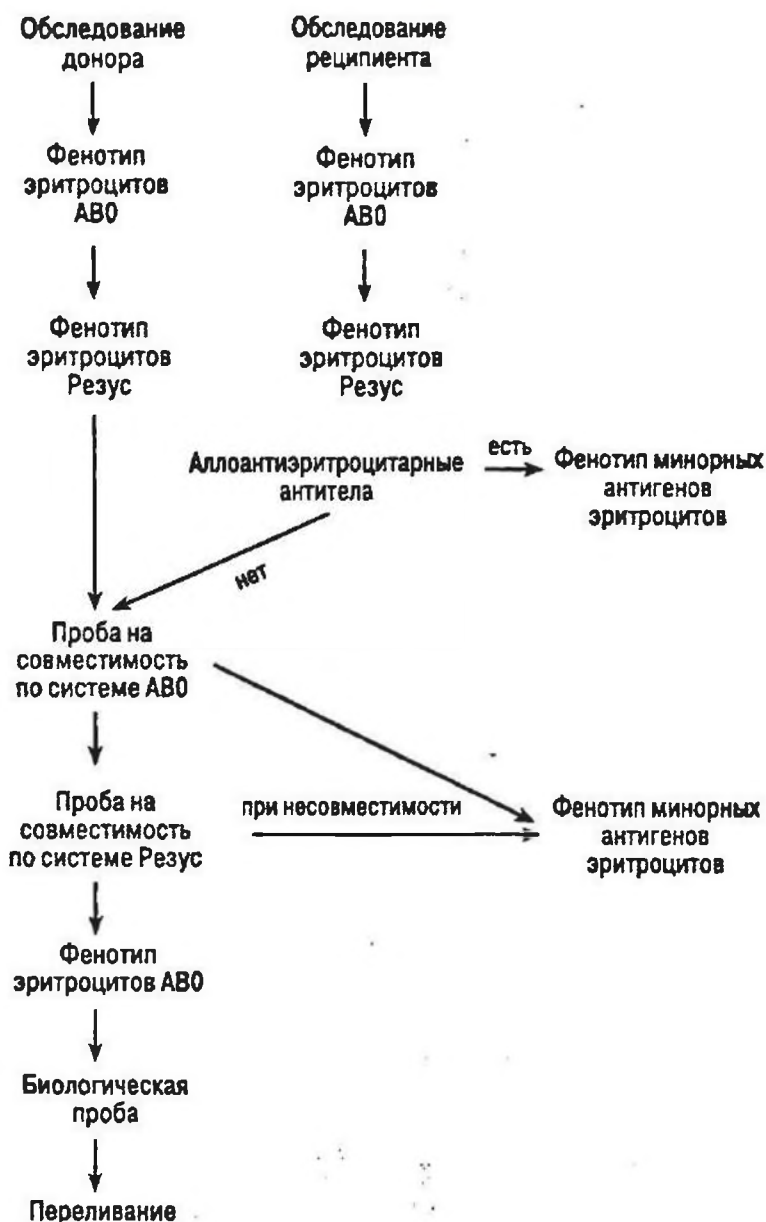


Рис. 1-1. Алгоритм проведения иммуногематологических лабораторных исследований при переливании крови.

редине — А(II), на правой стороне — В(III). В середине верхнего края планшета отмечают фамилию донора или номер исследуемой крови. Используют активные стандартные сыворотки трех групп (0, А, В) с титром не ниже 1:32, двух серий. Сыворотки располагают в специальных штативах в два ряда. Каждой сыворотке соответствует маркированная пипетка. Для дополнительного контроля используют сыворотку группы АВ(IV).

На планшет наносят по одной-две капли стандартных сывороток в два ряда: сыворотку группы 0(I) — слева, сыворотку группы А(II) — в середину, сыворотку группы В(III) — справа.

Капли крови из пальца или пробирки наносят пипеткой или стеклянной палочкой около каждой капли сыворотки и смешивают палочкой. Количество крови

должно быть в 8—10 раз меньше, чем сыворотки. После смешивания тарелку или планшет осторожно покачивают в руках, что способствует более быстрой и четкой агглютинации эритроцитов. По мере наступления агглютинации, но не ранее чем через 3 мин, к каплям сыворотки с эритроцитами, где наступила агглютинация, добавляют по одной капле 0,9 % раствора натрия хлорида и продолжают наблюдение до истечения 5 мин. Через 5 мин читают реакцию в проходящем свете. Если агглютинация нечеткая, к смеси сыворотки и крови дополнительно добавляют по одной капле 0,9 % раствора натрия хлорида, после чего дают заключение о групповой принадлежности.

Результаты реакции.

1. Отсутствие агглютинации во всех трех каплях указывает на то, что в исследуемой крови нет агглютиногена, т. е. кровь относится к группе 0(I).
2. Наступление агглютинации в каплях с сыворотками 0(I) и B(III) указывает на то, что в крови имеется агглютиноген A, т. е. кровь относится к группе A(II).
3. Наличие агглютинации в каплях с сыворотками группы 0(I) и A(II) указывает на то, что в исследуемой крови имеется агглютиноген B, т. е. кровь группы B(III).
4. Агглютинация во всех трех каплях указывает на наличие в исследуемой крови агглютиногенов A и B, т. е. кровь относится к группе AB(IV). Однако в этом случае, учитывая, что агглютинация со всеми сыворотками возможна за счет неспецифической реакции, необходимо нанести на планшет или тарелку две-три капли стандартной сыворотки группы AB(IV) и добавить к ним одну каплю исследуемой крови. Сыворотку и кровь перемешивают и результат реакции наблюдают в течение 5 мин.

Если агглютинация не наступила, то исследуемую кровь относят к группе AB(IV). Если же агглютинация появляется с сывороткой группы AB(IV), значит реакция неспецифическая. При слабой агглютинации и во всех сомнительных случаях кровь заново проверяют со стандартными сыворотками других серий.

Определение группы крови ABO двойной реакцией (по стандартным сывороткам и стандартным эритроцитам)

Стандартные эритроциты представляют собой 10—20 % взвесь свежих нативных эритроцитов (или отмытых от консерванта тест-клеток) группы 0(I), A(II) и B(III) в 0,9 % растворе натрия хлорида или цитратно-солевом растворе. Нативные стандартные эритроциты могут быть использованы в течение 2—3 дней при условии хранения их в изотоническом солевом растворе при температуре +4 °C. Консервированные стандартные эритроциты хранят при температуре +4 °C в течение 2 мес и отмывают от консервирующего раствора перед использованием.

Ампулы или флаконы со стандартными сыворотками и стандартными эритроцитами располагают в специальных штативах с соответствующей маркировкой. Для работы с типизирующими реагентами используют сухие чистые пипетки, отдельные для каждого реагента. Для промывания стеклянных (пластмассовых) палочек и пипеток подготавливают стаканы с 0,9 % раствором натрия хлорида.

Для определения группы берут 3—5 мл крови в пробирку без стабилизатора. Кровь должна отстояться в течение 1,5—2 ч при температуре 15—25 °C.

Ход определения.

На планшет наносят по две капли (0,1 мл) стандартных сывороток групп 0(I), A(II), B(III) двух серий. Соответственно каждой группе сывороток располагают по одной маленькой капле (0,01 мл) стандартных эритроцитов групп 0(I), A(II), B(III). В стандартные сыворотки добавляют по одной капле исследуемой крови, а в стандартные эритроциты — по две капли исследуемой сыворотки. Количество крови должно быть в 8—10 раз меньше, чем сыворотки. Капли перемешивают стеклянной палочкой и, покачивая планшет в руках в течение 5 мин, следят за наступлением агглютинации. Если агглютинация нечеткая, к смеси сыворотки и крови дополнительно добавляют по одной капле 0,9 % раствора натрия хлорида (0,1 мл), после чего делают заключение о групповой принадлежности.

Оценка результатов определения группы крови системы АВ0 (табл. 1-4).

1. Наличие агглютинации со стандартными эритроцитами А и В и отсутствие агглютинации в трех стандартных сыворотках двух серий указывают на то, что в исследуемой сыворотке присутствуют оба агглютинина альфа и бета, а в исследуемых эритроцитах нет агглютиногенов, т. е. кровь относится к группе 0(I).
2. Наличие агглютинации со стандартными сыворотками групп 0(I), B(III) и со стандартными эритроцитами группы B(III) указывает на то, что в исследуемых эритроцитах имеется агглютиноген А, а в исследуемой сыворотке — агглютинин бета. Следовательно, кровь относится к группе A(II).
3. Наличие агглютинации со стандартными сыворотками групп 0(I), A(II) и со стандартными эритроцитами группы A(II) указывает на то, что в исследуемых эритроцитах имеется агглютиноген В, а в исследуемой сыворотке агглютинин альфа. Следовательно кровь относится к группе B(III).
4. Наличие агглютинации со всеми стандартными сыворотками и отсутствие агглютинации со всеми стандартными эритроцитами указывает на то, что в исследуемых эритроцитах имеются оба агглютинина, то есть кровь относится к группе АВ(IV).

Таблица 1-4

Результаты определения группы крови АВ0

Результаты исследования						Групповая принадлежность исследуемой крови
эритроцитов с реагентом			сыворотки (плазмы) со стандартными эритроцитами			
анти-AB	анти-A	анти-B	O(I)	A(II)	B(III)	
-	-	-	-	+	+	O(I)
+	+	-	-	-	+	A(II)
+	-	+	-	+	-	B(III)
+	+	+	-	-	-	AB(IV)

Примечание:

- + — наличие агглютинации;
— — отсутствие агглютинации.

Определение групповой принадлежности крови с использованием цоликлонов анти-А и анти-В

Цоликлоны анти-А и анти-В (моноклональные антитела к антигенам А и В) предназначены для определения группы крови системы АВ0 человека взамен стандартных изогемагглютинирующих сывороток. Для каждого определения группы крови применяют по одной серии реагента анти-А и анти-В.

Ход определения.

На планшет (пластинку) наносят по одной большой капле цоликлона анти-А и анти-В (0,1 мл) под соответствующими надписями: «Анти-А» или «Анти-В». Рядом помещают по одной маленькой капле исследуемой крови (соотношение кровь : реагент — 1:10), затем реагент и кровь смешивают и наблюдают за ходом реакции при легком покачивании планшета или пластинки.

Агглютинация с цоликлонами анти-А и анти-В обычно наступает в первые 5–10 с. Наблюдение следует вести 2,5 мин, ввиду возможности более позднего наступления агглютинации с эритроцитами, содержащими слабые разновидности антигенов А или В.

Оценка результатов реакции агглютинации с цоликлонами анти-А и анти-В представлена в табл. 1-4, в которую также включены результаты определения агглютининов в сыворотке доноров с помощью стандартных эритроцитов.

При подозрении на спонтанную агглютинацию у лиц с группой крови АВ(IV) проводят контрольное исследование с 0,9 % раствором натрия хлорида.

Реакция должна быть отрицательной.

Цоликлоны анти-А (розового цвета) и анти-В (синего цвета) выпускаются как в нативной, так и лиофилизированной форме в ампулах по 20, 50, 100 и 200 доз с растворителем, приложенным к каждой ампуле по 2, 5, 10, 20 мл соответственно.

Дополнительным контролем правильности определения группы крови АВ0 реагентами анти-А и анти-В является моноклональный реагент анти-АВ («Гематолог», Москва). Реагент анти-АВ целесообразно использовать параллельно как с иммунными поликлональными сыворотками, так и с моноклональными реагентами. В результате реакции с реагентом анти-АВ развивается агглютинация эритроцитов групп А(II), В(III) и АВ(IV); у эритроцитов группы 0(I) — агглютинация отсутствует.

Ошибки при определении групповой принадлежности

Ошибки при определении групп крови могут зависеть от трех причин.

1. Технические.
2. Неполноценности стандартных сывороток и стандартных эритроцитов.
3. Биологических особенностей исследуемой крови.

1. К ошибкам по техническим причинам относят:

- а) неправильное расположение сывороток на планшете;
- б) неправильные количественные соотношения сывороток и эритроцитов;
- в) применение недостаточно чистых планшетов и других предметов, соприкасающихся с кровью. Для каждой сыворотки должна быть отдельная пипетка; для промывания пипеток следует применять только 0,9 % раствор натрия хлорида;
- г) неправильная запись исследуемой крови;

д) несоблюдение положенного для реакции агглютинации времени; при поспешности, когда реакцию учитывают до истечения 5 мин, агглютинация может не наступить, если в исследуемой крови имеются слабые агглютиногены; при передержанной более 5 мин реакции может произойти подсыхание капель с краев, симулирующее агглютинацию, что также поведет к ошибочному заключению;

е) отсутствие агглютинации из-за высокой (выше 25 °С) температуры окружающего воздуха. Во избежание этой ошибки целесообразно использовать специально приготовленные сыворотки для работы в условиях жаркого климата; производить определение групп крови на тарелке или пластмассовом подносе, внешняя поверхность дна которых опущена в холодную воду.

ж) неправильное центрифугирование: недостаточное может привести к ложноотрицательному результату, а избыточное — к ложноположительному.

2. Ошибки, зависящие от применения неполноценных стандартных сывороток и стандартных эритроцитов:

а) слабые стандартные сыворотки с титром ниже, чем 1:32 или с истекшим сроком годности могут вызывать позднюю и слабую агглютинацию;

б) применение негодных стандартных сывороток или эритроцитов, которые были приготовлены нестерильно и недостаточно законсервированы, ведет к возникновению неспецифической «бактериальной» агглютинации.

3. Ошибки, зависящие от биологических особенностей исследуемой крови.

3.1. Ошибки, зависящие от биологических особенностей исследуемых эритроцитов:

а) поздняя и слабая агглютинация объясняется «слабыми» формами антигенов эритроцитов, чаще — наличием в группах А и АВ слабого агглютиногена A_2 . При этом в случае определения группы крови без исследования сыворотки на наличие агглютининов (простая реакция) могут наблюдаться ошибки, вследствие которых кровь группы A_2B определяют как группу В(III), а кровь A_2 — как группу 0(I). Поэтому, во избежание ошибок, определение группы крови как доноров, так и реципиентов необходимо проводить с использованием стандартных эритроцитов (двойная или перекрестная реакция). Для идентификации агглютиногена A_2 рекомендуется повторить исследование с другими видами (сериями) реагентов, используя другую лабораторную посуду, с увеличением времени регистрации реакции. Специфическими реагентами уточнения группы крови при наличии слабых вариантов антигена А (A_1 , A_2 , A_3) методом прямой реакции агглютинации являются цоликлон анти- A_{cl} и реагент анти- A_1 ;

б) «панагглютинация», «аутоагглютинация», т. е. способность крови давать одинаковую неспецифическую агглютинацию со всеми сыворотками и даже со своей собственной. Интенсивность подобной реакции после 5 мин ослабевает, в то время как истинная агглютинация усиливается. Наиболее часто встречается у гематологических, онкологических больных, обожженных и др. Для контроля рекомендуется оценить, происходит ли агглютинация тестируемых эритроцитов в стандартной сыворотке группы АВ(IV) и изотоническом растворе. Группа крови при «панагглютинации» может быть определена после трехкратного отмывания эритроцитов. Для устранения неспецифической агглютинации планшет помещают в термостат при

температуре 37 °С на 5 мин, после чего неспецифическая агглютинация исчезает, а истинная остается. Целесообразно повторить определение с использованием моноклональных антител. В том случае, когда отмывание эритроцитов не дает желаемого результата, необходимо произвести повторное взятие образца крови в предварительно согретую пробирку, поместить пробу в термokonтейнер для поддержания температуры 37 °С и доставить в лабораторию на исследование. Определение группы крови необходимо производить при температуре 37 °С, для чего используют реактивы, изотонический раствор и планшет, предварительно подогретые;

в) эритроциты тестируемой крови складываются в «монетные столбики», которые при макроскопии можно принять за агглютинаты. Прибавление 1—2 капель изотонического раствора натрия хлорида с последующим мягким покачиванием планшета, как правило, уничтожает «монетные столбики»;

г) смешанная, или неполная, агглютинация: часть эритроцитов агглютинирует, а часть остается свободной. Наблюдается у пациентов групп А(II), В(III) и АВ(IV) после трансплантации костного мозга или в течение первых трех месяцев после переливания крови группы 0(I). Разнородность эритроцитов периферической крови четко верифицируется в гелевом тесте DiaMed.

3.2. Ошибки, зависящие от биологических особенностей исследуемой сыворотки:

а) выявление при рутинном тестировании антител другой специфичности, которые появились вследствие предшествующей сенсибилизации. Целесообразно определить специфичность антител и подобрать типированные эритроциты без антигена, к которому выявлена иммунизация. Иммунизированному реципиенту обязателен индивидуальный подбор совместимой донорской крови;

б) при выявлении образования «монетных столбиков» стандартных эритроцитов в присутствии тестируемой сыворотки аномальный результат целесообразно подтвердить, используя стандартные эритроциты группы 0(I). Для дифференцировки «монетных столбиков» и истинных агглютинатов добавляют 1—2 капли изотонического раствора натрия хлорида и покачивают планшет, при этом «монетные столбики» разрушаются;

в) отсутствие анти-А или анти-В-антител. Возможно у новорожденных и пациентов с угнетением гуморального иммунитета;

г) агглютинация стандартных эритроцитов, в том числе группы 0(I) в присутствии исследуемой сыворотки, связана с присутствием специфических и неспецифических холодовых антител. Исчезновение агглютинации при проведении исследования при температуре 37 °С верифицирует неспецифические холодовые агглютинины. Если исследуемая сыворотка взаимодействует с некоторыми образцами эритроцитов группы 0(I) — это свидетельствует о присутствии в сыворотке специфических холодовых антител. Для установления специфичности антител проводят тестирование с панелью эритроцитов, типированных по системам P, MNS и др.

**Использование моноклональных и поликлональных
реагентов для фенотипирования антигенов
эритроцитов системы группы крови АВ0**

Провели сравнительную оценку эффективности использования различных реагентов для фенотипирования эритроцитов по системе АВ0 (табл. 1-5).

Таблица 1-5

**Тестируемые реагенты для фенотипирования
эритроцитов по системе АВ0**

Название	Производитель	Форма	Серия
МКА	НИИВС	с	Анти-А с25к968, с69к967 Анти-В с20к808, с68к897
МКА	Гем	ж	Анти-А с090297 100д Анти-В с661196 100д
Сероклоны	Израиль	ж	Анти-А 01.01.97 Анти-В 01.01.97
Лектин	РНИИГиТ	ж	Анти-А1 с 143102 01.99
Изогемагглютинирующие	З СПК	ж	
Иммунные	НИИВС РНИИГиТ	ж	
Реагент анти-А1	ВМеДА	ж	А — с 1, с 2, с 3

Определение групп крови по антигенам эритроцитов системы АВ0 проводили перекрестным методом в соответствии с приказом МЗ РФ № 2 от 09.01.98, результаты оценивали по следующим параметрам.

1. Скорость наступления агглютинации.
2. Выраженность агглютинации (от 0 до 4+).
3. Специфичность реакции.

Стандартные эритроциты А(II) и В(III) для перекрестного метода определения групп крови заготавливали от доноров.

В Центре крови и тканей Военно-медицинской академии обследовано 51 713 доноров. У 33 154 фенотип АВ0 при первичном исследовании (как правило, при работе бригады по заготовке крови в выездных условиях) определяли с использованием поликлональных антител, а у 18 559 — с использованием моноклональных антител. Данные о частоте и структуре ошибок представлены в табл. 1-6 и 1-7.

Установлено, что частота ошибочных определений фенотипа АВ0 не превышает 0,4 % и при использовании поликлональных антител практически вдвое ($p < 0,05$) выше, чем при использовании моноклональных диагностикумов (табл. 1-8 и 1-9). В аналогичной работе Г. Н. Завгороднего, Т. Л. Погодиной (1995) зарегистрировано количество ошибочных определений в 4—10 раз выше, чем в нашем исследовании. Следует отметить, что первичное определение в работе коллег из 32-го Центрального военно-морского госпиталя проводили сотрудники лечебных

отделений, а в Центре крови и тканей Военно-медицинской академии — подготовленные лаборанты. В более чем 80 % случаев причины ошибок в работе коллег могут быть отнесены к субъективным факторам (недостаточное знание вопросов изосерологии, неправильное соотношение капель реагента с эритроцитами, перепутывание пробирок), подлежащим коррекции при специальной подготовке. Одновременно следует заметить, что условия работы выездной бригады, затрудняющие работу лаборантов (низкая температура, недостаточная освещенность, неудобство рабочего места), также подлежат коррекции, в первую очередь, при планировании работы временного пункта взятия крови.

Таблица 1-6

**Частота ошибок при определении групп крови системы АВ0
поликлональными антителами у доноров**

Группа крови	Количество определений	Количество ошибок	
		п	%
0(I)	9365	34	27,9
A(II)	8700	17	13,9
B(III)	7355	43	35,3
AB(IV)	7734	28	22,9
Всего...	33 154	122	100

Таблица 1-7

**Частота ошибок при определении групп крови
моноклональными антителами у доноров**

Группа крови	Количество определений	Количество ошибок	
		п	%
0(I)	6730	8	22,8
A(II)	4020	9	25,8
B(III)	5320	14	40,0
AB(IV)	2389	4	11,4
Всего...	18 559	35	100

Наибольший процент ошибок при определении групп крови поликлональными антителами приходится на группы крови B(III) — 35,3 % и 0(I) — 27,9 %, при определении моноклональными антителами — на группы крови B(III) — 40 % и A(II) — 25,8 %.

Количество ошибочных определений фенотипа АВ0

Группа крови	Поликлональные антитела		Моноклональные антитела	
	п	%	п	%
O(I)	34	0,1025	8	0,0431
A(II)	17	0,0513	9	0,0485
B(III)	43	0,1297	14	0,0754
AB(IV)	28	0,0844	4	0,0215
Всего...	122	0,3679	35	0,1885

Таблица 1-9

Анализ структуры ошибок (%)

Группа крови	Поликлональные антитела, n = 33 154	Моноклональные антитела, n = 18 559
O(I)	27,9	22,8
A(II)	13,9	25,8
B(III)	35,3	40,0
AB(IV)	22,9	11,4
Всего...	100	100

Сравнительный анализ (табл. 1-10) определения групп крови системы АВ0 показал, что при использовании для первичного исследования поликлональных реагентов ошибки в определении фенотипа A(II) встречаются реже (13,9 %), чем при использовании моноклональных диагностикумов (25,8 %, $p < 0,05$). Следует подчеркнуть, однако, что сопоставляемые величины относительны, следовательно, возможной причиной этого феномена может быть относительное понижение чувствительности типизирующих поликлональных реагентов анти-В.

Принципиальное значение имеет тот факт, что при использовании моноклональных антител в определении подгрупп крови системы АВ0 процент ошибок меньше (табл. 1-11), чем при использовании поликлональных антител — 8,6 % против 31,1 % ($p < 0,05$), соответственно. Надежное выявление антигена A_2 моноклональными реагентами позволяет предупредить трансфузии эритроцитов, экспрессирующих этот антиген.

Количественные параметры определения антигена A_1 эритроцитов с использованием различных групп реактивов представлены в табл. 1-12.

Скорость наступления реакции агглютинации моноклональных антител с эритроцитами, экспрессирующими антиген A_1 , выше, чем при применении других типов реактивов. Однако наблюдались случаи, когда некоторые серии цоикло-

нов А отличались снижением реакции агглютинации, причина — нарушение температурного режима при хранении и транспортировке. При определении подгрупп крови с антигеном A₂ моноклональные антитела взаимодействовали с эритроцитами в течение 10–30 с, выраженностью агглютинации от 3+ до 4+.

Зарегистрировано преимущество использования моноклональных антител для выявления антигена В (табл. 1-13). Скорость наступления реакции агглютинации со всеми образцами эритроцитов была практически вдвое выше, чем при использовании изогемагглютинирующих сывороток.

Таблица 1-10

**Расхождение результатов определения фенотипа АВ0
при использовании в первичном определении
различных типов диагностикумов**

Группы крови при первичном определении	Группы крови при окончательном определении	Поликлональные антитела	Моноклональные антитела
		N ошибок	n ошибок
O(I)	O(I)	—	—
	A(II) / A ₂ (II)	28 / 4	6
	B(III)	2	2
	AB(IV)	—	—
Всего...		34 (27,9 %)	8 (22,8 %)
A(II)	O(I)	6	6
	A ₂ (II)	4	—
	B(III)	4	3
	AB(IV)	3	—
Всего...		17 (13,9 %)	9 (25,8 %)
B(III)	O(I)	7	3
	A(II)	6	2
	B(III)	—	—
	AB(IV) / A ₂ B(IV)	10 / 20	6 / 3
Всего...		43 (35,3 %)	14 (40 %)
AB(IV)	O(I)	1	—
	A(II)	7	2
	B(III)	10	2
	A ₂ B(IV)	10	—
Всего...		28 (22,9 %)	4 (11,4 %)
Итого...		122 (100 %)	35 (100 %)

Частота ошибок при определении подгрупп крови системы АВО

Количество ошибок	Поликлональные антитела	Моноклональные антитела
Всего	122	35
В том числе, подгрупп	38	3

Таблица 1-12

Результаты исследования антигена А₁ эритроцитов с различными типами реактивов

Параметры	Моноклональные антитела	Изогемагглютинирующая сыворотка	Гипериммунная сыворотка животных	Фито-агглютинины
Скорость наступления агглютинации, с	5—10	30—60	10—15	30—60
Выраженность агглютинации	3+ 4+	3+ 4+	3+ 4+	3+ 4+
Специфичность реакции	+	+	+	+

Таблица 1-13

Результаты исследования антигена В эритроцитов с различными типами реактивов

Исследуемые параметры	Моноклональные антитела	Изогемагглютинирующая сыворотка	Гипериммунная сыворотка животных
Скорость наступления агглютинации, с	15—25	30—60	15—16
Выраженность агглютинации	4+	3+ 4+	3+ 4+
Специфичность реакции	+	+	+

Дополнительным контролем правильности определения групп крови АВ0 является моноклональный реагент анти-АВ. Реагент анти-АВ целесообразно использовать параллельно как со стандартными гемагглютинирующими сыворотками, так и с моноклональными реагентами. В результате реакции с реагентом анти-АВ развивается агглютинация эритроцитов групп А(II), В(III) и АВ(IV); у эритроцитов группы 0(I) агглютинация отсутствует.

1.1.3. Система группы крови резус

1.1.3.1. Общие положения

Наиболее иммуногенным из 5 основных антигенов группы крови системы резус (см. табл. 1-3) является антиген D. Распространенность антигена D у населения Российской Федерации — 86 % (доля резус-отрицательных лиц, соответственно, около 14 %).

Иммуногенность других (минорных) антигенов системы резус существенно ниже и убывает в следующем ряду: $c > E > C > e$.

Иммунная система резус-отрицательных лиц при контакте с антигеном D синтезирует анти-D-антитела, что клинически важно при аллогенных гемотрансфузиях и беременности резус-отрицательной женщины резус-положительным плодом (посттрансфузионные гемолитические реакции и гемолитическая болезнь новорожденных, соответственно). В зависимости от гаплотипа на мембране эритроцитов обычно экспрессировано 10 000–30 000 молекул D, а в некоторых случаях и более.

Существуют две особые категории D-позитивных лиц, способных образовывать анти-D-антитела.

Первая — лица, эритроциты которых характеризуются значительно сниженной экспрессией нормального D на мембране, порядка 100–500 молекул на клетку, «слабый» D (D^{weak}). Референс-методом выявления слабого D является непрямой антиглобулиновый тест.

Вторая — лица, эритроциты которых характеризуются экспрессией измененного D (частичный D, $D^{partial}$). Предполагается, что белковая молекула D имеет четыре частично перекрывающихся эпитопа: W, X, Y и Z. В редких случаях имеет место недостаток одного или нескольких эпитопов, соответственно, иммунная система лиц с частичным D способна вырабатывать антитела к отсутствующим эпитопам.

По современной классификации лица с частичным D, способные вырабатывать анти-D-антитела, подразделяются на семь категорий. Наибольшую частоту встречаемости и практическое значение имеет категория VI, эритроциты которой несут только эпитоп Z. Лица категории VI могут вырабатывать антитела к неизмененному D и частичному D всех остальных категорий. Современный подход к выявлению частичного D категории VI предполагает исследование резус-принадлежности с использованием двух реагентов: моноклональных анти-D-антител класса IgM и поликлональных анти-D-антител класса IgG (либо моноклональных анти-D-антител класса IgG).

Для удобства в повседневной работе иммуногематологических лабораторий слабые варианты антигена D объединяют в группу D^u , частота которой составляет около 1 %. Эти эритроциты слабо или вообще не агглютинируются полными антирезус антителами в реакции прямой агглютинации.

Регламентированным является способ определения резус-принадлежности с использованием стандартного универсального реагента антирезус $Rh_0(D)$, первично отрицательные образцы дополнительно исследуются с использованием стандартного универсального реагента анти- $Rh_0'(DC)$ и со стандартной сывороткой $Rh_0'''(DCE)$. Резус-отрицательными считают доноров, кровь которых не содержит ни одного из этих трех антигенов (D, C, E). Указанный способ эффективно

и широко использовался до разработки диагностикумов на основе моноклональных антител.

Более обоснованным представляется двухэтапный способ определения резус-принадлежности крови. На первом этапе используют цоликлон «Анти-D-супер» (моноклональные анти-D-антитела класса IgM). На втором этапе резус-принадлежность определяют в пробирке, применяя стандартный универсальный реагент для определения резус-фактора Rh₀(D), либо в желатиновом тесте с использованием цоликлона «Анти-D» (моноклональные анти-D-антитела класса IgG). Сочетание отрицательного результата на первом этапе и положительного — на втором является признаком частичного D, наиболее вероятно — категории VI.

В большинстве (порядка 90 %) случаев для частичного D категории VI характерен генотип CcDee. С помощью высокоспецифичных моноклональных антител устанавливается гетерогенность частичного D категории VI.

Реципиенты, содержащие антиген D^u, должны быть отнесены к резус-отрицательным и им должна быть перелита только резус-отрицательная кровь, так как нормальный антиген D может вызвать у таких лиц иммунный ответ.

Лица с антигеном D^u квалифицируются как резус-положительные доноры, так как переливание их крови может вызвать иммунный ответ у резус-отрицательных реципиентов, а в случае предшествующей сенсибилизации к антигену D — тяжелые трансфузионные реакции. Поэтому кровь доноров следует обязательно тестировать на присутствие D^u.

Беременным женщинам с частичным D категории VI, когда ожидается рождение ребенка с полным D, целесообразно назначение антирезусного иммуноглобулина.

Резус-принадлежность крови больных устанавливают по наличию или отсутствию антигена D. Во избежание ошибки процедуру взятия крови и определение резус-принадлежности проводят дважды. Определение минорных антигенов системы резус, как правило, производится при необходимости многократных трансфузий в тех случаях, когда в сыворотке реципиента обнаружены антитела к антигенам системы резус, а также у беременных женщин.

Результат определения резус-принадлежности крови больных регистрируется в специальном журнале и на бланке с указанием даты и подписью врача, проводившего исследование. Этот бланк вклеивается в историю болезни.

Результат определения резус-принадлежности крови доноров регистрируется в специальном журнале и в донорской карте с указанием даты и подписью врача.

1.1.3.2. Методы определения резус-принадлежности крови

Реакция гемагглютинации на плоскости с помощью анти-D IgM (полные антитела) моноклонального реагента

Определение производят в нативной крови, стабилизированной с помощью консервантов, в крови без антикоагулянта, в том числе взятой из пальца. Наиболее четкая реакция агглютинации наблюдается при использовании высокой концентрации эритроцитов и температуре около 37 °С, поэтому желательно использовать подогретую пластинку.

Ход определения:

- на пластинку со смачиваемой поверхностью наносят большую каплю (около 0,1 мл) реагента;
- рядом помещают маленькую каплю (0,01–0,05 мл) исследуемой крови;
- смешивают кровь с реагентом стеклянной палочкой;
- через 10–15 с покачивают пластинку в течение 20–30 с;
- реакция агглютинации начинается через 10–15 с, четко выраженная крупнолепестковая агглютинация — через 30–60 с. Результат следует учитывать через 3 мин, так как реакция агглютинации с эритроцитами, несущими антиген D^u, происходит медленнее.

Наличие агглютинации свидетельствует о присутствии в исследуемых эритроцитах антигена D (кровь — резус-положительная). Отсутствие агглютинации свидетельствует о том, что исследуемые эритроциты не содержат антигена D (кровь — резус-отрицательная). В случае слабой агглютинации делают предположение о наличии на эритроцитах слабого антигена D и проводят исследование фенотипа эритроцитов в непрямом антиглобулиновом тесте (непрямой пробе Кумбса) с использованием IgG (неполных) анти-D-антител.

- сразу же после определения записывают результаты реакции.

Определение слабых форм антигена D (D^u) на втором этапе исследования реакцией конгломинации с желатином в пробирочном тесте с помощью анти-D IgG (неполные антитела) моноклонального реагента

Параллельно с исследованием осуществляют постановку трех контрольных проб: а) со стандартными резус-положительными эритроцитами; б) со стандартными резус-отрицательными эритроцитами; в) с исследуемыми эритроцитами и раствором желатина, но без анти-D-антител.

Ход определения:

- в пробирку вносят одну каплю (0,05–0,1 мл) свободных эритроцитов из сгустка свернувшейся крови или эритроцитов, отмытых от консерванта;
- добавляют 2 капли (0,1 мл) 10 % желатина, предварительно прогретого при 45–50 °С до разжижения;
- добавляют одну каплю реагента анти-D;
- перемешивают суспензию;
- инкубируют 10–15 мин на водяной бане или 30 мин в термостате при 48 °С;
- прибавляют 5–6 мл изотонического раствора;
- осторожно переворачивают пробирку 1–2 раза;
- визуально (невооруженным глазом или используя лупу) определяют наличие агглютинатов.

Агглютинация эритроцитов свидетельствует о присутствии в них антигена D. В случае четкой агглютинации в образце крови, резус-отрицательной по результатам исследования с помощью анти-D IgM моноклональных антител, делают заключение о наличии антигена D^u. В случае нечеткой мелкопесочной агглютинации, кровь необходимо тестировать в непрямом антиглобулиновом тесте.

Аналогичным образом, наряду с моноклональными реагентами, можно использовать стандартные аллоиммунные сыворотки с неполными анти-D-антителами.

При наличии неадекватных результатов контрольных проб определение резус-принадлежности следует повторить с использованием других реагентов или образца желатина. При агглютинации исследуемых эритроцитов желатином в отсутствие анти-D-антител можно предположить наличие на эритроцитах адсорбированных антиэритроцитарных антител анти-резус или иной специфичности.

Определение резус-антигенов с помощью универсальных реагентов

Стандартный реагент антирезус Rh₀(D) содержит поликлональные неполные анти-D-антитела. Одновременно с исследованием крови доноров производится контрольное исследование стандартных резус-положительных эритроцитов той же группы или группы 0(I) и стандартных резус-отрицательных эритроцитов обязательно одногруппных с исследуемой кровью.

Ход определения:

- на дно пробирки вносят 1 каплю стандартного реагента антирезус;
- добавляют каплю исследуемой крови (или эритроцитов);
- содержимое пробирки перемешивают встряхиванием;
- медленно поворачивают пробирку, наклоняя ее почти горизонтально таким образом, чтобы содержимое растекалось по стенкам. Такое распределение крови по стенкам пробирки делает реакцию более выраженной;
- агглютинация наступает в течение первой минуты, но для образования устойчивого комплекса антиген—антитело и четко выраженной агглютинации, а также ввиду возможности замедленной реакции при наличии антигена D^u, контакт эритроцитов с реагентом при перевертывании должен быть не менее 3 мин;
- для исключения неспецифической агрегации эритроцитов в пробирку добавляют 2—3 мл изотонического раствора натрия хлорида и перемешивают, не взбалтывая, путем 2—3-кратного перевертывания пробирки;
- оценку проводят визуально.

Наличие агглютинации в виде крупных хлопьев из эритроцитов на фоне просветленной жидкости свидетельствует о резус-положительной принадлежности исследуемой крови.

Отсутствие агглютинации (в пробирке гомогенно окрашенная жидкость) — признак резус-отрицательной принадлежности исследуемой крови.

Результат учитывается как истинный после проверки контрольных образцов, т. е. при положительном результате со стандартными резус-положительными эритроцитами и отсутствии агглютинации со стандартными резус-отрицательными эритроцитами, одногруппными с исследуемой кровью по системе АВ0.

Непрямой антиглобулиновый тест (непрямая проба Кумбса) с помощью (неполных) анти-D-антител

Параллельно с исследованием образцов тестируемой крови проводят контрольное исследование со стандартными резус-отрицательными эритроцитами.

Ход определения:

- из исследуемой крови готовят 2—5 % взвесь отмытых эритроцитов. С этой целью вносят в пробирку 5 капель (около 0,25 мл) исследуемой крови, три раза отмывают в 5—10 мл изотонического раствора; ресуспендируют осадок эритроцитов в 2—3 мл изотонического раствора или, что предпочтительнее, в 2—3 мл раствора низкой ионной силы — LISS (в этом случае произойдет более прочная и быстрая фиксация антител на эритроцитах);
- маркируют чистую пробирку;
- вносят в нее 1 каплю реагента анти-D;
- добавляют 1 каплю 2—5 % взвеси исследуемых эритроцитов;
- если эритроциты суспендированы в изотоническом растворе, инкубируют смесь при 37 °С в течение 30—45 мин; если используют эритроциты в LISS — 10—15 мин;
- отмывают эритроциты, используя 5—10 мл изотонического раствора: при использовании моноклональных анти-D-антител — однократное отмывание, а при использовании поликлональных анти-D-антител — трехкратное. Следует иметь в виду, что сыворотка крови в разведении 1:4000 инактивирует равный объем антиглобулинового реагента, следовательно, недостаточное отмывание может привести к инактивации антиглобулинового реагента и ложноотрицательному результату теста;
- удаляют изотонический раствор;
- добавляют 1 каплю антиглобулинового реагента к осадку эритроцитов и тщательно перемешивают;
- центрифугируют 15—20 с при 2000—3000 об/мин (900—1000 g);
- аккуратно ресуспендируют осадок эритроцитов и визуально определяют наличие или отсутствие агглютинации. При наличии агглютинации кровь является резус-положительной. При отсутствии агглютинации — резус-отрицательной. Слабая агглютинация возможна при экспрессии антигена D^u;
- записывают результаты исследования.

Агглютинация эритроцитов, обработанных протеолитическими ферментами, IgG (неполными) анти-D-антителами

Для усиления прямой агглютинации эритроцитов в солевой среде используют предварительную обработку эритроцитов протеазами (протеолитическими ферментами): бромелином, папаином, трипсином и др. При этом повышается чувствительность метода, в том числе и в отношении слабых форм антигена D. Метод используется в системах автоматизированного определения групп крови. Особенностью этого теста, затрудняющей его применение для рутинного фенотипирования эритроцитов, является феномен прозоны — ингибирование агглютинации избыточным количеством антител. Для избежания феномена прозоны необходимо обеспечить стандартность обработки эритроцитов ферментами и строго соблюдать концентрацию анти-D-антител, рекомендованную производителем.

Методический подход к определению резус-принадлежности

С целью выбора оптимального способа определения резус-принадлежности крови доноров провели сравнительную оценку эффективности использования цо-

ликлонов анти-D-супер и анти-D, а также универсального реагента антирезус Rh₀(D) (Центр изосерологических стандартов, Нижний Новгород) для выявления эритроцитарных антигенов D системы резус.

Для исследования использовали следующие серии реагентов:

1. Цоликлон анти-D-супер — серия 40 0694
2. Цоликлон анти-D — серия 09 0694
3. Универсальный реагент антирезус Rh₀(D) для экспресс-метода в пробирках без подогрева, жидкий — серия 122.

Определение резус-принадлежности крови доноров проводили первично цоликлоном анти-D-супер реакцией прямой гемагглютинации на плоскости и окончательно реагентом антирезус Rh₀(D) методом в пробирке без подогрева.

Все исследования проведены в соответствии с Инструкцией № 06-14/16 от 14.10.76.

Учитывались следующие параметры: скорость наступления агглютинации, характер агглютинации (от + до ++++), специфичность реакции, выявление слабых форм антигена D (D^u).

Исследовано 3778 образцов крови доноров. Среди них выявлено 418 (11,1 %) резус-отрицательных доноров. Из них при дальнейшем типировании 42 (1,1 %) человека были отнесены к резус-положительным, так как имели фенотип D—C+.

Результаты исследования антигена D эритроцитов доноров с различными типами реагентов (табл. 1-14) показали существенные преимущества цоликлонов анти-D-супер по сравнению с универсальным реагентом антирезус Rh₀(D): возможность постановки реакции на плоскости, более высокую скорость наступления реакции агглютинации со всеми образцами эритроцитов, в основном крупнопесточный характер агглютинации.

Таблица 1-14

Результаты исследования антигена D эритроцитов доноров с различными типами реагентов

Исследуемые параметры	Цоликлон анти-D-супер	Универсальный реагент анти-резус Rh ₀ (D)
Скорость наступления агглютинации	8—10 с	3—4 мин
Характер агглютинации	4+	3+ 4+
Специфичность реакции	+	+

Все 418 резус-отрицательных образцов донорской крови были тестированы на присутствие антигена D цоликлоном анти-D в желатиновом тесте и универсальным реагентом антирезус Rh₀(D) методом в пробирке без подогрева. Было выявлено 3 (0,08 %) образца донорской крови, содержащих D^u антиген. Выявляемость D^u антигена цоликлоном анти-D более достоверна, чем реагентом антирезус Rh₀(D) в связи с тем, что использование иммунных сывороток с неполными антителами в виде «универсального реагента» основано на усилении действия неполных антител высокомолекулярным полисахаридом полиглюкином. Такой препарат в ряде случаев может вызвать неспецифическую агглютинацию, которая за-

трудняет трактовку результатов. Цоликлон анти-D абсолютно специфичен и содержащиеся в нем моноклональные антитела класса IgG имеют высокий титр (1:512), что позволяет правильно диагностировать слабые формы антигена D (D^u). В большинстве (90 %) случаев для частичного D категории VI характерен генотип CcDee [Mollison P. L. et al., 1987; Van Rhenen D. J. et al., 1994]. Лица с частичным D квалифицируются как резус-положительные доноры и резус-отрицательные реципиенты. Беременным женщинам с частичным D категории VI, когда ожидается рождение ребенка с полным D, целесообразно назначение антирезусного иммуноглобулина. С помощью высокоспецифичных моноклональных антител устанавливается гетерогенность частичного D категории VI.

Представляет интерес анализ расхождений в определении резус-фактора у доноров крови. С этой целью сопоставлены результаты работы лаборатории станции переливания крови с использованием традиционного — и усовершенствованного методов.

Первичное определение резус-принадлежности в апреле—октябре 1994 г. выполнено выездной бригадой по заготовке крови с использованием цоликлонов анти-D-супер в реакции прямой гемагглютинации на плоскости и окончательно в стационарных условиях — универсальным реагентом антирезус Rh₀(D) методом в пробирке без подогрева. В аналогичный период (апрель—октябрь 1993 г.) первичное определение резус-принадлежности проводилось универсальным реагентом антирезус Rh₀(D) на выезде и окончательное — пробирочным методом в стационаре. Результаты исследований представлены в табл. 1-15. Следует отметить, что все ошибочные определения были получены в выездных условиях при массовой заготовке крови и количестве обследованных доноров свыше 100. Также неблагоприятными факторами являлись неудовлетворительное освещение рабочих мест и низкая температура воздуха в помещениях. Практически пятикратное снижение количества неправильных определений Rh-фактора на 1-м этапе обследования при массовой заготовке крови при использовании цоликлонов анти-D-супер в реакции прямой гемагглютинации на плоскости позволяет рекомендовать этот метод к внедрению в широкую практику работы службы крови [Жибурт Е. Б. и соавт., 1996].

1.1.4. Менее иммуногенные антигены эритроцитов

1.1.4.1. Фенотипирование эритроцитов по антигенам К и с

Фактор Келл стоит на втором месте после фактора D в шкале трансфузионно опасных антигенов эритроцитов. Третье место занимает фактор с.

Индекс сенсибилизации населения (процент лиц с повышенным риском посттрансфузионного осложнения) к обоим указанным факторам в настоящее время высок.

По данным С. И. Донскова (1996), сенсибилизационный индекс населения в отношении фактора К составляет условно 18 % (9 % «первичных» реципиентов + 9 % «первичных» беременных) на каждый расчетный год.

В абсолютных цифрах сенсибилизационный индекс по антигену К системы Келл с учетом 10 предшествующих лет составляет по расчетным данным 8—10 млн человек, т. е. примерно 6—7 % всех потенциальных реципиентов на данную точку отсчета.

**Сравнительная оценка эффективности традиционного
и усовершенствованного методов определения
резус-принадлежности крови доноров**

Показатель	Традиционный метод		Усовершенствованный метод	
	N	%	n	%
Количество обследованных образцов	2844	100	3778	100
Количество Rh(-) образцов крови, выявленных при первичном обследовании	348	12,2	418	11,1
Количество Rh(-) образцов крови с фенотипом D-C+ (резус-положительные доноры)	47	1,7	42	1,1
Количество ошибочных определений резус-принадлежности Rh(+)	18	0,6	5	0,1
Количество ошибочных определений резус-принадлежности Rh(-)	11	0,4	6	0,2
Из них с антигеном D ^u	Определить невозможно		3	0,1
Общее количество неправильных определений Rh-фактора на 1-м этапе обследования при массовой заготовке крови	29	1,0	8	0,2

С тем чтобы избежать посттрансфузионных осложнений по антигену К, необходимо выдавать в лечебно-профилактические учреждения только К-отрицательные эритроциты. В кабинетах, отделениях и станциях переливания крови целесообразно производить определение антигена К как обязательное у всех доноров, наряду с группой и резус-фактором, после чего отбирать К-положительные образцы крови, не допуская их к выдаче для переливания. К-положительным донорам целесообразно рекомендовать другой вид донорства (плазмы, тромбоцитов, лейкоцитов и др.), но не эритроцитов.

Определение антигена К в эритроцитах производят с помощью общепринятых методов исследования.

1. Непрямая реакция Кумбса.
2. Желатиновый метод в пробирках.
3. Экспресс-метод на плоскости с сывороткой анти-К универсальной («Гемостандарт», Москва).

Для исследования экспресс-методом используют свежие (не более двух дней хранения), неотмытые или отмытые эритроциты, взятые со дна пробирки после отстаивания от сыворотки (3-я фракция крови), плазмы с консервантом или изотонического раствора. Используют также цельную кровь, взятую из прокола пальца непосредственно перед исследованием.

Ход определения:

- на плоскость помещают две капли (0,05—0,06 мл) сыворотки анти-К и каплю эритроцитов в количестве $\frac{1}{3}$ объема взятой сыворотки;
- капли перемешивают стеклянной палочкой и при плавном периодическом покачивании пластинки наблюдают за ходом реакции в течение 5 мин.

При положительном результате агглютинация эритроцитов появляется к 30 с — 1 мин и в дальнейшем усиливается, при отрицательном результате агглютинация отсутствует. По истечении 3—4 мин в реагирующую смесь добавляют 1—2 капли изотонического раствора для снятия возможной неспецифической агрегации эритроцитов и продолжают наблюдение до истечения 5 мин, после чего регистрируют результат.

Распространенность антигена с (система резус) составляет около 80 %. Около 20 % людей не содержат антигена с и являются гомозиготными по аллельному антигену С. Соответственно, этим пациентам в 80 % случаев переливают эритроциты, содержащие антиген с, что ведет к сенсибилизации и риску развития посттрансфузионного осложнения. Индекс сенсибилизации населения к антигену с составляет около 32 %.

С тем чтобы уменьшить индекс сенсибилизации населения и избежать посттрансфузионных осложнений, обусловленных несовместимостью по этому антигену, целесообразно у каждого резус-положительного реципиента определять с антиген и при его отсутствии переливать реципиенту кровь доноров, гомозиготных по антигену С, т. е. с-отрицательных. На станциях и в отделениях переливания крови целесообразно иметь резервную группу таких доноров или запас с-отрицательной эритроцитной массы.

Антиген с определяют со стандартной сывороткой анти-с («Гемостандарт», Москва) теми же методами, что и антиген D. Для выявления антигена С целесообразно использовать цоликлон «Анти-С-супер» (моноклональные анти-С-антитела) («Гематолог», Москва). Цоликлон «Анти-С-супер» не содержит антител других специфичностей и не требует проведения контроля растворителя.

1.1.4.2. Фенотипирование эритроцитов по антигенам системы Lewis

Выявление Lewis-антигенов Le^a , Le^b ферментным методом с использованием неполных стандартных антител анти- $Le(a)$, анти- $Le(b)$ («Гемостандарт», Москва) состоит из приготовления рабочего ферментного раствора, обработки (энзимирования) этим раствором исследуемых и стандартных (контрольных) эритроцитов и постановки реакции агглютинации энзимированных эритроцитов.

Ход определения.

1. Приготовление рабочего ферментного раствора.

Для приготовления рабочего ферментного раствора обычно используют протеазу-С (комплекс протеаз, продуцируемый культурой *Arc. chrysogenum*).

Возможно также использование любой другой серологически активной протеазы микробного (субтилизин, проназа) или растительного (папаин, бромелин) происхождения.

Необходимый объем 0,1 % ферментного раствора готовят путем растворения в течение нескольких минут при комнатной температуре навески используемого ферментного препарата в изотоническом растворе натрия хлорида (например,

10 мг фермента растворяют в 10 мл изотонического раствора). Раствор микробных протеаз готов для использования сразу же после растворения фермента. Для развития ферментивной активности раствора папаина его выдерживают 1 ч при комнатной температуре после растворения препарата. Годность приготовленного раствора микробной протеазы (протеазы-С), сохраняемой при 4–8 °С — 1 нед, раствора папаина — 48 ч. Порошкообразные ферментные препараты при 4–8 °С сохраняют свою активность в течение нескольких лет.

2. Энзимирование эритроцитов:

- исследуемые и стандартные (Le^{a+b-} , Le^{a-b+}) эритроциты дважды отмывают изотоническим раствором путем центрифугирования;
- к 1 объему осадка отмытых эритроцитов добавляют 5 объемов ферментного раствора (например, к 3 каплям эритроцитов добавляют 15 капель ферментного раствора);
- эритроциты и ферментный раствор перемешивают;
- пробирки с ингредиентами помещают в суховоздушный термостат с температурой 37 °С на 45 мин или на 30 мин на водяную баню с той же температурой;
- после энзимирования эритроциты дважды отмывают от ферментного раствора;
- готовят 5–7,5 % рабочую взвесь энзимированных эритроцитов в изотоническом растворе натрия хлорида.

3. Постановка реакции агглютинации энзимированных эритроцитов:

- для каждого образца исследуемых и стандартных (контрольных) эритроцитов на плоскость помещают по 1 капле сыворотки анти- $Le(a)$ и анти- $Le(b)$;
- к помещенным на плоскость реагентам добавляют по 1 капле энзимированных эритроцитов;
- реагенты перемешивают;
- инкубируют (в покое) 10 мин при комнатной температуре;
- учитывают результаты реакции агглютинации энзимированных эритроцитов невооруженным глазом или с помощью 4-кратной лупы (при хорошем естественном или достаточном искусственном освещении, при осторожном покачивании плоскости) — по наличию или отсутствию агглютинации.

Результат учитывается как истинный после проверки контрольных проб, т. е. при наличии агглютинации с положительным контролем и ее отсутствии с отрицательным контролем.

Распространенность фенотипов системы Lewis у доноров на северо-западе России Le^{a-b-} — 20 %, Le^{a+b-} — 35 %, Le^{a-b+} — 70 %, Le^{a+b+} — встречается редко.

Система антигенов Lewis как маркер риска ишемической болезни сердца

Связь эритроцитарного фенотипа с предрасположенностью (или резистентностью) к различным патологическим процессам общезвестна и в первую очередь относится к антигенным системам ABO и Rhesus [Mourant A. E. et al., 1978]. В последнее время привлекает к себе внимание система Lewis, антигены которой, в отличие от других систем эритроцитарных антигенов, не синтезируются эритроидными клетками-предшественниками, а абсорбируются из плазмы. Антигены системы Lewis Le^a и Le^b представляют собой гликосфинголипиды и экспрессиру-

ются во многих тканях организма, в частности на эпителии дыхательных, мочевыводящих путей, желудочно-кишечного тракта, слюнных желез и т. д. Количество антигенов Lewis на одном эритроците — 4500–7300 молекул. Для сравнения: на одном эритроците экспрессировано 8×10^5 – 2×10^6 антигенов системы ABO и 2×10^6 антигенов системы Rhesus [Stamatoyannopoulos G. et al., 1994].

Система Lewis названа по фамилии женщины, в крови которой впервые были обнаружены анти-Le-антитела [Mourant A. E., 1946]. Антигены системы Lewis — продукт гена FUT3, расположенного на коротком плече 19 хромосомы (19 p 13.3) и кодирующего альфа-1, 3, 4 — фукозилтрансферазу. Три главных фенотипа Le^{a+b-} , Le^{a-b+} и Le^{a-b-} — результат взаимодействия двух генетически независимых локусов: FUT3 и системы выделения (Secretor, Se-se). Ген Se расположен на длинном плече 19 хромосомы, кодирует альфа-1, 2 — фукозилтрансферазу. Частичный ген Se (Se^w) может приводить к фенотипу Le^{a+b+} . Подробно структурно-функциональный анализ системы Lewis проведен в работе S. Henry и соавт. (1995), которые связывают полиморфизм систем Le и Se с различными видами преимущества при адаптации к факторам окружающей среды. Распространенность фенотипов Lewis имеет существенные региональные особенности. В большинстве стран Западной Европы антиген Le^a встречается у 20 % населения, в Латинской Америке — в 11 %, на юге Китая — в 15 % [Прокоп О., Геллер В., 1991]. У 20–25 % жителей островов Тихого океана встречается фенотип Le^{a+b+} , редкий в Европе и Америке [Lim M. et al., 1995].

В первые десятилетия изучения антигенов Lewis четкой связи с заболеваниями не было обнаружено [Markus D. M., 1969]. Однако в последние годы выяснено, что антигены Lewis участвуют в воспалительном процессе, связывая с эндотелием нейтрофилы и моноциты с их последующей миграцией через эндотелий во внесосудистые очаги воспаления. Le^a является контррецептором к Р-селектину и, возможно, L-селектину. Лица с фенотипом Le^{a-b-} могут иметь дефект внутриклеточного синтеза фукозилтрансфераз, а соответственно, — дефект противинфекционной резистентности [Stamatoyannopoulos G. et al., 1994], так как GDP-фукоза — важный компонент липополисахаридов клеточной стенки бактерий [Ленинджер А., 1976].

Известно, что антиген Le^b способствует связыванию *Helicobacter pylori* с эпителием желудка, а отсутствие этого антигена сочетается с рецидивами мочеполовых инфекций у женщин. При раке легких смертность наиболее низка у пациентов с фенотипом Le^{a-b+} [Green D. et al., 1995].

Особый интерес представляет выявление связи фенотипа Le^{a-b-} с повышенным риском ишемической болезни сердца (ИБС) [Hein H. O. et al., 1992]. У мужчин с фенотипом Le^{a-b-} зарегистрировано повышение индекса массы тела, увеличение частоты диабета и гипертензии, высокий уровень сывороточных триглицеридов и снижение содержания липопротеидов высокой плотности.

Фенотип Le^{a-b-} у белых мужчин групп крови А, В и АВ сочетается с повышенным содержанием фактора VIII и фактора Виллебранда и рассматривается в качестве маркера риска будущей атеротромботической болезни [Green D. et al., 1995].

Обсуждается вопрос возможных генетических связей системы Lewis с резистентностью к инсулину [Meeran K., Bloom S. R., 1994]. Данные о том, что умеренные дозы алкоголя имеют значение в профилактике ишемической болезни сердца у мужчин с фенотипом Le^{a-b-} , не получили патофизиологического обоснования [Hein H. O. et al., 1992].

Представляет интерес оценить распространенность антигенов и фенотипов системы Lewis среди здоровых доноров в Санкт-Петербурге, а также у пациентов с ишемической болезнью сердца.

Обследовано 60 доноров крови (42 мужчины и 18 женщин, средний возраст $22,3 \pm 1,4$ лет) и 74 пациента с ишемической болезнью сердца (48 мужчин и 26 женщин, средний возраст $59,5 \pm 1,6$ лет). Фенотип Lewis определяли с использованием специфических сывороток («Гемостандарт», Москва). 86 образцов параллельно тестировали с использованием реагентов DiaMed (Швейцария). Расхождений результатов не выявлено.

При обработке результатов частоту встречаемости фенотипов Lewis выражали в процентах. Достоверность различий в распределении фенотипов определяли по критерию χ^2 . Величину относительного риска, определяющую, во сколько раз вероятность заболевания выше для носителя данного антигена, чем для других членов популяции, определяли по формуле: $RR = ad/bc$, где величины a, b, c, d соответствуют таковым при построении сетки 2×2 . Также определяли этиологическую фракцию (EF), биологический смысл которой заключается в определении части носителей фенотипа, у которых разовьется заболевание, и протективную фракцию (PF) — части носителей фенотипа без риска развития ИБС [Певницкий Л. А., 1988].

Результаты исследования представлены в табл. 1-16. Обращает на себя внимание достаточно редкая распространенность фенотипа Le^{a+b-} в обеих исследуемых группах. Фенотип Le^{a-b-} встречается у больных ИБС втрое чаще, чем у здоровых доноров. Напротив, распространенность фенотипа Le^{a-b+} среди пациентов значительно снижена.

Таблица 1-16

Фенотип Lewis у больных ИБС (n = 74) и здоровых доноров (n = 60)

Фенотип	Контроль		Пациенты		χ^2	p	RR	EF	PF
	%	абс. число	%	абс. число					
Le^{a-b-}	20,3	14	67,5	50	25,9	< 0,0001	6,8	0,584	—
Le^{a+b-}	3,3	2	2,7	2	—	—	—	—	—
Le^{a-b+}	73,3	44	24,3	18	32,0	< 0,0001	0,11	—	0,663
Le^{a+b+}	0	0	5,4	4	0,367	> 0,5	—	—	—

Полученные результаты позволяют констатировать наиболее выраженную связь антигенов Lewis с предрасположенностью / резистентностью развития ИБС в сравнении с другими иммуногенетическими маркерами эритроцитарных систем [Назаретян М. К. и др., 1993].

Таким образом, при определении риска ИБС целесообразно исследовать фенотип Lewis. Фенотип Le^{a-b-} — маркер повышенного риска развития ИБС. Фенотип Le^{a-b+} — маркер относительной устойчивости к развитию ИБС. Необходимо проводить исследования связи системы Lewis с патогенетическими механизмами заболеваний внутренних органов [Жибурт Е. Б. и др., 1997].

1.1.5. Проведение пробы на индивидуальную совместимость крови донора и реципиента

1.1.5.1. Общие положения

Целью пробы на индивидуальную совместимость является предотвращение трансфузий несовместимых эритроцитов. Тестирование сыворотки реципиента с эритроцитами предполагаемого донора — наиболее надежный способ выявления антител, способных вызвать повреждение перелитых эритроцитов, посттрансфузионные реакции, в том числе и гемолитические. Проведение такой пробы позволяет:

- 1) подтвердить АВ0 совместимость донора и реципиента;
- 2) выявить все антитела в сыворотке реципиента, направленные против антигенов эритроцитов донора.

1.1.5.2. Методы проб на индивидуальную совместимость крови донора и реципиента

Проба на индивидуальную совместимость крови по антигенам системы АВ0

Ход определения:

- на чистую сухую поверхность планшета или пластинки при комнатной температуре наносят и смешивают в соотношении 10:1 сыворотку реципиента и кровь донора;
- периодически покачивая планшет, наблюдают за ходом реакции;
- при отсутствии агглютинации в течение 5 мин кровь совместима. Наличие агглютинации указывает на несовместимость крови реципиента и донора. Такую кровь переливать нельзя. В сомнительных случаях результат пробы контролируют под микроскопом: при наличии монетных столбиков, исчезающих после добавления теплого (+37 °С) 0,9 % раствора натрия хлорида, кровь совместима; если в капле смеси видны агглютинаты, не расходящиеся при добавлении теплого 0,9 % раствора натрия хлорида, кровь не совместима.

Проба на совместимость крови по антигенам системы резус с применением 33 % раствора полиглюкина

Поскольку чувствительность этой пробы низкая, применять ее в стационарных лечебных учреждениях не рекомендуется. Допускается выполнение пробы на совместимость с применением 33 % раствора полиглюкина при необходимости проведения переливания крови в экстремальных условиях.

Приготовление 33 % раствора полиглюкина.

1. Путем упаривания 6 % раствора полиглюкина до 18 % (1/5,5) исходного объема.
2. Растворяя сухой порошок полиглюкина.

Для получения 1000 мл 33 % раствора в мерную колбу помещают 330 г сухого порошка полиглюкина и растворяют в 700 мл дистиллированной воды в условиях водяной бани при температуре 50–60 °С. Добавляют 49,5 г сухого натрия хлорида. Охлаждают раствор до комнатной температуры и дистиллированной водой доводят до 1000 мл. Для консервирования 33 % раствора полиглюкина применяют борную кислоту из расчета 3 г на 100 мл.

Проба на совместимость по антигенам системы резус не заменяет, а дополняет пробу на совместимость по антигенам системы АВ0.

Ход определения:

- на дно маркированной пробирки вносят 2 капли сыворотки больного, одну каплю донорской крови и одну каплю 33 % раствора полиглюкина;
- перемешивают содержимое пробирки встряхиванием;
- медленно поворачивают пробирку так, чтобы содержимое растекалось по стенкам пробирки. При этом увеличивается выраженность реакции агглютинации;
- через 5 мин добавляют 2–3 мл изотонического раствора;
- перемешивают содержимое, 2–3 раза аккуратно переворачивая пробирку, не взбалтывая;
- наличие агглютинации в пробирке указывает, что кровь донора несовместима с кровью пациента и поэтому не может быть ему перелита. Если содержимое пробирки остается равномерно окрашенным и не наблюдается признаков агглютинации эритроцитов, кровь совместима.

Проба на индивидуальную совместимость крови с применением центрифугирования

Ход определения:

- помещают 2 капли сыворотки реципиента на дно маркированной пробирки;
- добавляют 1 каплю 5 % взвеси трижды отмытых эритроцитов донора в растворе низкой ионной силы — LISS (при отсутствии LISS можно использовать изотонический раствор, в этом случае ухудшается фиксация антител). Методика приготовления 5 % взвеси трижды отмытых эритроцитов приведена в описании постановки непрямой пробы Кумбса;
- сразу после смешивания эритроцитов донора и сыворотки реципиента центрифугируют пробирку в течение 15–20 с при 2000 об/мин;
- визуально определяют наличие гемолиза в надосадочной жидкости;
- аккуратно покачивая пробирку, ресуспендируют клеточный осадок и визуально определяют наличие агглютинатов. Наличие гемолиза и/или агглютинатов может означать: а) несовместимость по системе АВ0; б) присутствие в сыворотке реципиента полных холодовых антител иной специфичности (анти-М, анти-N, анти-S и др.).

Проба на индивидуальную совместимость крови с использованием раствора желатина

Необходимо использовать чистый, без хлопьев, прозрачный желатин, застывающий при температуре 4 °С. Желатин нельзя замораживать. Для исключения

неспецифической агглютинации эритроцитов раствором желатина целесообразно проверять каждую серию желатина в контроле с несенсибилизированными эритроцитами.

Ход определения.

Проводят пробу на индивидуальную совместимость крови с применением центрифугирования. Если не выявлено гемолиза и эритроциты образовали однородную суспензию после встряхивания пробирки:

- подогревают 10 % раствор желатина на водяной бане (46–48 °C) в течение 10 мин;
- к смеси эритроцитов донора и сыворотки реципиента (в соотношении 1:2) добавляют 2 капли подогретого 10 % раствора желатина и тщательно перемешивают;
- в течение 10 мин инкубируют пробирку при 46–48 °C на водяной бане или в течение 30 мин — в термостате;
- добавляют 5–8 мл изотонического раствора и аккуратно перемешивают, 1–2 раза переворачивая пробирку;
- визуально определяют наличие или отсутствие агглютинации эритроцитов. При отрицательном результате переносят каплю взвеси эритроцитов из пробирки на предметное стекло и микроскопируют при малом увеличении.

При выявлении агглютинации кровь донора и реципиента несовместима по антигенам эритроцитов.

В качестве отрицательного контроля используют следующие пробы:

- а) смесь эритроцитов донора с желатином и 0,9 % раствором натрия хлорида (в соотношении 1:2:2);
- б) смесь эритроцитов и сыворотки реципиента с желатином (в соотношении 1:2:2).

Проба на индивидуальную совместимость крови с использованием антиглобулинового реагента

Нельзя производить повторное замораживание-оттаивание антиглобулинового реагента. Для контроля качества антиглобулинового реагента целесообразно провести антиглобулиновый тест с резус-положительными эритроцитами, сенсибилизированными IgG (неполными) анти-D-антителами.

Ход определения.

Проводят пробу на индивидуальную совместимость крови с применением центрифугирования. Если не выявлено гемолиза и эритроциты образовали однородную суспензию после встряхивания пробирки, то:

- инкубируют пробирку при 37 °C в течение: 15 мин при использовании LISS либо 45 мин при использовании изотонического раствора;
- центрифугируют пробирку в течение 15–20 с при 2000–3000 об/мин;
- визуально определяют наличие гемолиза в надосадочной жидкости;
- аккуратно покачивая пробирку, ресуспендируют клеточный осадок и визуально определяют наличие агглютинатов. Наличие гемолиза и/или агглю-

тинатов свидетельствует об имеющихся у реципиента полных тепловых антител к антигенам эритроцитов донора;

- при отсутствии гемолиза и агглютинации тщательно 3—4 раза отмывают эритроциты, каждый раз используя 5—10 мл изотонического раствора;
- удаляют изотонический раствор;
- добавляют 1—2 каплю антиглобулинового реагента к осадку эритроцитов и тщательно перемешивают;
- центрифугируют 15—20 с при 2000—3000 об/мин;
- аккуратно ресуспендируют осадок эритроцитов и визуально определяют наличие или отсутствие агглютинации.
- визуально определяют наличие или отсутствие агглютинации эритроцитов. При отрицательном результате переносят каплю взвеси эритроцитов из пробирки на предметное стекло и микроскопируют при малом увеличении.

При выявлении агглютинации кровь донора и реципиента несовместима по антигенам эритроцитов.

В качестве отрицательных контрольных проб используют:

- а) смесь 5 % взвеси тест-эритроцитов с 0,9 % раствором натрия хлорида (в соотношении 1:2) — контроль на спонтанную агглютинацию;
- б) смесь 5 % взвеси тест-эритроцитов с антиглобулиновым реагентом (в соотношении 1:2) — контроль аутоенсибилизации.

Контроль активности антиглобулинового реагента (всегда положительная реакция) — смесь 5 % взвеси донорских эритроцитов группы 0(I) D⁺, сенсibilизированных антирезусной сывороткой (содержащей анти-D-антитела класса IgG) и антиглобулинового реагента (в соотношении 1:2).

Контроль специфичности антиглобулинового реагента (всегда отрицательная реакция) — смесь 5 % взвеси донорских эритроцитов группы 0(I) D[—] (после инкубации с антирезусной сывороткой в течение 45 мин) и антиглобулинового реагента (в соотношении 1:2).

Антиглобулиновый реагент хранят замороженным при –20 °C (сухой реагент можно хранить при комнатной температуре). Недопустимо повторное замораживание — оттаивание реагента.

Причины ложноположительных результатов:

- 1) присутствие аутоантител на поверхности тест-эритроцитов;
- 2) тест-эритроциты содержат микробные примеси;
- 3) нарушение режима центрифугирования (механическое повреждение мембраны эритроцитов при чрезмерной нагрузке).

Причины ложноотрицательных результатов:

- 1) тест-эритроциты плохо отмыты или остатки белков сыворотки присутствуют на стенках пробирки;
- 2) нарушение режимов отмывания или инкубации;
- 3) потеря активности сыворотки или тест-эритроцитов в процессе хранения;
- 4) низкая активность антиглобулинового реагента;
- 5) недостаточное время инкубации.

1.1.6. Исследование аллоантител к антигенам эритроцитов

1.1.6.1. Общие положения

На наличие аллоантител к антигенам эритроцитов исследуется кровь доноров с гемотрансфузиями и/или беременностями в анамнезе. При обнаружении аллоантител кровь или плазма донора не должна использоваться для переливания (допускается применение отмытых или размороженных эритроцитов). Сыворотку крови аллосенсибилизированных доноров целесообразно использовать для изготовления типизирующих реагентов.

Исследование аллоантиэритроцитарных антител у пациентов с гемотрансфузиями и/или беременностями в анамнезе проводится перед каждым переливанием эритроцитсодержащих сред.

У беременных женщин исследование сыворотки на содержание антител к антигенам эритроцитов проводят в первые 16–20 нед беременности, в случае отсутствия антител в сыворотке повторно — в 30–32 нед. При обнаружении антител или наличии в анамнезе гемотрансфузий, выкидышей, мертворождений, либо гемолитической болезни новорожденных исследование антител проводят в динамике ежемесячно, а также после родов.

При несовпадении с группой крови мужа у женщины с группой крови 0(I), A(II) или B(III) исследуют в сыворотке крови содержание иммунных анти-A и анти-B-антител.

При первичном скрининге сывороток на антитела к антигенам эритроцитов удобнее пользоваться образцами эритроцитов следующей специфичности:

- эритроциты групп крови A(II) и B(III) — для выявления иммунных анти-A, анти-B-антител;
- эритроциты группы крови 0(I), содержащие максимальный набор антигенов системы Резус и Келл (DCcEeKk) — для первичного поиска антител;
- эритроциты группы крови 0(I) фенотипа MN, MM, NN, P₁ — для выявления антител к антигенам систем MNS и P.

В случае отсутствия типированных консервированных эритроцитов для первичного поиска антител возможно использование смеси 5–7 образцов группы крови 0(I)D⁺ и 5–7 образцов 0(I)D[−].

Для установления специфичности антител, выявленных при первичном скрининге, необходимо использовать панель эритроцитов, включающую образцы:

DCcEeKk, CcEeKk, ccEEkk,
cseeKK, cseekk, Dcseekk

При установлении специфичности, как правило, необходимо типирование эритроцитов лица, в сыворотке которого обнаружены антитела.

1.1.6.2. Методы исследования антител к антигенам эритроцитов

Первичное исследование антител в сыворотках осуществляют реакцией конглоутинации с 10 % раствором желатина с образцами эритроцитов фенотипа DCcEeKk или смесью эритроцитов 5–7 доноров группы 0(I)D⁺ и 5–7 доноров 0(I)D[−], с оценкой результата при микроскопировании. В том случае, когда анти-

тела не выявились, а в анамнезе были множественные гемотрансфузии или осложнения беременности, исследование антител повторяют в антиглобулиновом тесте.

Если антитела к антигенам эритроцитов выявлены, специфичность их подтверждается в лаборатории, имеющей панель типированных эритроцитов, в антиглобулиновом тесте. Для получения более точных результатов целесообразнее посылать на типирование не только сыворотку, но и эритроциты лица, у которого обнаружены антитела.

При обнаружении антител к антигенам эритроцитов выписывают ответ, который переносится в донорский журнал или историю болезни. В ответе обязательно указывается, что в случае необходимости гемотрансфузионной терапии, индивидуальный подбор крови осуществляют с применением антиглобулинового теста. Бланк ответа остается у донора или больного, хранится в течение всей жизни и предъявляется при госпитализации.

Данные об эффективности использования различных методов определения антиэритроцитарных антител приведены в табл. 1-17.

Таблица 1-17

Эффективность различных методов исследования для обнаружения антител к антигенам эритроцитов в сыворотке крови человека
[Климова К. Н. и соавт., 1990]

Специ- фичность	Методы выявления			
	на плоскости в солевой среде	экспресс с 33 % полиглюкином	конглоутинация с желати- ном с микроскопированием	антиглобули- новый тест
AB0	+	+-	+	-
DCE	++	+-	+	+
Kell	++	+-	+	+
Duffy, Kidd	-	-	-	+
S	++	-	-	+
Lewis	+	+	+	+
P ₁	+	+	+	++
M, N, H	+	++	+	++

Метод выявления антител с применением 33 % раствора полиглюкина мало пригоден для поиска антиэритроцитарных антител: во-первых, метод не позволяет выявлять антитела любой специфичности, присутствующие в сыворотке в низком титре, во-вторых, не обеспечивает выявления антител специфичности Даффи и Кидд, а также некоторых других систем.

Метод с применением желатина с учетом результата при микроскопировании позволяет выявить большинство специфичностей антител, в том числе и присутствующих в сыворотках в низком титре. Однако нужно помнить, что встречаются антитела (кроме антител системы AB0, MNS, P), взаимодействующие с эритроцитами только в антиглобулиновом тесте.

Определение антител с применением 33 % раствора полиглюкина и желатина аналогично приведенному в разделе «Проведение пробы на индивидуальную совместимость крови донора и реципиента». В качестве тест-эритроцитов используют панель стандартных типированных эритроцитов или смесь эритроцитов от 4—5 доноров с резус-положительной и от 4—5 доноров с резус-отрицательной принадлежностью крови группы 0(I). Тест-эритроциты не должны содержать аутоантител (прямой антиглобулиновый — отрицательный).

Длительность и трудоемкость выполнения антиглобулинового теста в обычной постановке затрудняет возможность его применения для широкого использования при поиске антител. Для сокращения времени проведения исследования и повышения его чувствительности целесообразно использовать модификации антиглобулинового теста: 1) с использованием раствора низкой ионной силы (LISS); 2) «спин»-метод.

Непрямой антиглобулиновый тест с использованием раствора низкой ионной силы (LISS)

Приготовление LISS:

- 1) 9 г глицина растворить в 250 мл дистиллированной воды, к нему по каплям добавлять 0,1 М раствор NaOH до pH 6,7;
- 2) приготовить 0,15 М раствор NaH_2PO_4 (1,8 г соли на 100 мл дистиллированной воды);
- 3) приготовить 0,15 М раствор Na_2HPO_4 (2,13 г соли растворить в 100 мл дистиллированной воды);
- 4) смешать растворы (2) и (3) до pH 6,7. Взять 10 мл смеси;
- 5) 0,89 г натрия хлорида растворить в 50 мл дистиллированной воды;
- 6) смешать 250 мл раствора (1), 10 мл раствора (4) и 50 мл раствора (5);
- 7) довести объем до 500 мл дистиллированной водой.

Приготовленный таким образом раствор разливают по 50 мл во флаконы, закрывают резиновыми пробками, завальцовывают и стерилизуют 30 мин при 1,2 атм. Стерильный раствор может храниться при 4 °С в течение 2 лет.

Контроль качества реактива проводится визуально: бесцветный, прозрачный раствор пригоден для использования; при появлении хлопьев раствор использовать нельзя.

Проведение непрямого антиглобулинового теста с LISS

Ход определения:

- эритроциты отмывают 1 раз 0,9 % раствором натрия хлорида и 1 раз LISS, объем добавляемых растворов должен быть в 20 раз больше объема эритроцитов;
- готовят рабочую (10—20 %) взвесь эритроцитов в LISS;
- в пробирке смешивают: 1 объем взвеси стандартных эритроцитов и 2 объема исследуемой сыворотки;
- в качестве отрицательного контроля используют сыворотку, заведомо не содержащую антиэритроцитарные антитела;
- в качестве положительного контроля используют сыворотку, заведомо содержащую антитела к антигенам тест-эритроцитов;

- опыт и контроли инкубируют 7 мин на водяной бане при температуре 46—48 °С;
- после инкубации эритроциты отмывают 3—4 раза 100-кратным избытком 0,9 % раствора натрия хлорида. О правильности отмывания эритроцитов свидетельствует отрицательная проба на белок в надосадочной жидкости с 20 % раствором сульфосалициловой кислоты;
- готовят 10 % взвесь отмывых сенсibilизированных эритроцитов в растворе 0,9 % натрия хлорида;
- смешивают на плоскости 1 каплю 10 % взвеси эритроцитов и 2 капли антиглобулиновой сыворотки. Результат оценивают в течение 10 мин при покачивании планшета.

Наличие агглютинации в опытной пробе свидетельствует о содержании в исследуемой сыворотке антител к антигенам эритроцитов. Установить специфичность этих антител можно только при использовании панели типированных эритроцитов. Отсутствие агглютинации (гомогенное окрашивание капли) — исследуемая сыворотка не содержит антител к антигенам эритроцитов.

«Спин»-метод для оценки результатов прямого и непрямого антиглобулиновых тестов

В качестве контроля в «спин»-методе используют: для непрямого антиглобулинового теста смесь 1 объема отмывых 4—5 раз исследуемых эритроцитов и 2 объемов антиглобулиновой сыворотки, а для прямого антиглобулинового теста — смесь 1 объема отмывых 4—5 раз исследуемых эритроцитов и 2 объемов 0,9 % раствора натрия хлорида. Обе контрольные пробы центрифугируют в течение 1 мин при 1000 об/мин. Контроли должны быть всегда отрицательными и свидетельствовать о соблюдении режима центрифугирования.

Ход определения:

- смешивают в пробирке 1 объем 5 % взвеси отмывых сенсibilизированных эритроцитов и 2 объема антиглобулиновой сыворотки;
- центрифугируют пробирку со смесью 1 мин при 1000 об/мин;
- пробирку встряхивают и визуально оценивают результаты исследования, а при получении отрицательного результата — каплю исследуемой взвеси переносят на стекло и микроскопируют при малом увеличении.

Наличие агглютинации при визуальном или микроскопическом наблюдении свидетельствует о положительном результате: исследуемые эритроциты сенсibilизированы антителами. Отсутствие агглютинации свидетельствует об отрицательном результате: эритроциты антителами не сенсibilизированы.

1.1.6.3. Рациональный подход к определению аллоантиэритроцитарных антител у доноров и реципиентов гемокomпонентов

Аллосенсibilизация антигенами эритроцитов является одной из причин тяжелых посттрансфузионных реакций и осложнений в лечебных учреждениях [Минеева Н. В., 1991; Мороков В. А., 1992; Жибурт Е. Б., 1995]. Для обеспечения безопасности гемотрансфузионной терапии важное значение имеет своевременное выявление аллоантиэритроцитарных антител у доноров и реципиентов гемокomпонентов. В то же время определение антител требует значительных затрат

труда реактивов, поэтому необходим рациональный подход к проведению такого скрининга. Целью исследования явилось сопоставление различных методов определения аллоантиэритроцитарных антител для оптимизации мониторинга аллоиммунизации доноров и реципиентов гемокомпонентов.

Материалом для исследования служили 166 образцов сыворотки крови доноров гемокомпонентов и 64 образца сыворотки крови больных (32 кардиохирургических, 18 гематологических пациентов и 14 пострадавших с глубокими ожогами) после проведения гемотрансфузионной терапии. В среднем пациентам переливали 10–12 доз отмытых эритроцитов или эритроцитарного концентрата. Скрининг полных аллоантиэритроцитарных антител проводили методом агглютинации в солевой среде [Инструкция..., 1990]. Неполные аллоантитела определяли экспресс-методом с применением 33 % раствора полиглюкина (ЭМП) [Инструкция..., 1990], методом конглоутинации с применением 10 % раствора желатина и с микроскопированием проб на этапе оценки результатов исследования (МКЖ) [Инструкция..., 1990; Климова К. Н. и др., 1990], а также в непрямом антиглобулиновом тесте (НАТ). Использовали 3 варианта НАТ: традиционную методику на плоскости с применением полиспецифической антиглобулиновой сыворотки (производство Республиканского центра изосерологических стандартов, Нижний Новгород) [Инструкция..., 1990], «спин»-метод (СМ) с применением реактива анти-IgG (РНИИ гематологии и трансфузиологии, Санкт-Петербург) [Климова К. Н. и др., 1990] и гелевый тест (ГТ) [Lapierre Y. et al., 1990] с использованием типизирующей диагностической системы DiaMed (DiaMed AG, Швейцария). Для скрининга антител использовали консервированные тест-эритроциты, содержащие максимальный набор антигенов системы Резус и Келл (DCcEeKk). При определении антител традиционными методами (ЭМП, МКЖ, НАТ и СМ) использовали также смеси нативных эритроцитов 7–10 образцов группы крови 0(I) Rh+ и 7–10 образцов группы крови 0(I) Rh-.

Для выполнения НАТ в традиционном варианте 10 мкл отмытых тест-эритроцитов смешивали с 150 мкл исследуемой сыворотки и инкубировали 45 мин при температуре 37 °С, затем тест-эритроциты отмывали 4 раза стерильным изотоническим раствором в течение 5 мин при 1000 об/мин и готовили 5 % взвесь эритроцитов. 50 мкл полученной взвеси клеток смешивали на белой пластинке с 50 мкл антиглобулиновой сыворотки. Инкубировали при комнатной температуре в течение 10 мин и оценивали наличие агглютинации.

При выполнении СМ тест-эритроциты готовили таким же способом. 50 мкл 5 % взвеси тест-эритроцитов смешивали со 100 мкл реактива анти-IgG и центрифугировали в течение 1 мин при 1000 об/мин. Каплю этой смеси переносили на предметное стекло и оценивали результат путем микроскопирования по наличию и отсутствию реакции агглютинации.

Все исследования проводили с одновременной постановкой контрольных (положительной и отрицательной) проб.

Для выявления антител в ГТ (из трех доступных вариантов) как наиболее подходящие для скрининга выбрали ID-карты LISS/Coombs с 6 микропробирками, содержащими гель с полиспецифическим антиглобулином (анти-IgG кролика и моноклональный C3d). В каждую микропробирку помещали 50 мкл тест-эритроцитов, добавляли 25 мкл исследуемой сыворотки, инкубировали 15 мин при температуре 37 °С и центрифугировали (центрифуга ID-6S, входит в комплект оборудования DiaMed, стандартный заданный режим центрифугирования – 10 мин) (табл. 1-18 и 1-19).

**Антигенный профиль стандартных эритроцитов
ID-DiaCell I+II+III и ID-DiaCell I+II+III-P**

№	Антиген	Rh-hr							Kell					Duffy	
		D	C	E	c	e	C	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Js ^a	Js	Fy	Fy
I	CCD.ee R1 R1	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+
II	ccD.EE R2 R2	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+
III	ccddeee rr	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0

Таблица 1-19

**Характеристика методов скрининга антител с использованием
стандартных эритроцитов ID-DiaCell**

Параметры	Непрямой антиглобулиновый тест DiaMed-ID (карта LISS/Coombs)	Ферментный тест DiaMed-ID (карта NaCl/Enzyme)	Солевой тест для холдовой агглютинации DiaMed-ID (карта NaCl/Enzyme)	Тест конгломинации с желатином
Время инкубации, мин	15	15	30	10
Температура инкубации, °C	37	37	2—8	48
Специфичность	+	+	+	+

Скрининг неполных аллоантиэритроцитарных антител у доноров проводили МКЖ с применением микроскопирования. Данный метод позволяет выявлять антитела различной специфичности (AB0, Резус, Келл, Льюис, Р, MN и др.), в том числе присутствующие в сыворотках в низком титре [Климова К. Н. и др., 1990].

Для исследования сыворотки крови больных на наличие неполных аллоантител к антигенам эритроцитов использовали не менее двух методов для каждого образца (всего 156 определений: МКЖ — 54, ЭМП — 31, НАТ — 28, СМ — 26, ГТ — 17).

Аллоиммунизация антигенами эритроцитов обычно связана с гемотрансфузиями или беременностями [Групповые системы..., 1989], поэтому на первом этапе работы по организации скрининга аллоантиэритроцитарных антител проводили разделение доноров на две группы с помощью специальных карт опроса. Форма карты опроса представлена на рис. 1-2.

Контроль аллоиммунизации осуществляли только в группе «потенциально опасных» доноров, т. е. лиц, имевших в анамнезе гемотрансфузии и/или беременности. Для Центра крови и тканей Военно-медицинской академии доля этой группы составляет всего 2,5—3 %. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности избирательного мониторинга аллоиммунизации доноров гемокомпонентов.

Ф.И.О. _____	Возраст _____
Группа крови _____	Резус-принадлежность _____
Количество гемотрансфузий _____	
Вид гемокомпонента _____	
Срок (последняя гемотрансфузия) _____	
Количество беременностей _____	
Срок _____	Исходы _____

Рис. 1-2. Карта опроса донора.

Одним из важнейших мероприятий по организации мониторинга аллоиммунизации доноров и реципиентов гемокомпонентов является правильный выбор методов определения аллоантител, поскольку от этого в значительной мере зависит качество исследований. На втором этапе работы была проведена сравнительная оценка эффективности различных методов определения неполных антител к антигенам эритроцитов (табл. 1-20). Результаты проведенных исследований показали преимущество ГТ перед традиционными методиками. Как видно из табл. 1-20, ГТ имеет наибольшую чувствительность: титр антител контрольной сыворотки, определенный данным методом, составил 1:128 (7-я ступень разведения сыворотки). Чувствительность СМ также является достаточно высокой (6-я ступень разведения контрольной сыворотки), однако трудоемкость данного метода и высокая стоимость реактива анти-IgG ограничивают возможности широкого применения СМ в клинической практике. При определении аллоантител в контрольной сыворотке другими традиционными методами титр был на 3 ступени ниже, чем в гелевом тесте. Наименее чувствительным оказался ЭМП: титр антител контрольной сыворотки, определенный данным методом, не превышал 1:2.

Таблица 1-20

Эффективность различных методов диагностики аллоиммунизации антигенами эритроцитов

Методы	Чувствительность*	Специфичность	Время (мин)	Объемы (мкл)		Специальное оборудование
				сыворотка	эритроциты	
С полиглобулином (ЭМП)	1	—	10—12	100	50 (50 %)	—
С желатином (МКЖ)	4	—	15—17	100	50 (50 %)	Водяная баня, микроскоп
Непрямой антиглобулиновый тест на плоскости (НАТ)	4	—	85—90	150	10 (50 %)	Центрифуга, термостат
«Спин»-метод	6	—	70—75	150	10 (50 %)	Центрифуга, термостат, микроскоп
Гелевый тест	7	—	27—30	25	50 (1 %)	Система DiaMed

Примечание:

* титр в степенях разведения контрольной сыворотки;

** наличие неспецифических реакций.

Сравнение чувствительности методов, приведенное в табл. 1-20, дано на примере одной контрольной сыворотки, содержащей неполные антитела к антигену D системы Резус. Выявленная закономерность в различиях чувствительности указанных методов сохранялась и при тестировании других контрольных сывороток (14 образцов), содержащих антитела к антигенам систем Резус и Келл.

Таким образом, проведенные исследования показали, что наиболее эффективным методом диагностики аллоиммунизации является ГТ с применением типизирующей системы DiaMed. Это — высокочувствительный и специфичный метод [Lillevang S. T. et al., 1994; Nathalang O. et al., 1997; Redman M. et al., 1996], дающий возможность контроля качества исследований и документации результатов скрининга аллоантител [Lapierre Y. et al., 1990]. Кроме того, ГТ обеспечивает значительную экономию времени по сравнению с другими вариантами НАТ и позволяет использовать минимальное количество исследуемой сыворотки крови (25 мкл) и тест-эритроцитов (50 мкл 1 % взвеси) для проведения исследования (см. табл. 1-20) [Насретдинова З. М., 1999].

Фактором, затрудняющим широкое использование ГТ, является высокая стоимость типизирующей системы DiaMed, поэтому для первичного скрининга аллоантител у доноров и реципиентов целесообразно использовать более доступные для ординарных лечебных учреждений традиционные методы. Наиболее эффективным из используемых в настоящее время рутинных методов, по нашей оценке, является МКЖ с применением микроскопирования на этапе трактовки результатов исследования. Большое количество исследований, проведенных данным методом, показало, что микроскопирование проб позволяет повысить чувствительность этого метода в 10–15 раз при сохранении его достаточно высокой специфичности. Методы с повышенной чувствительностью (СМ и ГТ) целесообразны при обследовании гематологических больных, беременных женщин и т. д., а также доноров компонентов крови для специальных контингентов реципиентов с высоким риском аллоиммунизации [Жибурт Е. Б. и др., 1998].

На третьем этапе исследований разработанная система обеспечения мониторинга была опробована при изучении частоты аллоиммунизации доноров и реципиентов гемокомпонентов. Под наблюдением находились 3 группы лиц (табл. 1-21): 1) реципиенты гемокомпонентов — больные гематологическими и хирургическими заболеваниями, а также с термическими поражениями; 2) кадровые доноры плазмы — контрольная группа; 3) доноры-родственники — лица, имевшие гемотрансфузии и/или беременности.

Таблица 1-21

**Частота аллоиммунизации доноров и реципиентов
гемокомпонентов антигенами эритроцитов**

Группа обследуемых	n	Частота аллоиммунизации	
		m	%
Кадровые доноры	50	0	0
Доноры-родственники	116	2	1,7
Реципиенты гемокомпонентов	64	7	10,9

В результате проведенных исследований в сыворотках крови 5 кардиохирургических и 2 гематологических больных были выявлены иммунные аллоантитела к антигенам эритроцитов. Частота аллоиммунизации реципиентов составила 10,9 %. В группе «потенциально опасных» доноров частота аллоиммунизации составила 1,7 %. В контрольной группе доноров аллоантитела к антигенам эритроцитов не обнаружены. Высокая частота аллоиммунизации реципиентов свидетельствует о том, что необходимо учитывать возможность иммунного конфликта по антигенам эритроцитов у больных, получающих гемотрансфузии. Поэтому необходимо своевременное выявление аллоиммунизации у таких больных.

Проведение гемотрансфузий аллоиммунизированным реципиентам должно осуществляться только по индивидуальному подбору с учетом антигенного состава эритроцитов [Mollison P. L. et al., 1987]. Обязательным является также мониторинг аллоиммунизации доноров, имевших гемотрансфузии или беременности. В случае обнаружения аллоантиэритроцитарных антител цельная кровь или плазма таких доноров должны исключаться из числа гемотрансфузионных сред и использоваться только для изготовления диагностических реактивов [Ионова А. И. и др., 1999].

Таким образом, разработанная и опробованная система обеспечения мониторинга аллоиммунизации доноров и реципиентов гемокомпонентов позволяет с минимальными затратами обеспечить безопасность гемотрансфузионной терапии в лечебных учреждениях.

1.1.7. Нормирование труда при проведении иммуногематологических исследований

Условием эффективной работы службы крови является соответствие задачам подразделений их организационно-штатной структуры и загруженности персонала.

Нормирование времени на выполнение клинических лабораторных исследований регламентировано приказом министра здравоохранения Российской Федерации № 380 от 25.12.97 «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения Российской Федерации».

Расчетные нормы времени на проведение лабораторных исследований в службе крови приведены в табл. 1-22—1-24.

Затраты рабочего времени включают время основной деятельности (проведение исследования), вспомогательную деятельность (подготовка реактивов и оборудования), работу с документацией, служебные переговоры.

Для удобства расчетов считают, что каждый сотрудник ежедневно должен выполнять объем работ на 1000 усл. ед. Таким образом, трудозатраты на проведение одного исследования составляют

1000 : количество исследований в день.

Например, ежедневно один человек осуществляет определение групп крови простой реакцией у 200 человек, норма трудозатрат на одно исследование составит 5 усл. ед.

В табл. 1-25 приведены средние данные ежедневного объема труда одного сотрудника по основным видам работ, осуществляемых в лаборатории, а также нормы трудозатрат на их проведение.

Годовой бюджет рабочего времени при 5-дневной рабочей неделе составляет 232 рабочих дня (из 365 вычитается 105 выходных и 8 праздничных дней, 20 дней отпуска); при 36-часовой рабочей неделе годовой бюджет рабочего времени равен 100 224 мин, при 38,5-часовой рабочей неделе — 107 184 мин.

Таблица 1-22

Расчетные нормы времени на отдельные трудовые операции при проведении лабораторных исследований

№	Наименование трудовой операции	Время, с
1.	Пипетирование	
1.1.	стеклянными пипетками	17
1.2.	полуавтоматическими пипетками	14
1.3.	дозаторами	5
1.4.	дозирование бюреткой	10
2.	Измерение на ФЭК	
2.1.	подготовка ФЭК к работе	120
2.2.	измерение на ФЭК	30
3.	Микроскопия	
3.1.	подготовка микроскопа к работе	105

Таблица 1-23

Расчетные нормы времени на клинические лабораторные исследования

№	Наименование исследования	Время на 1 исследование, затраченное специалистами (в мин)	
		со средним образованием	с высшим образованием
1	2	3	4
1.	Гематологические и цитохимические исследования		
1.1	Взятие крови из пальца для гематологических исследований		
1.1.1.	5 показателей: гемоглобин, подсчет эритроцитов, лейкоцитов, лейкоцитарной формулы, СОЭ	4	—
1.1.2.	одного гематологического показателя (например, гемоглобин, лейкоциты и др.)	2	—
1.2.	Регистрация (предварительная и окончательная) ручная (в журналах, бланках) и на компьютере	4,5	—

1	2	3	4
1.3.	Определение гемоглобина гемиглобинцианидным методом — единичное — каждое последующее	4 2,5	— —
1.4.	Подсчет эритроцитов в крови:		
1.4.1.	в счетной камере — единичное — каждое последующее	9,5 7	— —
1.4.2.	с помощью полуавтоматического счетчика, целлоскопа, гемо- цитометра — единичное — каждое последующее	4 2	— —
1.5.	Определение гематокритной величины (показателя)	6,5	—
1.6.	Расчет средней концентрации гемоглобина в эритроците		
1.6.1.	по формуле	—	1
1.6.2.	с помощью номограммы	—	1
1.7.	Расчет среднего содержания гемоглобина в эритроците		
1.7.1.	по формуле	—	1
1.7.2.	с помощью номограммы	—	1
1.8.	Расчет среднего объема эритроцитов		
1.8.1.	по формуле	—	1
1.8.2.	с помощью номограммы	—	1
1.9.	Измерение диаметра эритроцитов в окрашенном мазке оку- ляр-микрометром	—	20
1.10.	Построение графика распределения эритроцитов по величине диаметра (кривая Прайс-Джонса)	—	16
1.11.	Подсчет ретикулоцитов (с окрашиванием в пробирке) — единичное — каждое последующее	5 3	9 7
1.12.	Подсчет эритроцитов с базофильной зернистостью	3	13
1.13.	Подсчет тромбоцитов в окрашенных мазках по Фонио — единичное — каждое последующее	7 2	11 9
1.14.	Подсчет тромбоцитов фазово-контрастным методом		20
1.15.	Определение скорости оседания эритроцитов (СОЭ)	2	—
1.16.	Подсчет лейкоцитов		
1.16.1.	в счетной камере — единичное — каждое последующее	6,5 5	— —

1	2	3	4
1.16.2.	в счетной камере для гематологических больных — единичное — каждое последующее	11,5 10	— —
1.16.3.	С помощью полуавтоматического счетчика типа Пикоскель, целлоскоп и др. — единичное — каждое последующее	3 1,5	— —
1.17.	Подсчет лейкоцитарной формулы с описанием морфологии форменных элементов крови — единичное — каждое последующее	5 1	7,5 6
1.17.1.	Подсчет лейкоцитарной формулы с описанием морфологии форменных элементов крови для гематологических больных — единичное — каждое последующее	5 1	13,5 12
1.18.	Подсчет миелокариоцитов — единичное — каждое последующее	— —	14 12
1.19.	Подсчет миелограммы	5	60
1.20.	Подсчет миелокариоцитов в счетной камере	—	14
2.	Биохимические исследования		
2.1.	Обработка венозной крови:		
2.1.1.	— при получении плазмы	3	—
2.1.2.	— при получении сыворотки	3	—
2.1.3.	— регистрация (предварительная и окончательная) ручная или на компьютере	4,5	—
2.2.	Определение общего белка сыворотки крови		
2.2.1.	биуретовой реакцией — единичное — каждое последующее	5 2	— —
2.2.2.	на рефрактометре	1	—
2.3.	Определение альбумина в сыворотке крови с БКЗ — единичное — каждое последующее	7 5	— —
2.4.	Определение белковых фракций сыворотки крови		
2.4.1.	методом электрофореза на бумаге — единичное — каждое последующее	— —	17 12
2.4.2.	методом электрофореза на пленках из ацетата целлюлозы — единичное — каждое последующее	— —	43 4

1	2	3	4
2.5.	Определение билирубина и его фракций (методом Иендраше-ка—Клеггорн—Грофа) — единичное — каждое последующее	8 5	— —
2.6.	Определение активности аланинаминотрансферазы в сыво-ротке крови методом Райтмана—Френкеля — единичное — каждое последующее	6 3	— —
3.	Показатели состояния гемостаза		
3.1.	Определение активированного времени рекальцификации плазмы с суспензией каолина — единичное — каждое последующее	20 11	— —
3.2.	Определение протромбинового (тромбопластинового) време-ни с тромбопластинкальцевой смесью — единичное — каждое последующее — взятие крови из пальца	3 2 2	— — —
3.3.	Определение содержания фибриногена в плазме крови весо-вым методом — единичное — каждое последующее	9 6,5	— —
3.4.	Агрегация тромбоцитов, стимулированная АДФ	5	10
4.	Иммунологические исследования		
4.1.	Обработка венозной крови (получение сыворотки)	3	—
4.2.	Регистрация материала предварительная и окончательная, включая регистрацию на компьютере	4,5	—
4.3.	Определение групп крови по системе АВ0 с помощью стан-дартных сывороток или перекрестным способом в капилляр-ной крови: — единичное — каждое последующее в венозной крови: — единичное — каждое последующее	3 3 — —	13 8 13 8
4.4.	Определение групп крови с использованием цоликлона — единичное — каждое последующее	— —	11 7
4.5.	Определение резус-фактора методом конглоутинации с при-менением желатина или экспересс-методом в капиллярной крови: — единичное — каждое последующее в венозной крови: — единичное — каждое последующее	3 3 — —	12 7 12 7

1	2	3	4
4.6.	Определение неполных резус-антител методом конглотинации с применением желатина — единичное — каждое последующее определение титра — единичное — каждое последующее	— — — —	35 10 40 7
4.7.	Прямая проба Кумбса — единичное — каждое последующее	— —	40 7
4.8.	Непрямая проба Кумбса — единичное — каждое последующее	— —	70 11
4.9.	Определение функциональной активности Т- и В-лимфоцитов и других клеток в периферической крови:		
4.9.1.	методом Е-розеткообразования — на приготовление гемосистемы 1 раз в неделю	16 180	11 —
4.10.	Определение концентрации основных классов и подклассов иммуноглобулинов:		
4.10.1.	методом РИД с приготовлением и заливкой агара, построением калибровочной кривой: — единичное — каждое последующее с использованием готовых иммунодиффузионных планшет	35 2 2	10 6 6
4.11.	Определение фагоцитарной активности лейкоцитов		
4.11.1.	НСТ-тест	16	11
4.12.	Определение аутоантител (к тиреоглобулину, микросомальной фракции тироцита, ДНК, гистоновым белкам, коллагенам, экстрагируемым ядерным антигенам, кардиолипину, миелину, фосфатидилсерину, антигенам спермы, ряду основных аутоантигенов (печень, почки, сердце, желудок и др.), ревматоидного фактора, антинуклеарного фактора и др.)		
4.13.	РПГА — единичное — каждое последующее	10 2	10 3
4.14.	Определение антител к вирусным и бактериальным антигенам (токсоплазма, краснуха, цитомегаловирус, герпес и др.): методом ИФА единичное исследование: — автоматизированный расчет — полуавтоматизированный расчет одно исследование в серии: — автоматизированный расчет — полуавтоматизированный расчет	12 12 4 4	7 8 2 3
4.15.	Определение вирусных и бактериальных антигенов:		

1	2	3	4
4.15.1.	методом ИФА одно исследование в серии: — автоматизированный расчет — полуавтоматизированный расчет	4 4	2 3
4.15.2.	методом генной диагностики (ПЦР) — единичное — каждое последующее	— —	180 90

Таблица 1-24

Расчетные нормы времени на проведение микробиологических исследований в лабораториях клинической микробиологии (бактериологии) в лечебно-профилактических учреждениях неинфекционного профиля

№	Наименование исследований	Норма времени в лаб. ед. (10 мин) на 1 анализ	В том числе время специалиста	
			с высшим образованием	со средним образованием
5.1.	Исследования на аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы			
5.1.1	Кровь			
5.1.1.1	Культуральное исследование			
5.1.1.1.1.	при отсутствии микроорганизмов	1,8	0,64	1,16
5.1.1.1.2.	при выделении микроорганизмов с изучением морфологических свойств	2,8	1,04	1,76
5.1.1.2.	рода стафилококка	4,6	1,59	2,94
5.2.	Исследования на облигатно-анаэробные бактерии			
5.2.1.	Кровь			
5.2.1.1.	Микроскопия окрашенных препаратов нативного материала (окраска по Граму)	2,0	0,9	1,1
5.2.1.2.	Культуральное исследование			
5.2.1.2.1.	при отсутствии микроорганизмов	3,0	1,0	2,0
5.2.1.2.2.	при выделении микроорганизмов с изучением морфологических свойств	4,0	1,5	2,5
5.4	Отдельные виды лабораторных работ			
5.4.1.	Приготовление плотной и жидкой питательных сред на одну емкость (чашку, пробирку)	0,2		0,2

Нормирование труда работников, производящих изосерологические исследования [Климова К. Н., Минеева Н. В., 1991]

Наименование процедур	Ежедневный объем труда од- ного сотрудника (количество ис- следований)	Норма трудозатрат на 1 исследование в условных едини- цах или на 1 л про- дукции
1	2	3
Исследование групп крови по системам ABO и резус		
Определение групп крови простой реакцией	200	5,0
Определение групп крови двойной реакцией	130	7,7
а) сложный для диагностики случай	3	334
Определение антигена D экспресс-методом в пробирках без подогрева	150	6,6
Определение антигена D на плоскости без подогрева	120	8,3
Определение антигена D конглотинацией с желатином	120	8,3
Определение антигена D солевой агглютинацией	100	10
Определение антигена D реакцией Кумбса (сложнодиагностируемый случай)	10	100
Типирование антител и антигенов эритроцитов		
Типирование антител эритроцитов конглотинацией с желатином с панелью сывороток	20	50
Типирование антигенов эритроцитов солевой агглютинацией, а также экспресс-методом с полиглокином с панелью сывороток	20	50
Типирование антигенов эритроцитов в антиглобулиновом тесте с панелью сывороток	10	100
Выявление иммунных антител системы ABO с унитиолом	100	10
Выявление антиэритроцитарных антител желатиновой методикой без установления специфичности	100	10
Выявление антител к антигенам эритроцитов солевой агглютинацией, а также желатиновым методом с установлением специфичности панелью эритроцитов	20	50
Определение антител непрямым антиглобулиновым тестом с одним образцом эритроцитов	25	40
Выявление аутоантител к антигенам эритроцитов (прямая реакция Кумбса) — прямой антиглобулиновый тест	70	15

1	2	3
Подбор совместимой крови для переливания		
Подбор крови для переливания, совместимой по антигенам эритроцитов, желатиновой методикой (без типирования)	20 пациентов	50
Подбор крови для переливания, совместимой по антигенам эритроцитов, непрямым антиглобулиновым тестом (без типирования)	7 пациентов	143
Подбор крови для переливания с учетом антигенов и антител реципиента и донора с типированием антигенов и с установлением специфичности антител	4 пациента	250
Исследование причины посттрансфузионных осложнений	4 пациента	250
Иммунизация доноров	10 человек	1000
Изготовление изосерологических стандартов		
Приготовление стандартных ампулированных эритроцитов без предварительного типирования	—	1000
Приготовление стандартных ампулированных эритроцитов с предварительным типированием	—	2000
Приготовление консерванта для стандартных эритроцитов (во флаконах)	—	143
Приготовление сывороток АВ0	—	2500
Приготовление сывороток антирезус (анти-D, DC) из цельных без удаления анти-A, анти-B-антител	—	2500
Приготовление сывороток антирезус с предварительной сорбцией эритроцитами или амниотической жидкостью	—	3000
Приготовление сывороток антирезус с использованием фракционирования	—	3500
Приготовление сыворотки к антигенам эритроцитов «редкой» специфичности (анти-C, анти-E, анти-s, анти-Келл и т. д.)	—	3500 (1 серия объемом 30—250 мл)
Приготовление 33 % полиглюкина	—	1000
Организационно-методическая работа		
Обучение специалистов на рабочем месте, проведение занятий	—	1000 (за день занятий)
Проверка деятельности ОПК и ЛПУ		1000

Расчет штатной численности лаборатории целесообразно производить, определяя среднемесячный (или среднегодовой) объем работ, для чего суммируют

произведения объема каждого вида работ на норму трудозатрат и полученный результат делят на среднее количество рабочих дней в месяц, умноженное на 1000.

Например, в течение месяца (24 рабочих дня) проведено исследование АВ0 и резус-принадлежности у 4000 доноров, типировано 80 образцов крови по антигенам эритроцитов, следовательно:

$$(4000 \times 7,7 + 4000 \times 6,6 + 80 \times 50) : 24 \times 1000 = 2,6,$$

Таким образом, для обеспечения указанного объема работ необходимо иметь 2,6 ставки.

Учитывая различия в работе лабораторий учреждений службы крови и госпиталей, при расчете штатной численности лабораторий последних следует использовать коэффициент 1,5.

Оптимальное соотношение ставок врачей, лаборантов и санитарок в лаборатории службы крови — 1:2:0,5. Однако с учетом кадрового состава и особенностей конкретного учреждения это соотношение может изменяться.

1.2. Метод агглютинации в геле для определения антигенов эритроцитов и антиэритроцитарных антител

1.2.1. Введение

Гелевая технология в микропробирках (ГТМ) была предложена Y. Lariette в 1989 г. Метод основан на агглютинации эритроцитов в агаровом геле «сефалекс», помещенном в микропробирки. Обычно система представляет собой пластиковые карты, содержащие микропробирки, заполненные гелем (патент DiaMed AG, Швейцария). Иммуногематологические исследования, основанные на реакции гемагглютинации, обычно проводятся в жидкофазных системах. Одним из наиболее важных условий получения корректных данных реакции агглютинации является оценка результата. Слабая реакция может быть неверно интерпретирована, особенно неопытным персоналом. Ложные слабые или отрицательные результаты непрямого антиглобулинового теста могут иметь место за счет нейтрализации антиглобулинового реагента следами сыворотки вследствие недостаточно эффективного отмывания эритроцитов. Неадекватное перемешивание эритроцитов и элюция слабофиксированных антител в процессе отмывания могут стать причиной ошибок при проведении непрямого антиглобулинового теста. Методика агглютинации в геле была разработана с целью стандартизации реакций гемагглютинации и получения достоверных результатов. Гелевая технология предусматривает разделение эритроцитов при центрифугировании, при этом неагглютинированные эритроциты проходят через гель и оседают на дне пробирок (отрицательный результат), в то время как агглютинированные эритроциты задерживаются на поверхности или в толще геля (положительный результат). Центрифугирование в геле может быть конечной фазой любых серологических исследований, основанных на реакции гемагглютинации, кроме методов, требующих диспергирования для оценки результата.

Диапазон выполняемых тестов включает в себя определение фенотипа эритроцитов (включая слабые варианты антигенов), антиглобулиновый тест, скрининг и идентификацию антител, тесты на совместимость и некоторые другие.

Англоязычные термины, встречающиеся при описании идентификационных карт

ANH	— античеловеческий глобулин
Confirmation	— подтверждение, подтверждающий тест
Coombs	— Кумбс
Ctl	— контроль
DiaClon	— моноклональные
Enzyme	— фермент
LISS	— раствор низкой ионной силы
Neg	— негативный (отрицательный)
Newborns	— новорожденные
Phenotype	— фенотип
Pos	— позитивный (положительный)
Subgroups	— подгруппы

1.2.2. Принцип гелевого теста

Забуференный декстрановый гель Sephadex™ G 100 superfine может быть как нейтральным, так и содержащим специфические антисыворотки или антиглобулиновый реагент на гелевом матриксе. На гель наносятся эритроциты или смесь эритроцитов и сыворотки. Клетки всегда вносятся перед сыворотками — в отличие от стандартных серологических методик — с тем чтобы тестируемые сыворотки не контактировали с гелем, что особенно важно при проведении антиглобулинового теста. После инкубации следует центрифугирование в строго определенном режиме. Если условия центрифугирования не выполняются (центрифугирование недостаточно длительное или слишком мягкое) могут иметь место ложноположительные результаты. Ложноотрицательные результаты также могут иметь место при нарушении условий (форсировании) центрифугирования. Использование автоматической ID-центрифуги (DiaMed), устраняет эти проблемы. Для проведения тестов обычно используются три вида геля:

- 1) нейтральный, не содержащий специфических антител (применяется для поиска и идентификации антител солевым и ферментным методами, холодовой стадии пробы на совместимость крови донора и реципиента);
- 2) специфический, содержащий антитела (моноклональные или поликлональные) к антигенам эритроцитов крови человека (применяется для типирования антигенов эритроцитов систем АВ0, Резус, Келл и т. д.)
- 3) антиглобулиновый, содержащий антитела (полиспецифические или моноспецифические) к иммуноглобулинам человека и компонентам системы компонента (применяется для прямого и непрямого антиглобулинового теста (реакции Кумбса) при поиске и идентификации ауто- и аллоиммунных антител, пробе на совместимость крови донора и реципиента).

Исследуемая кровь добавляется в верхнюю часть микропробирок диагностических карт, и при центрифугировании осуществляется разделение агглютинированных и неагглютинированных эритроцитов следующим образом: неагглютинированные эритроциты имеют размер, сравнимый с размером частиц геля, и свободно проходят сквозь них под действием центробежной силы, формируя на дне микропробирки компактный осадок красного цвета — отрицательный результат;

агглютинированные эритроциты ввиду больших размеров задерживаются на поверхности геля или в его толще — положительный результат. Фиксированная агглютинация в геле позволяет легко оценивать результат реакции, а наличие контрольной микропробирки в диагностической карте подтверждает достоверность полученных данных.

В зависимости от силы реакции агглютинации в гелевой среде принята следующая оценка полученных результатов:

- сильноположительный (++++) — образовавшиеся агглютинаты эритроцитов задержались на поверхности геля;
- положительный (+++) — агглютинаты располагаются в верхней трети столбика геля;
- слабоположительный (++) — агглютинаты фиксированы в верхних двух третях геля;
- очень слабоположительный (+) — агглютинаты располагаются в нижней трети геля;
- отрицательный (–) — эритроциты формируют на дне микропробирки компактный осадок.

1.2.2.1. Характеристика идентификационных карт

Идентификационные карты (ID-карты) DiaMed представляют собой пластиковые карточки, в которые встроено по шесть микропробирок. В пяти пробирках содержится смесь геля и антисывороток. Каждая карточка имеет шестую контрольную пробирку, содержащую нейтральный гель без антител (ctl). Маркировка пробирок в ID-карте осуществляется по выявляемым антигенам, например: A-B-AB-D-CDE-Ctl или C-c-E-e-K-Ctl. Идентификационные карты для выявления антител к антигенам эритроцитов имеют некоторые отличия, например, карты «Coombs / Enzyme Test»: в трех пробирках, расположенных слева, находится гель, содержащий антитела к глобулинам человека (моноспецифические анти-IgG или полиспецифические — к иммуноглобулинам различных классов), — реакция Кумбса. В следующих трех пробирках содержится только нейтральный гель, предназначенный для выявления антител к антигенам эритроцитов в солевой среде.

1.2.2.2. Оборудование и реактивы

- ID-карты для определения антигенов эритроцитов и антиэритроцитарных антител;
- ID-центрифуга для центрифугирования карт;
- термостат 37 °C;
- штатив для пробирок и карт;
- пробирки вместимостью 5 и 10 мл;
- пипетки полуавтоматические одноканальные (10, 25, 50 мкл);
- перчатки резиновые хирургические;
- раствор для разведения 1 (раствор бромелина);
- раствор для разведения 2 (раствор низкой ионной силы — LISS);
- 0,9 % раствор натрия хлорида;
- стандартные типированные эритроциты человека для выявления антител и проведения перекрестной реакции.

1.2.2.3. Общие правила использования идентификационных карт

1. Идентификационные карты должны храниться в сухом, защищенном от света месте при температуре 18–25 °С. Срок годности указан в паспортной части каждой карты и на упаковочных коробках.
2. Растворы для приготовления суспензии эритроцитов, а также стандартные сыворотки и стандартные ID-эритроциты должны храниться в сухом, защищенном от света месте при температуре 2–8 °С. Срок годности указан на этикетке каждого флакона и упаковочной коробке.
3. Во избежание получения ложных результатов исследований, запрещается использование любых реагентов и карт с истекшими сроками годности, а также высохших, содержащих пузырьки газа или с поврежденными оболочками.
4. Заготовка крови осуществляется с применением современных флеботомических методик, а также пригодна артериальная, капиллярная и пуповинная (без отмывания) кровь. Для исследований пригодны как образцы цельной крови, взятые в чистую, сухую пробирку, так и образцы крови, взятые на консервантах и стабилизаторах.

1.2.3. Типирование антигенов эритроцитов

ID-карты DiaMed предназначены для одновременного определения группы крови по системе АВ0 и резус-принадлежности эритроцитов доноров и реципиентов (включая их слабые варианты антигенов), а также для типирования других антигенов эритроцитов. ID-карты DiaMed можно использовать взамен или параллельно с изоагглютинирующими сыворотками, реагентами анти-D, анти-DCE, цоликлонами анти-A, анти-B, анти-D и анти-D Супер.

1.2.3.1. Алгоритм проведения исследований

Начальный этап выполняется по-разному, в зависимости от вида используемых ID-карт, содержащих поликлональные (см. ниже п. 1а) или моноклональные (см. п. 1б) антитела:

- 1а. — Приготовить взвесь исследуемых эритроцитов в растворе для разведения 1 (ID-карты, содержащие поликлональные антитела) для чего:
 - выдержать раствор для разведения 1 до достижения им комнатной температуры;
 - промаркировать чистые пробирки;
 - приготовить 5 % суспензию исследуемых эритроцитов в растворе для разведения 1, поместив в пробирку 0,5 мл раствора для разведения 1 и 50 мкл исследуемой цельной крови или 25 мкл эритроцитарной массы;
 - аккуратно смешать и инкубировать 10 мин при комнатной температуре;
 - использовать не позднее 15 мин после инкубации.
- 1б. — Приготовить взвесь исследуемых эритроцитов в растворе для разведения 2 (ID-карты, содержащие моноклональные антитела) для чего:
 - выдержать раствор для разведения 2 до достижения им комнатной температуры;
 - промаркировать чистые пробирки;

- приготовить 5 % суспензию исследуемых эритроцитов в растворе для разведения 2, поместив в пробирку 0,5 мл раствора для разведения 1 и 50 мкл исследуемой цельной крови или 25 мкл эритроцитной массы.

Дальнейшие действия:

1. Промаркировать ID-карту (№ исследуемого образца сыворотки или Ф. И. О. пациента).
2. Снять защитную фольгу с пробирок ID-карты.
3. В каждую пробирку ID-карты внести по 10 мкл исследуемых эритроцитов, приготовленных в соответствии с п. 1а, или по 50 мкл исследуемых эритроцитов, приготовленных в соответствии с п. 1б.
4. Установить ID-карты в ротор ID-центрифуги (с обязательным уравниванием другими ID-картами, возможно неиспользованными).
5. Центрифугировать ID-карты (время и скорость центрифугирования постоянны и заданы автоматически).
6. Оценить результат исследования:
 - результат в контрольной микропробирке – «ctl» должен быть всегда отрицательным. Положительная реакция в «контроле» может быть вызвана присутствием аутоантител и неспецифическими плазменными белками. Если «контроль» положителен — определение недостоверно, его необходимо повторить после однократного отмывания образца эритроцитов 0,9 % раствором натрия хлорида или раствором для разведения 2.
7. Результаты определения каждого антигена внести в соответствующую графу ID-карты (на белом поле внизу под каждым антигеном).
8. Идентифицировать результат по следующей схеме (табл. 1-26—1-28):

Таблица 1-26

Результаты исследования антигенов группы крови ABO и резус-принадлежности в ID-карте ABO/Rh

Выявляемые антигены					Заключение
A	B	AB	D	CDE	
+	+	+	+	+	AB Rh+
+	+	+	-	-	AB Rh-
+	-	+	+	+	A Rh+
+	-	+	-	-	A Rh-
-	+	+	+	+	B Rh+
-	+	+	-	-	B Rh-
-	-	-	+	+	O Rh+
-	-	-	-	-	O Rh-

Примечание:

Специфичность исследования подтверждается по отрицательному результату в пробирке с контролем ID-карты.

Определение антигенов эритроцитов системы АВ0

Группа крови	Результаты исследования с сыворотками		
	анти-А	анти-В	анти-АВ
0(I)	-	-	-
A1(II)	++++	-	++++
A2(II)	++++	-	++++
A3(II)	++/+++	-	++/++++
A _x (II) *	-/+++	-	+/+++
B(III)	-	++++	++++
B3(III)	-	+/++++	+/++++
B _x (III) *	-	-/+++	-/+++
A1B(IV)	++++	++++	++++
A2B(IV)	+++ /++++	++++	++++

Примечание:

* Определение очень слабых вариантов антигенов А и В требует дальнейших исследований.

Таблица 1-28

Определение резус-принадлежности (D, CDE)

Резус-принадлежность	Результаты исследования с сыворотками	
	Анти-D	Анти-CDE
D-положительная	++++	++++
D-отрицательная	-	-
D-отрицательная, C, E-положительная *	-	От +++ до ++++
Слабоположительная (D ^u)	От ± до +++	От +++ до ++++

Примечание:

* Положительная реакция с сывороткой анти-CDE при отрицательной реакции с сывороткой анти-D свидетельствует о наличии антигенов C, E и требует дальнейшего типирования с использованием ID-карт: C-c-E-e-K-ctI или C-C^w-c-E-e-K.

1.2.3.2. Используемые идентификационные карты

При определении групп крови и резус-принадлежности применяют поликлональные (табл. 1-29) и моноклональные (табл. 1-30) реагенты. Наиболее частое применение на практике вследствие экономической целесообразности находят моноклональные сыворотки.

ID-карты, содержащие поликлональные сыворотки

ID-карты	Конфигурация
ABO/Rh	A-B-AB-D-CDE-ctl
ABD-Confirmation (подтверждение)	A-B-D/A-B-D
ABO/Rh for Newborns	A-B-AB-D-ctl/DAT

Таблица 1-30

ID-карты, содержащие моноклональные реагенты

ID-карты	Конфигурация
ABO/Rh for patients	A-B-AB-D(VI ⁻)-CDE-ctl
ABO/Rh for donors	A-B-AB-D(VI ⁺)-CDE-ctl
ABD-Confirmation for patients	A-B-D(VI ⁻)/A-B-D(VI ⁻)
ABD-Confirmation for donors	A-B-D(VI ⁺)/A-B-D(VI ⁺)
ABO/Rh for Newborns	A-B-AB-D(VI ⁺)-ctl/ahg

По современной классификации лица с ослабленным вариантом антигена D, способные вырабатывать анти-D-антитела, подразделяются на семь категорий. Наибольшую частоту встречаемости и практическое значение имеет категория VI, эритроциты которой несут только эпитоп Z антигена D. Лица категории VI (резус-отрицательные реципиенты, но резус-положительные доноры!) могут вырабатывать антитела к неизменному D и частичному D всех остальных категорий. Для подтверждения группы крови используют различные ID-карты: D(VI⁻) – для реципиентов, D(VI⁺) – для доноров.

Определение группы крови ABO и резус-принадлежности проводят путем идентификации специфических антигенов и антител (двойная или перекрестная реакция) (табл. 1-31).

Таблица 1-31

ID-карты для определения группы крови ABO и резус-принадлежности перекрестным методом (двойной реакцией)

ID-карты	Конфигурация
ABO/D+ Reverse Grouping	A-B-D-ctl/A1-B
DiaClon ABO/D Reverse Grouping (моно-)	A-B-D(VI ⁻)-ctl/A1-B

Для углубленного обследования используют другие карты (табл. 1-32—1-33).

Таблица 1-32

ID-карты для типирования системы Резус и Келл-принадлежности

ID-карты	Конфигурация
Rh subgroups + K	C-c-E-e-K (KeL1)-ctl
DiaClon Rh subgroups + K	C-c-E-e-K (KeL1)-ctl
Rh subgroups + C ^w + K	C-Cw-c-E-e-K (KEL1)
Rh D + Phenotype	C-c-D-E-e-ctl
DiaClon Rh subgroups	c-E/c-E/c-E

Таблица 1-33

ID-карты для типирования других антигенов эритроцитов

ID-карты	Конфигурация
Anti-D (human)	6xD
DiaClon anti-Dvi pos	6xD(vi+)
DiaClon anti-Dvi neg	6xD(vi-)
AntiC ^w	6xC ^w
ID-anti-D for D weak confirmation	Vial (флакон)
Anti-K (KEL1)	6xK(KEL1)
DiaClon anti-K (KEL1)	6xK(KEL1)
Anti-k (KEL2)	6xk(KE2)
Anti-M	6xM
Anti-N	6xN
Anti-P ₁	6xP ₁
Anti-Le ^a	6xLe ^a
Anti-Le ^b	6xLe ^b
Anti-Jk ^a	6xJk ^a
Anti-Jk ^b	6xJk ^b
Anti-Kp ^a	6xKp ^a
Anti-Kp ^b	6xKp ^b
Anti-Lu ^a	6xLu ^a
anti-Lu ^b	6xLu ^b

1.2.4. Выявление антиэритроцитарных антител

1.2.4.1. Принцип метода

Исследуемые сыворотки и стандартные эритроциты для выявления антител добавляются в верхнюю часть микропробирок. После инкубации и центрифугирования агглютинированные эритроциты остаются в верхней части пробирки, так как не проходят через гель из-за большого размера агглютинатов (положительный результат). При отсутствии антител к антигенам тест-эритроцитов агглютинаты не образуются. Неагглютинированные эритроциты легко проходят через гель и оседают на дне пробирки (отрицательный результат). Характер агглютинации при выявлении антител к эритроцитам зависит от титра антител, их активности и оценивается от 4+ до +.

1.2.4.2. Алгоритм проведения исследований

Типированные эритроциты перед исследованием необходимо предварительно дважды отмыть от консерванта 0,9 % раствором натрия хлорида, а затем выполнить следующие действия:

- выдержать раствор для разведения 2 до достижения комнатной температуры;
- промаркировать пробирки;
- приготовить 0,8 % взвесь типированных эритроцитов в растворе для разведения 2, поместив в пробирку 1,0 мл раствора для разведения 2 и 10 мкл крови;
- снять защитную фольгу с ID-карты;
- промаркировать ID-карту (номер исследуемого образца сыворотки или Ф. И. О. пациента);
- добавить по 50 мкл стандартных эритроцитов в микропробирки;
- добавить по 25 мкл сыворотки или плазмы исследуемого образца в каждую микропробирку;
- инкубировать 15 мин при температуре 37 °С;
- центрифугировать ID-карты в ID-центрифуге (время и скорость центрифугирования постоянны и заданы автоматически).

Примечание. Стандартные эритроциты панели ID-DiaCell I-II-III и ID-DiaCell I-II-III P фирмы DiaMed готовы к применению без предварительного отмывания и обработки раствором для разведения 2.

Интерпретация результатов. Положительная реакция означает наличие в исследуемом образце иммунных антител.

При положительной реакции со всеми эритроцитами панели ID-DiaCell, рекомендуется выполнять аутоконтроль для исключения аутоантител в исследуемом образце.

Если с одним или более видом эритроцитов панели ID-DiaCell реакция остается отрицательной, специфичность антител может быть установлена с помощью сопроводительного листа — таблицы антигенных профилей, прилагаемой ко всем упаковкам ID-DiaCell. При этом убедитесь в том, что номера панели ID-DiaCell и сопроводительного листа совпадают.

Если данная панель не позволяет установить специфичность антител, рекомендуется продолжить идентификацию, используя расширенную панель эритроцитов ID-DiaPanel и/или ID-DiaPanel P (в зависимости от первоначально использованной методики).

1.2.4.3. Скрининг и идентификация антител

Скрининг антител выполняется как в нейтральном геле, так и в геле, содержащем антиглобулиновый реагент (табл. 1-34—1-35). В первом случае для исследования используются обработанные ферментом эритроциты, во втором — суспензия эритроцитов в растворе низкой ионной силы. Скрининг и идентификация антител производятся с помощью стандартной панели эритроцитов. При оценке эффективности гелевого теста для скрининга и идентификации антител была установлена его более высокая чувствительность по сравнению с традиционными методиками.

Таблица 1-34

ID-карты, используемые для скрининга антител

ID-карты	Конфигурация
ID-DiaScreening	4 AHG tests/2 enzyme tests
LISS Coombs + Enzyme test	3 AHG tests/3 enzyme tests
LISS/Coombs	6 AHG tests
Coombs anti-IgG	6 AHG anti-IgG tests
NaCl, Enzyme test and cold aggl.	6 enzyme tests (or 6 NaCl tests)

Таблица 1-35

ID-карты, используемые для идентификации антител

ID-карты	Конфигурация
LISS/Coombs	6 AHG tests
NaCl, Enzyme test and cold aggl.	6 enzyme tests (or 6 NaCl tests)
Coombs anti-IgG	6 AHG anti-IgG tests

1.2.4.4. Методы исследования антител к антигенам эритроцитов

Антиглобулиновый тест (непрямая реакция Кумбса)

Непрямой антиглобулиновый тест (НАТ) используется для выявления анти-эритроцитарных антител. Обычно НАТ выполняется в два этапа: 1) инкубация эритроцитов и сыворотки (фиксация антител) с последующим отмыванием для

удаления несвязавшихся глобулинов. **Постановка непрямого антиглобулинового теста в гелевом тесте не требует отмывания эритроцитов!** 2) инкубация отмывых эритроцитов с античеловеческим глобулином (АЧГ). Агглютинация свидетельствует о наличии в сыворотке антител, связавшихся с антигенами эритроцитов *in vitro*. НАТ используется для: 1) определения в сыворотке реципиента антител к эритроцитам донора — при постановке пробы на совместимость; 2) при скрининге «неожиданных» антиэритроцитарных антител; 3) при исследовании антиэритроцитарных антител у беременных; 4) при исследовании антител в сыворотке больных аутоиммунной гемолитической анемией.

Ход определения:

- внести в три пробирки ID-карты, расположенные слева, по 50 мкл взвеси типированных эритроцитов;
- добавить в пробирки по 25 мкл исследуемой сыворотки;
- инкубировать в течение 15 мин при температуре 37 °С;
- центрифугировать ID-карты в течение 10 мин;
- оценить результат исследования. Вписать полученный результат в ID-карту.

Результаты определения:

- положительный результат свидетельствует о наличии иммунных (алло-) антител в исследуемой сыворотке или плазме (для выяснения специфичности антител используйте таблицу, прилагаемую к стандартным эритроцитам);
- отрицательный результат свидетельствует об отсутствии иммунных антител в исследуемой сыворотке или плазме.

Ферментный метод

Обработка протеолитическими ферментами повышает агглютинабельность эритроцитов.

Ход определения:

- внести в расположенные справа три пробирки ID-карты по 50 мкл взвеси стандартных типированных эритроцитов;
- добавить в пробирки по 25 мкл раствора для разведения 1;
- добавить в пробирки по 25 мкл исследуемой сыворотки.

Примечание. Раствор для разведения 1 не добавляется, если для исследования используются стандартные типированные эритроциты, предварительно обработанные протеолитическим ферментом (например, ID-DiaCell I-II-III P фирмы DiaMed).

- инкубировать в течение 15 мин при температуре 37 °С;
- центрифугировать ID-карты в ID-центрифуге в течение 10 мин (параметры установлены автоматически);
- оценить результат исследования;
- вписать полученный результат в ID-карту.

Результаты исследования:

- положительный результат свидетельствует о наличии аллоантител в исследуемой сыворотке или плазме (для выяснения специфичности антител используйте таблицу, прилагаемую к стандартным эритроцитам);
- отрицательный результат свидетельствует об отсутствии аллоантител в исследуемой сыворотке или плазме.

Метод холодовой агглютинации

Ход определения:

- выдержать раствор для разведения 2, типированные эритроциты и ID-карты в течение 30 мин при температуре 2–8 °С;
- обработать типированные эритроциты раствором для разведения 2, для чего:
 - а) промаркировать пробирку;
 - б) приготовить 0,8 % взвесь типированных эритроцитов в растворе для разведения 2, поместив в пробирку 1 мл раствора для разведения 2 и 10 мкл крови;

Примечание. Стандартные эритроциты DiaCell I-II-III (фирмы DiaMed) готовы к использованию и не требуют разведения.

- внести в три пробирки ID-карты, расположенные справа, по 50 мкл взвеси типированных эритроцитов, обработанных раствором для разведения 2;
- добавить в эти пробирки по 25 мкл исследуемой сыворотки;
- инкубировать в течение 30 мин при температуре 2–8 °С;
- центрифугировать ID-карты в ID-центрифуге в течение 10 мин (параметры установлены автоматически);
- оценить результат исследования;
- вписать полученный результат в ID-карту.

Результаты исследования.

Положительный результат свидетельствует о наличии холодовых антител в исследуемой сыворотке или плазме (для выяснения специфичности антител используйте таблицу, прилагаемую к стандартным эритроцитам).

Отрицательный результат свидетельствует об отсутствии холодовых антител в исследуемой сыворотке или плазме.

Рекомендации

При наличии в исследуемой сыворотке холодовых или тепловых аутоантител могут наблюдаться ложноположительные результаты. Для исключения таких ложноположительных результатов необходимо поставить аутоконтроль:

- приготовить 0,8 % взвесь эритроцитов исследуемой крови в растворе для разведения 2, добавив к 1 мл раствора для разведения 2 10 мкл цельной крови;
- внести по 50 мкл приготовленной взвеси эритроцитов в пробирку ID-карты, расположенную слева (для реакции Кумбса), или в пробирку ID-карты, расположенную справа (для ферментного метода и холодовой агглютинации);

- в пробирки ID-карты внести по 25 мкл исследуемой сыворотки (для ферментного метода необходимо внести в пробирки еще по 25 мкл раствора для разведения 1);
- карты инкубировать 15 мин при температуре 37 °С (для реакции Кумбса и ферментного метода) или при температуре 2–8 °С (для постановки аутоконтроля холодовой агглютинации).

Положительный результат в аутоконтроле свидетельствует о присутствии в исследуемой сыворотке аутоантител.

1.2.5. Определение совместимости крови донора и реципиента

Целью пробы на индивидуальную совместимость является предотвращение трансфузий гемокомпонентов, несовместимых по антигенам эритроцитов. Тестирование сыворотки реципиента с эритроцитами предполагаемого донора — наиболее надежный способ выявления антител, способных вызвать повреждение перелитых эритроцитов, посттрансфузионные реакции и осложнения гемолитического типа. Проведение такой пробы позволяет:

- 1) подтвердить АВ0-совместимость донора и реципиента;
- 2) выявить антитела в сыворотке реципиента, направленные против антигенов эритроцитов донора.

Тестирование на индивидуальную совместимость крови донора и реципиента по антигенам эритроцитов (табл. 1-36) не заменяет обязательное иммуногематологическое исследование (типирование антигенов эритроцитов систем АВ0, Резус, Келл, выявление антиэритроцитарных антител, поиск и идентификацию аллоантиэритроцитарных антител), а лишь дополняет его.

Таблица 1-36

ID-карты, используемые для проведения пробы на совместимость

ID-карты	Конфигурация
Complete Crossmatch	A-B-D enz 2 x AHG
DiaClon Complete Crossmatch	A-B-D(VI ⁺) enz 2 x AHG
LISS/Coombs	6 AHG tests
Coombs anti-IgG	6 AHG anti-IgG tests
NaCl Enz test and cold aggl	6 enz tests (or 6 NaCl tests)
ABD-Confirmation	ABD ABD
DiaClon ABD-Confirmation	A-B-D(VI ⁻) A-B-D(VI ⁺)

Ввиду того, что сенсибилизация может появиться даже после трансфузий индивидуально подобранных гемокомпонентов, для проведения проб на совместимость необходимо использовать каждый раз свежую сыворотку пациента, полученную после последней трансфузии гемокомпонентов.

Ход определения:

- выдержать раствор для разведения 2 до достижения комнатной температуры (20–24 °С);
- промаркировать ID-карты и пробирки (Ф. И. О. донора и реципиента);
- приготовить 0,8 % суспензию эритроцитов донора и реципиента в растворе для разведения 2: в 2 маркированные пробирки внести по 1 мл раствора для разведения 2, добавить по 10 мкл крови донора и реципиента соответственно;
- смешать;
- снять защитную фольгу с соответствующей ID-карты;
- добавить по 50 мкл приготовленной суспензии эритроцитов донора в микропробирки ID-карты 1, 2, 3, 4, 5;
- добавить по 50 мкл приготовленной суспензии эритроцитов реципиента в микропробирки ID-карты 4, 5, 6;
- добавить по 25 мкл сыворотки или плазмы реципиента в микропробирки ID-карты 1, 2, 3, 6;
- добавить 25 мкл раствора для разведения 1 в микропробирку ID-карты 4 (ферментный тест);
- инкубировать 15 мин при температуре 37 °С;
- центрифугировать (время и скорость центрифугирования постоянны и заданы автоматически);
- оценить результат исследования.

Совместимость по антигенам A, B, D (1-я, 2-я, 3-я микропробирки):

- четкий положительный или отрицательный результат указывает на соответствие антигенов A, B, D эритроцитов крови донора и реципиента;
- если наблюдается двойная популяция эритроцитов (в одной микропробирке положительный и отрицательный результат) антигены A, B, D донора и реципиента не идентичны!
- определение совместимости по антигенам A, B, D действительно только при отрицательной реакции в 6-й микропробирке (аутоконтроль).

Результаты пробы на совместимость (4-я, 5-я микропробирки):

- положительный результат в микропробирках 4-я, 5-я ID-карт при отрицательном контроле (микропробирка 6) свидетельствует о несовместимости крови донора и реципиента по антигенам эритроцитов;
- отрицательный результат в микропробирках 4-я, 5-я, 6-я ID-карт свидетельствует о совместимости крови донора и реципиента по антигенам эритроцитов;
- положительная реакция в микропробирке 6-я ID-карты (аутоконтроль) требует дальнейшего определения ауто- и аллоантител в сыворотке (плазме) реципиента.

Проба на совместимость должна быть проведена для каждого образца крови донора!

Ограничения:

- определенные лекарственные средства могут вызывать ложноположительную реакцию Кумбса;

- при некоторых патологических состояниях у больных может наблюдаться положительная реакция Кумбса;
- бактериальное или другое загрязнение используемого материала может вызывать ложноположительный или ложноотрицательный результат;
- остатки фибрина в исследуемых образцах могут связывать неагглютинированные клетки и после центрифугирования образовывать собой тонкую розовую линию на поверхности геля, тогда как большинство клеток будут локализоваться на дне микропробирки;
- суспензии эритроцитов, имеющие чрезмерную концентрацию, могут вызывать ложноположительные реакции.

Условия хранения и эксплуатации

ID-карты Диамед должны храниться при комнатной температуре (18–25 °C) в сухом помещении в течение всего срока годности.

Срок годности карт — 18 мес. Срок годности реагентов — 2 года. Результаты исследования сохраняются в неизменном виде:

- 48 ч при комнатной температуре;
- 3 нед в холодильнике (при 2–8 °C) при заклеенной липкой лентой верхней части ID-карты.

Нижнее поле ID-карты можно отклеить или отрезать и использовать как документ в истории болезни или в картотеке.

Не допускается использование ID-карт с признаками высыхания геля, пузырьками в его толще или повреждением защитной фольги.

Перед использованием образцы и реагенты должны быть выдержаны до комнатной температуры.

1.2.6. Заключение к разделу 1.2.

Гелевый тест является простым, воспроизводимым, быстрым и очень чувствительным методом, позволяющим сразу выявлять слабые варианты антигенов эритроцитов. Тест оценивается только макроскопически. После короткого обучения персонала, необходимого для правильного выполнения теста, сводятся к минимуму затраты рабочего времени и ошибки, встречающиеся при использовании традиционных методик. Гелевый тест позволяет стандартизировать лабораторные методики, дать объективную оценку результатов реакции гемагглютинации. Стабильность результатов теста позволяет перепроверять полученные данные, что необходимо для контроля. Результаты теста могут быть фотокопированы для сохранения их в архиве или для обучающих целей в сложнодиагностируемых случаях. Для теста используется небольшое количество сыворотки или эритроцитов, что чрезвычайно важно для педиатрических клиник.

Использование гелевой системы позволяет снизить риск заражения персонала даже при работе с потенциально инфицированными образцами. Гелевый тест может быть использован для проведения проб на совместимость по антигенам эритроцитов перед переливанием крови. Для этого используются непрямой антиглобулиновый тест и одностадийный ферментный метод. Гелевый тест выполняется и оценивается по вышеприведенным правилам. Отсутствие этапов отмывания эритроцитов при выполнении непрямого антиглобулинового теста позволяет бо-

лее эффективно использовать рабочее время, а также, благодаря стабильности результатов теста контролировать все полученные результаты.

1.3. Обеспечение гистосовместимости донора и реципиента

Клетки крови и белки плазмы содержат системы антигенов, определяющих индивидуальность организма. Поддержание постоянства внутренней среды организма является общebiологической закономерностью и реализуется элиминацией чужеродных антигенов. Переливание крови как лечебный метод нашло широкое применение только после установления ее групповых различий. Внедренная в широкую клиническую практику система оценки биосовместимости гемокомпонентов донора и организма реципиента позволяет предупредить несовместимость по наиболее иммуногенным системам антигенов эритроцитов — АВ0 и резус. Оценка совместимости по антигенам лейкоцитов и тромбоцитов проводится методами скрининга лишь при угрозе риска или развитии гемотрансфузионных осложнений.

Известные на современном этапе методы иммунологического подбора совместимых пар «донор—реципиент» включает в себя исследования: 1) эритроцитарных антигенов и антиэритроцитарных антител; 2) лейкоцитарных антигенов и антилейкоцитарных антител; 3) антигенов сывороточных белков и антител к ним; 4) выполнение комплекса серологических проб на совместимость между клетками и сывороткой крови исследуемой пары [Шабалин В. Н., Серова Л. Д., 1986; Хартарска С., Димитрова Л., 1993].

Одним из принципиальных подходов повышения иммунологической безопасности гемокомпонентной терапии является использование крови доноров, гистосовместимых с реципиентом. Определяющее значение для индивидуальности организма играет система лейкоцитарных антигенов человека (human leukocyte antigens, HLA-система), являющаяся главным комплексом гистосовместимости человека.

Ее основная функция — сохранение целостности организма путем обеспечения взаимодействия между иммунокомпетентными и всеми другими клетками организма. Антигены HLA-рецепторы клеточной мембраны, выполняющие распознавательную и регуляторную функции. Выделяют два класса антигенов гистосовместимости: антигены HLA I класса (локусы А, В и С) и II класса (локусы D, DR, DP и DQ). Молекулы HLA I класса экспрессированы на мембране каждой ядросодержащей клетки организма, распознаются Т-лимфоцитами-киллерами, играя основную роль в цитотоксическом эффекте. Молекулы HLA II класса экспрессированы на поверхности иммунокомпетентных клеток, распознаются Т-лимфоцитами-хелперами [Алексеев Л. П., 1985]. Антигенная несовместимость тканей донора и реципиента по антигенам HLA приводит к развитию реакций по типу гиперчувствительности замедленного типа и сенсибилизации реципиента. Эти реакции являются причиной целого ряда осложнений и посттрансфузионных реакций негемолитического типа. Основным методом профилактики этих осложнений гемотрансфузионной терапии является использование компонентов крови от гистосовместимых доноров [Mollison P. et al., 1987].

При анализе 198 сывороток пациентов, получавших массивную гемотрансфузионную терапию, анти-HLA-антитела к антигенам классов I и II обнаружены в 132 образцах. Наиболее часто присутствовали антитела к широко распространен-

ным и высокоиммуногенным антигенам: HLA-A2, B5, B35, DR2, DR3, DR5. При этом, как правило, сыворотка содержала антитела против нескольких HLA антигенов, что обусловлено массивной гемотрансфузионной терапией без учета гистосовместимости [Серова Л. Д. и др., 1993].

Нет однозначного мнения относительно иммуногенности растворенных антигенов клеток крови (в свежемороженой или замороженной плазме) [De La Rubia J. et al., 1994; Dzik S. et al., 1994].

М. Mincheff и соавт. (1995), изучая механизмы посттрансфузионной аллоиммунизации и иммуносупрессии на инбредных мышах, зарегистрировали иммунологическую инертность апоптозных лейкоцитов и нарастание иммуногенности в ряду В-лимфоциты — некротические лейкоциты — живые лейкоциты.

Установлено, что, помимо иммунных механизмов рефрактерности к переливаемым тромбоцитам донора, важное значение имеют неиммунные причины: лихорадка, септицемия, кровотечение, синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС), гиперспленизм, применение некоторых антибиотиков. Есть данные, что лишь 25 % случаев рефрактерности к тромбоцитам имеет в основе иммунологический конфликт, тогда как 67 % — обусловлено неиммунными причинами [Doughty H. et al., 1994].

1.4. Антигены лейкоцитов, тромбоцитов и белков сыворотки крови

1.4.1. HLA-антигены

Аллоантигены, в наибольшей степени ответственные за гистосовместимость и определяющие приживление тканевых трансплантатов, аллоантитела против которых с наибольшей частотой формируются при трансфузиях крови и беременности, — это лейкоцитарные антигены системы HLA. Последняя обладает рядом важнейших свойств: полиморфизмом, конкордантностью (соответствие каждой аллели на хромосоме определенному антигену на клеточной мембране) и сцепленностью генов.

Антигены HLA — продукты HLA-генов, специализированные на процессинге и презентации эндогенных и экзогенных антигенов иммунокомпетентным клеткам. Комплекс HLA-генов расположен на коротком плече 6 хромосомы и занимает от 2000 до 4000 kb. Выделяют четыре главные категории генов, вовлеченные в процесс презентации антигенов: гены I класса, II класса, гены протеасомы и транспортные гены. По другой классификации все гены, входящие в систему HLA, подразделяют на три группы: экспрессирующие гены, псевдогены и гены с неустановленной функцией. К экспрессирующим генам первого класса относят HLA-A, B, C, а также открытые в конце 1980-х годов гены HLA-E, G, F, функция которых до настоящего времени не ясна, а аллельные варианты не найдены. Молекулы HLA I класса состоят из специфической цепи гликопротеидов и неспецифического β_2 -микроглобулина. Гены HLA II класса формируют три широких локуса: HLA-DR, DQ и DP. Молекулы HLA II класса состоят из альфа- и бета-цепей, кодируемых соответственно A и B генами.

HLA-антигены I класса экспрессируются на большинстве соматических клеток, причем уровень их экспрессии тканеспецифичен. Максимальная экспрессия выявлена на лимфоидной ткани.

1.4.1.1. Номенклатура HLA-антигенов

Современная номенклатура комплекса HLA базируется на номенклатуре генов, она регулярно пересматривается на Международных рабочих совещаниях по тканевому типированию, последнее из которых состоялось в июне 1996 г. в Париже. В соответствии с действующей номенклатурой выделяют:

- специфичности локуса A: 1, 2, 3, 9, 10, 11, 19, 23, 24, 25, 26, 28, 30, 31, 32, 33, 34, 36, 43, 66, 68, 69, 74;
- специфичности локуса B: 5, 7, 8, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 27, 35, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 44, 45, 49, 51, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52–59, 67, 70, 73;
- специфичности локуса C: от Cw1 до Cw8 распознаются серологически;
- локус DP: w1–w6;
- локус DQ: w1–w3;
- локус DR: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18;
- локус Dw: w1–26.

1.4.1.2. Серологическое определение HLA-антигенов

Анализ антигенного состава лимфоцитов осуществляется с помощью набора гистотипирующих сывороток. Набор сывороток, определяющих антигены A, B и C локусов системы HLA, должен выявлять не менее 30 наиболее часто встречающихся и редких антигенов системы HLA. Фенотипирование лимфоцитов проводят в микролимфоцитотоксическом тесте.

Dw детерминанты идентифицируют с помощью гомозиготных типизирующих клеток в тесте смешанной культуры лимфоцитов (Mixed Lymphocyte Culture — MLC).

1.4.1.3. HLA-генотипирование

В настоящее время все более доступным становится метод генотипирования аллелей локуса HLA. Первым в клиническую практику был внедрен метод измерения длин рестрикционных фрагментов ДНК. Хромосомная ДНК фрагментируется рестрикционными ферментами, и полиморфизм длин фрагментов ДНК распознается после проведения электрофореза и сопоставления с ДНК специфичных проб. В настоящее время для идентификации аллелей HLA большую популярность получил метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), при которой происходит изолированное умножение гена или его фрагмента при помощи термостабильной ДНК-полимеразы, четырех типов дезоксинуклеозидтрифосфатов, являющихся структурной основой всякой ДНК, и коротких олигонуклеотидных затравок (праймеров). Детекцию амплифицированного специфического фрагмента ДНК (амплификона) можно получить: 1) при электрофоретическом разделении ПЦР-амплификационной смеси на агарозном или акриламидном геле. Специфичность полосы амплифицированной ДНК подтверждается ее положением (размерами) по отношению к ДНК-стандарту 2) при гибридизации амплификата с зондами, имеющими флюоресцентную, радиоактивную или ферментную метку, позволяющую визуализировать результат. Подробнее см. раздел 1.10.1.

1.4.1.4. Анти-HLA-антитела

Анти-HLA-антитела наиболее частая причина негемолитических посттрансфузионных реакций и рефрактерности к аллогенным гемокомпонентам. Естественная анти-HLA-сенсibilизация развивается у женщины во время беременности к аллоантигенам плода. Частота аллосенсibilизации при беременности составляет от 5 до 25 %. Специфичность формирующихся анти-HLA-антител обычно широкая, чаще анти-B, чем анти-A. У женщин, имевших четыре и более беременности, часто формируются антитела к одному или двум антигенам гаплотипа мужа.

С высокой частотой анти-HLA-антитела формируются во время гемотрансфузий от многих доноров, причем антитела эти широкой специфичности из-за широкого спектра антигенов, представленных на донорских клетках. Однако даже если больной получает несколько повторных трансфузий от одного донора, вероятность его сенсibilизации высока. У 85–90 % реципиентов удастся определить антилейкоцитарные антитела в лимфоцитотоксическом тесте и методом лейкоагглютинации после кардиохирургических операций, гемотрансфузий при язвенной болезни желудка, однако эта сенсibilизация транзиторна, и антитела не удастся выявить у большинства больных через 10–12 нед после окончания трансфузий. Однако даже при таких кратковременных ответах в организме остаются иммунокомпетентные клетки памяти, обуславливающие наличие анамнестического ответа. При повторных курсах трансфузий сенсibilизация развивается быстрее (через 7–10 дней, а не 18–20, как при первичной), а титры специфических антител бывают гораздо выше. Для больных, получающих повторные курсы трансфузий, вопросы профилактики посттрансфузионных реакций становятся чрезвычайно актуальными и могут быть решены только при индивидуальном подборе гистосовместимых доноров.

Развитие HLA-сенсibilизации при трансфузиях обусловлено примесью лимфоцитов, содержащихся в большинстве гемокомпонентов. Практически свободны от этой примеси только размороженные криоконсервированные эритроциты. Пороговой величиной, так называемой дозой иммуногенной нагрузки, является доза в 5 млн лимфоцитов (подробнее см. раздел 4.5).

На развитие аллосенсibilизации значительное влияние оказывает состояние иммунной системы реципиента. Так, у больных с выраженным иммунодефицитом при сепсисе, ожоговой болезни клинически значимая сенсibilизация развивается значительно реже, чем у лиц, не имеющих угнетения иммунной системы (гипопластическая анемия, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки и др.). Имеются наблюдения, свидетельствующие, что у больных, получавших гемотрансфузии, чаще наблюдаются рецидивы колоректального рака и опухолей других локализаций.

1.4.2. Антигены гранулоцитов

Специфичные антигены гранулоцитов (нейтрофилов) NA1 (HNA-1a по новой международной номенклатуре) и NA2 (HNA-1b) являются продуктами аллелей NA-локуса (хромосома 1), который формирует биаллельную систему. В последнее время к этой группе относят антиген SH (HNA-1c) [Minchinton R., 1999]. Другая серия гранулоцит-специфичных антигенов – NB1; NC1; ND1; NE1 и HGA-3 a, b, c, d, e; а также менее успешно дифференцируемые антигены GA, GB, GC и GR (табл. 1-37).

Антигены, найденные только на гранулоцитах

Гены (локус)	Антигены	Фенотипическая частота	Генотипическая частота
NA	NA1	61,2	0,32
	NA2	89,6	0,68
NB	NB1	90,8	0,72
NC	NC1	94,5	0,80
ND	ND1	98,5	0,88
NE	NE1	22,9	0,12
HGA-3	HGA-3a	21,5	0,11
	HGA-3b	23,9	0,13
	HGA-3c	16,1	0,08
	HGA-3d	52,6	0,31
	HGA-3e	17,2	0,09
GA	A1, 2, 3, 4, 5		
GB	B 20, 21, 22, 23, 24		
GC	C 40, 41, 42, 43		
GR	GR1		0,18
	GR2		0,35

Гранулоцит-специфичные антитела могут отвечать за различные клинические синдромы, в частности аутоиммунную нейтропению новорожденных, фебрильные реакции при переливании крови, связанное с трансфузией поражение легких, аутоиммунную нейтропению.

1.4.3. Методы иммунологического подбора совместимого донора в трансфузиологии

Важным этапом иммунологического подбора является выполнение комплекса серологических проб на индивидуальную совместимость по аллоантигенам лейкоцитов, тромбоцитов и иммуноглобулинов. При этом используются лимфоцитотоксическая реакция, реакции лейкоцитоагглютинации и тромбоцитоагглютинации. Эти реакции могут осуществляться в двух вариантах: исследование сыворотки реципиента с клетками крови донора и сыворотки донора с форменными элементами реципиента.

Для исследования антигенного состава с использованием микрометодов достаточно 4×10^3 лимфоцитов и $0,5 \times 10^3$ тромбоцитов в 1 мм^3 , что очень важно при обследовании пациентов с гипоплазией кроветворения.

Техническое оснащение микрометодов включает в себя: микрошприцы, которые должны дозировать объем от 1 до 5 мкл, микрокамеры типа Терасаки с 60 лунками в форме усеченного конуса емкостью 0,01 мл. Площадка лунки позволяет производить микроскопирование клеток непосредственно в камере. Для предотв-

ращения высыхания столь малых объемов реагирующей смеси лунки камеры перед распределением всех реагентов заполняются вазелиновым маслом.

Все стандартные и исследуемые сыворотки должны сохраняться в холодильнике при температуре не выше -40°C . Замораживание сывороток вызывает образование криопреципитата, который перед исследованием должен быть удален центрифугированием. При многократных температурных перепадах в осадок уходят до 50 % всех гамма-глобулинов, в связи с чем сыворотки значительно снижают активность. Поэтому во избежание повторных замораживаний и оттаиваний сыворотки необходимо распределять в пластмассовые пробирки в малых объемах (по 0,5–1 мл).

1.4.4. Определение лейкоцитарных антигенов

Определение производится при аллогенных трансплантациях костного мозга для оценки гистосовместимости донора и реципиента, а также при трансфузиях крови, эритроцитной массы, лейкоцитоконцентрата, лейкотромбовзвеси для предупреждения посттрансфузионных осложнений.

Материалы. Для выполнения лимфоцитотоксического теста в микроварианте необходимы: стандартные сыворотки, имеющие специфическую направленность к различным лейкоцитарным антигенам; взвесь лимфоцитов периферической крови; краситель — трипановый синий или эозин; комплемент (сыворотка крови кролика); раствор Хенкса; фиколл; верографин.

1.4.4.1. Выделение лимфоцитов в градиенте плотности

Приготовление градиента плотности. Градиент плотности приготавливается путем смешивания 96 мл 9 % раствора фиколла (приготовленного на дистиллированной воде) и 40 мл 34 % раствора верографина. 34 % раствор верографина готовится из 75 % раствора верографина путем разведения дистиллированной водой. Плотность смеси должна быть в пределах 1.076 и 1.078. Раствор может быть автоклавирован и использован для выделения лимфоцитов в стерильных условиях.

Выделение клеток: кровь, полученную путем венепункции, дефибринируют, затем смешивают в равных количествах с 0,9 % раствором натрия хлорида. В пробирку наливают 2,5 мл смеси фиколл-верографин, а затем осторожно наслаивают 8 мл разведенной крови.

Пробирки центрифугируют 30 мин при 1450 об/мин при температуре 18°C . После центрифугирования из пробирок пипеткой собирают кольцо, образованное на границе двух жидкостей, в котором находятся лимфоциты. Полученную взвесь лимфоцитов дважды отмывают раствором Хенкса.

Приготовление красителя: 1) раствора трипанового синего — рабочее разведение трипанового синего (0,3 %) готовят путем смешивания равных частей 0,6 % водного раствора красителя и гипертонического раствора фосфатного буфера $\text{pH}=7,8$. Гипертонический фосфатный буфер получают непосредственно перед использованием, смешивая равные части фосфатного буфера $\text{pH}=7,8$ и 1,8 % раствора натрия хлорида;

2) раствора эозина — 5 % раствор эозина в дистиллированной воде центрифугируют для удаления частиц краски; 1 мкл краски добавляют к взвеси клеток. Спустя 2–3 мин добавляется 8 мкл 17 % формальдегида. При использовании эозина лун-

ки покрываются покровным стеклом 50×76, результаты читаются на инвертированном фазово-контрастном микроскопе.

1.4.4.2. Получение, обработка, стандартизация и хранение комплемента

Результат лимфоцитотоксической реакции при всех прочих равных условиях во многом зависит от качества используемого комплемента. Наиболее активной комплементарной средой является пул сывороток крови кролика. Для приготовления комплемента необходимо взять смесь сывороток крови 8–10 кроликов, не содержащих ксеноантител к лимфоцитам человека.

У кроликов кровь получают из сонной артерии. После образования сгустка сыворотку отделяют, полученные образцы центрифугируют при 6000 об/мин в течение 20 мин. Сыворотку смешивают и разливают по 0,4 мл в полиэтиленовые пробирки и хранят при температуре –196 °С. Повторное замораживание сывороток, используемых в качестве комплемента, недопустимо.

Хранение комплемента при температуре –20 °С ограничивает его использование одной неделей. Хранение при –196 °С обеспечивает высокую комплементарную активность сывороток крови человека и животных в течение 10–12 мес. Поскольку определение активности и специфичности комплемента является довольно трудоемким процессом, целесообразно получить достаточно большой объем сывороток и произвести их стандартизацию путем подбора оптимального соотношения указанных ингредиентов при титровании в лимфоцитотоксическом тесте.

1.4.4.3. Техника постановки микролимфоцитотоксической реакции

В лунки камеры, где под слоем вазелинового масла находится по 0,001 мл различных образцов стандартных анти-HLA сывороток, добавляют 0,001 мл приготовленной взвеси исследуемых лимфоцитов. Смесь инкубируют при температуре 22 °С в течение 30–60 мин, после чего вводят 0,004 мл комплемента и продолжают инкубировать в течение часа при той же температуре. По окончании времени инкубации добавляют 0,001 мл свежеприготовленного 0,3 % раствора трипанового синего и после трехминутной инкубации при комнатной температуре надосадочную жидкость удаляют путем стряхивания. Учет результатов реакции проводят при микроскопировании лимфоцитов непосредственно в лунках камеры при увеличении 10×15.

Результат реакции определяют по числу погибших, прокрашенных лимфоцитов.

- 0 — 10 % (–) — отрицательная реакция
- 15 — 20 % (+) — реакция слабоположительная
- 20 — 39 % (2+) — реакция положительная
- 40 — 79 % (3+) — реакция отчетливо положительная
- 80 — 100 % (4+) — реакция резко положительная.

Причины ложных результатов и их контроль. Бактериальное загрязнение сыворотки и других реактивов, используемых в реакции, может быть причиной ложноположительных результатов; недостаточно активные сыворотки, малая комп-

лементарная активность сывороток, используемых в качестве комплемента, дают ложноотрицательные результаты.

Достоверность полученных данных подтверждается следующими контрольными исследованиями:

- а) контроль активности комплемента: к 0,001 мл стандартной, высокоактивной, полиспецифической изонмунной антилейкоцитарной сыворотки добавляют 0,001 мл взвеси лимфоцитов, 0,004 мл комплемента, 0,001 мл раствора трипанового синего — результат реакции должен быть резко положительным (90—100 % прокрашенных клеток);
- б) контроль специфичности комплемента: к 0,001 мл взвеси лимфоцитов добавляют 0,004 мл комплемента, используемого в реакции, 0,001 мл трипанового синего — количество прокрашенных клеток не должно превышать 5 %;
- в) контроль жизнеспособности лимфоцитов: к 0,001 мл взвеси лимфоцитов добавляют 0,004 мл раствора Хенкса, 0,001 мл раствора трипанового синего — количество прокрашенных клеток не должно превышать 5 %.

1.4.4.4. Реакция смешанной культуры лимфоцитов (микровариант)

Необходимым этапом иммунологических исследований при подборе донора костного мозга или переливании гемотрансфузионных средств, содержащих значительное количество аллогенных лимфоцитов иммунокомпрометированным реципиентам, является биологическая оценка совместимости донора и реципиента в реакции смешанной культуры лимфоцитов (MLC). С помощью этой реакции выявляются лимфоцитоопределяемые (LD) детерминанты HLA-D локуса. Ценность реакции заключается в том, что по результатам реакции MLC, благодаря имеющемуся тесному сцеплению антигенов локуса D с другими локусами системы HLA, возможно анализировать взаимоотношения всех систем гистосовместимости и судить о степени совместимости пары донор—реципиент, независимо от количества выявленных антигенов и их принадлежности к главному комплексу гистосовместимости.

Для выполнения реакции смешанной культуры лимфоцитов необходимы следующие реагенты: верографин 74 %; фиколл (молекулярная масса 400 000); среда 199; митомицин С; гепарин.

Кровь берут из вены стерильно с последующим дефибринированием или в раствор гепарина (15 ЕД гепарина на 1 мл крови) и смешивают с равным объемом среды 199. Для получения лимфоцитов используют смесь фиколл-верографин.

После двукратного отмывания клеток надосадочную жидкость удаляют, осадок ресуспендируют в среде 199 с добавлением 30 % фетальной телячьей сыворотки и доводят до концентрации 1×10^6 в 1 мл (отвечающая популяция, ОП).

Лимфоциты стимулирующей популяции (СП) ресуспендируют в 10 мл среды и облучают на γ -облучателе «ИПК» (^{137}Cs) общей дозой 2500 рад (мощность дозы 500 рад/мин, время облучения 5 мин). В дальнейшем облученные взвеси рекомендуется держать на льду. При отсутствии γ -облучателя взвеси следует обработать митомицином С из расчета 25 мкг на 1 мл и инкубировать 40 мин при 37 °С. После инкубации клетки стимулирующей популяции отмывают в среде 199 три раза в течение 20 мин и осаждают при 1500 об/мин. Отмытые таким образом лимфоци-

ты ресуспензируют в среде 199, содержащей 30 % фетальной телячьей сыворотки, доводя концентрацию клеток до 1×10^7 в 1 мл.

Клетки отвечающей (ОП) и стимулирующей популяции (СП) смешивают, добавляя к 0,8 мл ОП (1×10^6 лимфоцитов) 0,2 мл СП (2×10^6 лимфоцитов), инкубируют в течение 120 ч при 37 °С в атмосфере 5 % CO_2 .

По истечении указанного срока максимально удаляют надосадочную жидкость, из осадка готовят мазки, фиксируют в метаноле 15 мин и красят по Романовскому азу-эозинном. Подсчет клеток производят при увеличении 10х90, считают 500 клеток и определяют процент бластов, учитывая следующие клеточные формы: неизмененные лимфоциты, лимфоциты с признаками трансформации в бласты, макрофаги и собственно бласты. Отрицательным считают результат, когда в культуре имеется не более 15 % лимфоцитов с признаками трансформации в бласты.

Более совершенным способом учета результатов является использование радиационной метки. Для этого после инкубации в культуру добавляют 1 мкл H^3 -тимидина, содержащего 40 кБк, и помещают на 6 ч в CO_2 -инкубатор. Затем приостанавливают включение тимидина, для чего смесь лимфоцитов охлаждают в холодильнике при +4 °С или в ванночке со льдом. Сбор клеток на фильтры, отмывание клеток изотоническим раствором, трихлоруксусной кислотой (ТХУК) и 96 % этанолом выполняется автоматически с помощью аппарата «клеточный харвестер». При этом на фильтры переносятся комплексы ДНК-ТХУК. Все миллипоровые фильтры с комплексами ДНК-ТХУК размещаются во флакончики с 5 мл сцинтилляционной жидкости. Чтение результатов радиоактивности проб осуществляется на β -счетчике в течение 1 мин. Полученные результаты позволяют высчитать индекс стимуляции (ИС), представляющий собой частное от деления величины синтеза ДНК лимфоцитами (имп/мин) при стимуляции их аллогенными лимфоцитами на величину синтеза ДНК этими же лимфоцитами при стимуляции их аутологичными лимфоцитами.

При постановке MLC выполняются следующие контрольные исследования:

- 1) к отвечающей популяции лимфоцитов человека добавляют его же лимфоциты, обработанные митомицином С;
- 2) в тесте MLC смешивают две популяции лимфоцитов, обработанные митомицином С. В обоих контролях стимуляции не должно быть.
- 3) обязательно использование взвеси лимфоцитов от третьего (неродственного) партнера.

Полученные результаты позволяют сделать заключение о совместимости или несовместимости реципиента по HLA-D. При совместимости реципиента и донора по HLA-D индекс стимуляции лимфоцитов реципиента лимфоцитами донора и индекс стимуляции лимфоцитов донора лимфоцитами реципиента должны быть близки к единице. При этом индексы стимуляции лимфоцитов реципиента и донора лимфоцитами третьего партнера должны в несколько раз превышать единицу. При слабой реакции лимфоцитов реципиента на лимфоциты третьего партнера (например, вследствие иммунодепрессивного состояния) низкий пролиферативный ответ лимфоцитов реципиента на лимфоциты донора не может рассматриваться как результат идентичности антигенов HLA-D.

1.4.5. Определение антилейкоцитарных антител

1.4.5.1. Перекрестная проба в микролимфоцитотоксическом тесте

Ход определения. Исследуемые сыворотки крови больных помещают в камеры Тerasaki под слой вазелинового масла по 1 мкл (0,001 мл), заполняя по 3 лунки каждым сывороточным образцом. Из крови доноров выделяют взвесь лимфоцитов на градиенте плотности, фиколл-верографин ($1,077 \text{ г/см}^3$) и после двукратного отмывания доводят концентрацию лимфоцитов до $2 \times 10^6/\text{мл}$. Полученную взвесь донорских лимфоцитов вносят под слой вазелинового масла по 1 мкл и смешивают с исследуемыми сыворотками. Смесь инкубируют при 20°C 60 мин, после чего вносят в лунки по 4 мкл кроличьего комплемента и продолжают инкубацию в течение часа. По окончании инкубации добавляют 1 мкл 5 % раствора эозина и через 5 мин останавливают реакцию добавлением 4 мкл 17 % раствора формальдегида. Учет реакции проводят непосредственно в лунках камеры Тerasaki при микроскопировании лимфоцитов (увеличение 10×7 или 10×15).

Примечание. В качестве отрицательного контроля используют сыворотку донора АВ(IV) группы, инаktivированную прогреванием при 56°C . Положительным контролем может служить антилимфоцитарный глобулин.

1.4.5.2. Перекрестная проба в тесте лейкоцитоагглютинации

Ход определения. Получение взвеси лимфоцитов: венозную кровь, стабилизированную натрия цитратом в соотношении 1:5, разливают в центрифужные пробирки, которые оставляют на 30 мин при 37°C в наклонном положении для оседания эритроцитов. Верхний слой плазмы, обогащенный тромбоцитами, удаляют. Нижний слой плазмы переносят в центрифужную пробирку и определяют количество лейкоцитов. Оптимальной концентрацией является 10 000–15 000 лейкоцитов в 1 мм^3 .

Сыворотку больного инаktivируют при 56°C 30 мин. В микропробирку вносят (по 10 мкл сыворотки больного, цельной и разведенной 1:2 и по 10 мкл лейкоцитов донора. Инкубируют 1 ч при 37°C . По окончании инкубации добавляют 10 мкл 1 % раствора уксусной кислоты и через несколько минут микроскопируют.

Интерпретация результатов. Результат реакции определяют по количеству агглютинированных лейкоцитов. Отсутствие агглютинатов или их наличие, не превышающее 10–15 % от общего числа лейкоцитов, оценивают как отсутствие антител:

- 16 – 30 % – реакция слабоположительная;
- 31 – 50 % – реакция положительная;
- более 50 % – реакция резко положительная.

Примечание. В качестве контроля используется инаktivированная сыворотка донора АВ(IV) группы.

1.4.6. Антигены тромбоцитов

Многие аллоантигены, ранее считавшиеся специфичными только для тромбоцитов, найдены на других клетках. Большинство из этих антигенов экспрессиру-

ется на суперсемействе молекул клеточной адгезии — интегринов, участвующих в межклеточных взаимодействиях или взаимодействии клеток с мембраной. Пять днаательных антигенов HPA-1, -2, -3, -4 и -5 (табл. 1-38) и 11 редко встречающихся антигенов (HPA-6bW и т. д.) локализируются на пяти гликопротеинах мембраны тромбоцита: GPI_α, GPIb_α, GPIb_β, GPIIb и GPIIIa. Все эти пять гликопротеинов кодируются различными генами. Аллель системы HPA с высокой частотой распространенности обозначается буквой а, с низкой — b. Предшествующие обозначения — антигены P1A (Zw), Ko, Bak, Yuk, Br — всего более 20 антигенов, отражают способность ряда сывороток вызывать агглютинацию некоторых образцов тромбоцитов [Kroll H. et al., 1998]. Учитывая достижения молекулярной генетики, очевидно, предстоит дальнейшие изменения номенклатуры антигенов тромбоцитов [Santoso S., Kiefel V., 1998] (см. также раздел 1.10.1).

Таблица 1-38

Основные аллоантигены тромбоцитов человека

Аллоантигены	Синонимы	Фенотипическая частота, %		Локализация на гликопротеиде
		Кавказоиды	Японцы	
HPA-1a	Zw ^a , P1 ^{A1}	97,9	99,9	IIIa
HPA-1b	Zw ^b , P1 ^{A2}	26,5	3,7	
HPA-2a	Ko ^b	99,3		Ib
HPA-2b	Ko ^a , Sib ^a	14,6	25,4	
HPA-3a	Bak ^a , Lek ^a	87,7	78,9	IIb
HPA-3b	Bak ^b	64,1		
HPA-4a	Pen ^a , Yuk ^b	99,9	99,9	IIIa
HPA-4b	Pen ^b , Yuk ^a	0,2	1,7	
HPA-5a	Br ^b , Zav ^b	99,2		Ia
HPA-5b	Br ^a , Zav ^a , He ^a	20,6		

При участии аллоантител к тромбоцитам развиваются тромбоцитопеническая пурпура новорожденных (анти-HPA-1a — более 70 %), посттрансфузионная пурпура (анти-HPA-1a — более 80 %) и рефрактерность к трансфузиям тромбоцитов (анти-HPA-1b — 55 %, анти-HPA-5b — 30 % и анти-HLA). Также существуют два редких синдрома аллоиммунной тромбоцитопении: пассивная аллоиммунная тромбоцитопения и тромбоцитопения, ассоциированная с трансплантацией — в качестве причин описаны только анти-HPA-1a и анти-HPA-5b.

1.4.6.1. Исследование антигенов тромбоцитов в реакции связывания комплемента с тромбоцитами (микровариант)

Материалы: типизирующие антитромбоцитарные сыворотки; взвесь исследуемых тромбоцитов; эритроциты барана; гемолитическая сыворотка; 5 % раствор

Na₂ ЭДТА, приготовленный на 0,85 % растворе натрия хлорида; комплемент; вероналово-барбитуровый раствор (ВБР) с pH = 7,3.

Способ приготовления ВБР: 85 г натрия хлорида, 3,75 г Na-5,5-диэтилбарбитурата растворяют в 140 мл дистиллированной воды; 5,75 г 5,5-диэтилбарбитуровой кислоты растворяют в 500 мл горячей дистиллированной воды, после чего оба раствора смешивают, охлаждают, добавляют 5 мл 1 М раствора MgCl₂ и 0,3 г CaCl₂, доводят объем до 2000 мл дистиллированной водой. Сохраняют раствор при 4 °С. Перед использованием этот раствор смешивают с дистиллированной водой в соотношении 1:4.

Получение взвеси тромбоцитов: тромбоциты выделяют из венозной крови, стабилизированной 5 % раствором Na₂ ЭДТА в соотношении 9:1. Кровь, взятую в полиэтиленовую пробирку, центрифугируют при 1000 об/мин в течение 30 мин. Плазму со взвешенными в ней тромбоцитами отделяют и центрифугируют при 4000 об/мин в течение 30 мин. Осадок тромбоцитов трижды отмывают изотоническим раствором NaCl при том же режиме центрифугирования и готовят взвесь, содержащую $0,5 \times 10^6$ тромбоцитов в 1 мм³. Тромбоциты, выдержанные при температуре 4–6 °С в течение 24–48 ч, дают более отчетливые результаты по сравнению со свежевыделенными.

Приготовление взвеси эритроцитов барана. Дефибринированную кровь барана асептически консервируют раствором Олсвера в соотношении 1:1, разливают по 0,5 мл в пробирки и хранят при 4 °С в течение недели до использования. Кровь пригодна для постановки реакции в течение 4–6 нед, если при отмывании эритроцитов отсутствует гемолиз в надосадочной жидкости. Эритроциты перед использованием в реакции отмывают дважды изотоническим раствором натрия хлорида и однократно ВБР.

Приготовление гемолитической системы. Эритроциты барана после отмывания ресуспендируют в ВБР; для использования в реакции готовят 2 % взвесь эритроцитов (4×10^5 клеток в 1 мм³).

Для приготовления индикаторной гемолитической системы сенсibilизируют 2 % взвесь бараньих эритроцитов путем инкубации в течение 30 мин при температуре 37 °С с соответствующим объемом гемолитической сыворотки, разведенной по титру забуференным изотоническим раствором. В реакции используется кроличья гемолитическая сыворотка. Сенсibilизированные бараньи эритроциты хранят при 4 °С: их можно использовать в течение 24–48 ч.

Для постановки реакции необходимо определить титр комплемента и минимальную гемолитическую единицу гемолитической сыворотки. Это устанавливается предварительным титрованием. Можно одновременно производить исследование гемолитической сыворотки и комплемента в микрокамерах.

Ход реакции связывания комплемента в микромодификации. Инактивированные путем прогревания при температуре 56 °С в течение 30 мин сыворотки распределяют по лункам микрокамеры в объеме 0,002 мл, к ним добавляют 0,002 мл взвеси тромбоцитов и 0,002 мл комплемента (2 минимальные гемолитические единицы по титру), смесь инкубируют при температуре 37 °С в течение часа, после чего добавляют 0,002 мл сенсibilизированных эритроцитов барана (гемолитическая система), инкубацию продолжают в течение 30 мин.

На положительный результат реакции указывает полное отсутствие гемолиза (4+) или различные степени его задержки (+, 2+, 3+).

Полный гемолиз бараньих эритроцитов свидетельствует об отрицательном результате реакции. Для пояснения приводим схему постановки реакции (табл. 1-39).

Таблица 1-39

**Схема постановки реакции связывания комплемента с тромбоцитами
(дозы ингредиентов указаны в миллилитрах)**

Ингредиенты	Тест	Контроль		
		на антикомплемментарность		активности комплемента
		сыворотки	тромбоцитов	
ВБР	—	0,002	0,002	0,004
Суспензия тромбоцитов	0,002	—	0,002	—
Разведения сыворотки	0,002	0,002	—	—
Комплемент	0,002	0,002	0,002	0,002
Смешивают, инкубируют 1 ч при 37 °С				
Гемолитическая система	0,002	0,002	0,002	0,002

Инкубируют 30 мин при 37 °С

Достоверность полученных результатов подтверждается постановкой соответствующих контрольных исследований. При правильной постановке реакции во всех контролях должен быть полный гемолиз.

1.4.7. Определение антитромбоцитарных антител

1.4.7.1. Перекрестная проба в тесте тромбоцитоагглютинации

Реактивы и оборудование: 5 % раствор ЭДТА (трилон Б), 0,9 % раствор натрия хлорида с 5 % содержанием ЭДТА, силиконированные или пластиковые пипетки, силиконированные пробирки, центрифуга лабораторная.

Ход реакции. Получение взвеси тромбоцитов: венозную кровь, стабилизированную 5 % раствором ЭДТА в соотношении 1:9 центрифугируют в силиконированной пробирке 5 мин при 2000 об/мин. Полученную таким образом обогащенную тромбоцитами плазму переносят в силиконированную пробирку и центрифугируют 2 мин при 3000—4000 об/мин. Осадок тромбоцитов ресуспендируют в изотоническом растворе с 5 % ЭДТА. Оптимальная концентрация тромбоцитов составляет 300 000—500 000 в 1 мм³. Сыворотку больного инактивируют прогреванием при 56 °С в течение 30 мин. К 20 мкл сыворотки больного добавляют по 20 мкл взвеси тромбоцитов и инкубируют в течение 60 мин при 37 °С. После инкубации пробирки осторожно встряхивают и каплю смеси переносят в камеру Горяева. Микроскопию производят при увеличении 10×10 и 20×15.

Трактовка результатов. Наличие средних и крупных (более 20 пластинок) агглютинатов свидетельствует о наличии тромбоагглютининов в исследуемой сыворотке.

Примечание. Отрицательным контролем служит донорская сыворотка АВ(IV') группы, инактивированная прогреванием, положительным — сыворотка больного, содержащая сильные тромбоцитоагглютинины.

1.4.8. Определение антигенов белков сыворотки крови

1.4.8.1. Определение аллотипов иммуноглобулинов

Материалы: антисыворотки анти-Gm и анти-Inv; исследуемые сыворотки (разведенные 0,85 % раствором натрия хлорида в соотношении 1:4); эритроциты группы 0(I); антирезусные сыворотки с известной Gm или Inv антигенной принадлежностью.

Для выявления взаимодействия между антигенами Gm и Inv и антисыворотками, направленными к ним, применяется «индикаторная система», представляющая собой резус-положительные эритроциты группы 0(I) с фиксированными на них анти-D иммуноглобулинами с определенным Gm или Inv антигенным составом. Индикаторная система готовится следующим образом: к 0,6 мл 50 % взвеси трижды отмытых эритроцитов добавляют 0,6 мл 0,85 % раствора натрия хлорида и 0,6 мл сыворотки анти-D. Смесь инкубируют в термостате при температуре 37 °C в течение 1,5 ч, после чего эритроциты отмывают от избытка анти-D сыворотки 0,85 % раствором натрия хлорида и в этом же растворе готовят 2 % взвесь сенсibilизированных эритроцитов. Приготовленная взвесь пригодна для работы в течение 48 ч.

1.4.8.2. Техника постановки реакции подавления гемагглютинации

Для исследования антигенов системы Gm и Inv используют микровариант реакции подавления гемагглютинации. В каждую лунку камеры Тerasаки помещают 0,002 мл стандартной сыворотки соответствующей анти-Gm или анти-Inv принадлежности и 0,002 мл исследуемой сыворотки, разведенной 1:4 изотоническим раствором натрия хлорида. Содержимое лунки перемешивают легким покачиванием. Камеру оставляют при комнатной температуре в течение 10—15 мин, а затем в каждую лунку добавляют по 0,004 мл 2 % взвеси сенсibilизированных эритроцитов, после чего камеру помещают в рефрижератор при температуре +4—5 °C на 30—40 мин. Результаты реакции оценивают макроскопически при положении камеры под углом 45°. Если иммуноглобулины исследуемой сыворотки содержат антиген Gm или Inv, то они взаимодействуют со стандартной антисывороткой (анти-Gm или анти-Inv) и нейтрализуют ее, в результате чего сенсibilизированные эритроциты остаются неагглютинированными, и их осадок формирует на дне и стенках лунки камеры Тerasаки полосу с ровными краями. В случае отсутствия в иммуноглобулинах исследуемой сыворотки указанных антигенов, стандартные сыворотки анти-Gm и анти-Inv сохраняют специфическую активность и реагируют с антигенами иммуноглобулинов, фиксированных на эритроцитах, вызывая агглютинацию последних. Агглютинированные эритроциты формируют плотный осадок с фестончатыми краями на дне лунки камеры.

Ложные результаты могут быть обусловлены бактериальным загрязнением исследуемой сыворотки, недостаточной активностью стандартных анти-Gm или анти-Inv сывороток.

Достоверность полученных результатов подтверждается следующими контрольными исследованиями:

- а) контроль на отсутствие собственной гемагглютинационной активности исследуемой сыворотки: к 0,003 мл сенсibilизированных эритроцитов добавляют 0,003 мл исследуемой сыворотки — агглютинация должна отсутствовать;
- б) контроль активности анти-Gm или анти-Iny сывороток: к 0,003 мл сенсibilизированных эритроцитов добавляют 0,003 мл анти-Gm или анти-Iny сыворотки. Отчетливая агглютинация эритроцитов подтверждает активность антисыворотки.

1.5. Аллосенсибилизация при гемотрансфузиях и ее клинические последствия

Проведение гемотрансфузионной терапии вызывает у ряда пациентов развитие сенсибилизации к различным антигенам, представленным на клетках крови. Такая аллоиммунизация ассоциируется преимущественно с длительными курсами гемотрансфузий и существенно ограничивает возможности заместительной гемокомпонентной терапии при депрессиях гемопоэза [Hollan S. R., 1975]. Сенсибилизация к тканевым антигенам создает также дополнительные трудности в подборе гистосовместимых доноров больным, ожидающим аллотрансплантации, и в значительной степени снижает успешность функционирования пересаженного органа [Серова Л. Д. и др., 1980].

Влияние гемотрансфузий на исход аллотрансплантаций было впервые продемонстрировано Р. Medavar в 1945 г. [Шабалин В. Н., Серова Л. Д., 1982]. В своем классическом эксперименте он определил, что у животных, получавших гемотрансфузии от будущего донора, кожный трансплантат отторгался так же активно, как у особей, сенсибилизированных к донору предшествовавшей пересадкой кожи. Следствием этого открытия стал многолетний отказ от трансфузий у больных, ожидающих трансплантации. Однако ретроспективный анализ показал, что в модели Medavar гемотрансфузии не всегда укорачивали срок переживания трансплантата. В 1964 г. были получены данные [Schiffer C. et al., 1973] о лучшем состоянии почечного аллотрансплантата у собак, получавших донорскую кровь. В последующие десятилетия клинические и экспериментальные данные подтвердили, что гемотрансфузии могут улучшать переживание аллогенного органического трансплантата. В 1973 г. G. Opelz и соавт. при ретроспективном анализе большого клинического материала продемонстрировали, что гемотрансфузии приводят к увеличению времени переживания почечного аллотрансплантата примерно на 20 % [Opelz G. et al., 1981]. К настоящему времени опубликовано более 70 исследований, подтверждающих, что гемотрансфузии уменьшают частоту отторжения аллогенных органов. Максимальный протекторный эффект отмечали после 5 трансфузий крови или ее компонентов, независимо от того, были ли эти переливания от родственного или неродственного донора [Fauchet R. et al., 1982; Pfaff W. et al., 1989]. Необходимо однако отметить, что при проведении донор-специфических трансфузий у некоторых реципиентов развивалась аллоиммунизация к своим предполагаемым донорам, что делало невозможной планируемую пересадку.

Стратегия гемотрансфузионной терапии развивалась так, чтобы минимизировать риск аллоиммунизации [Sanfilippo F. et al., 1982; Scornik J. C. et al., 1984], но

до сих пор он еще не может быть предотвращен. Эта ситуация вызвала особый интерес к исследованию процесса развития анти-HLA-сенсibilизации при гемотрансфузиях.

1.5.1. Характер развития аллоиммунизации при гемотрансфузионной терапии

Исследования аллоиммунизирующего действия гемотрансфузий показали, что малое количество переливаний не влияет (или имеет небольшое влияние) на развитие аллосенсibilизации. У мужчин и нерожавших женщин гемотрансфузии вызывают появление анти-HLA-антител только в 5–10 % случаев [Серова Л. Д. и др., 1980; Norman D. F. et al., 1985; Reisner E. J. et al., 1987]. Высокореактивной оказалась только небольшая часть больных, но и у них активность антител была кратковременной и исчезала уже через 3–6 мес после окончания курса гемотрансфузионной терапии [Cirony E. S. et al., 1972]. Эта тенденция не изменялась, даже если больной продолжал получать и трансфузии [Scornik J. C. et al., 1983]. Однако назначение длительных курсов трансфузий индуцирует сенсibilизацию у большинства больных [Серова Л. Д. и др., 1980; Scornik J. C. et al., 1992; Scornik J. C. et al., 1988]. Для индукции достоверной сенсibilизации необходимо 50–70 переливаний крови и ее компонентов [Berck C., Milstein C., 1988].

Достоверные данные об уровне аллосенсibilизации, по мнению J. C. Scornik и соавт. [De Franco L. A., 1988], могут быть получены только с учетом величины расширения клонов Т- и В-лимфоцитов, специфичных к аллоантигенам (так называемая клональная экспансия). Анти-HLA-антитела могут определяться у пациентов и при минимальной степени клональной экспансии. Однако клинические проявления анти-HLA сенсibilизации, ассоциированной с минимальной клональной экспансией, отличаются от таковых при достоверной. Клональная экспансия и аллоиммунизация — многоэтапный процесс, проходящий следующие фазы.

1. Минимальная клональная экспансия. Наблюдается обычно у больных, получивших 1–10 гемотрансфузий. Антитела к HLA-антигенам не определяются.
2. Минимальная клональная экспансия с антителами. Отличается от первой фазы 1 наличием антител в сыворотке крови больного.
3. Достоверная клональная экспансия. Наблюдается у лиц, получивших много гемотрансфузий, с беременностями и трансплантациями в анамнезе. В крови отсутствуют комплемент-зависимые цитотоксичные антитела, но достоверность клональной экспансии может быть подтверждена выявлением низкого уровня антител класса IgG (кросс-матч в проточной цитометрии) [Cirony E. S. et al., 1972] или ретроспективно по быстрому гуморальному ответу на трансфузию одной порции крови [Everetl E. T. et al., 1987].
4. Достоверная клональная экспансия с антителами. Отличается от фазы 3 наличием в крови пациента комплемент-зависимых цитотоксичных антител. Если больные не получают гемотрансфузий, уровень этих антител снижается [De Franco L. A., 1988].
5. Достоверная клональная экспансия с персистирующими антителами. В крови широкосенсibilизированных пациентов в течение нескольких лет присутствуют высокореактивные антитела даже при отсутствии аллоиммунизирующих воздействий [Scornik J. C., 1989].

По-видимому, каждая трансфузия индуцирует некоторую степень клональной экспансии, недостаточную для обеспечения синтеза персистирующих антител. Последующие гемотрансфузии расширяют количество клеток иммунной памяти, но такая экспансия остается клинически недостоверной в пределах 20 трансфузий [Серова Л. Д. и др., 1980]. При дальнейшем росте количества трансфузий возрастает доля лиц, у которых количество Т- и В-клеток памяти достигает критического уровня, поддерживающего персистенцию окончательного ответа (фаза 5).

Известно, что гуморальный ответ к антигенам главного комплекса гистосовместимости является тимусзависимым, т. е. требует участия Т-лимфоцитов. При минимальной клональной экспансии в ограниченную пролиферацию и дифференцировку вовлекаются субпопуляции Т- и В-лимфоцитов. Активация этих клеток ведет к синтезу антител класса IgM с последующим переключением на синтез IgG, который, однако, может быстро подавляться [Everetl E. T. et al., 1987; Scornik J. C. et al., 1989]. При продолжении гемотрансфузии аллогенные клетки вступают в контакт с расширенными (экспансированными) клонами активных Т-клеток, что приводит к немедленной и высокоэффективной продукции лимфокинов. В-клеточные клоны к этому моменту не только расширены, но и экспрессируют иммуноглобулиновые рецепторы, высокоаффинные к аллоантигенам. Синтез таких иммуноглобулинов обеспечивается соматическими мутациями в V-регионе генов иммуноглобулинов и селекцией аффинности, проходящей через несколько циклов клеточного деления [Scornik J. C. et al., 1989]. Сывороточные антитела, циркулирующие на этой стадии, относятся к классу IgG. Предшествовавшая клональная экспансия делает гуморальный ответ легко определяемым. Даже небольшое количество аллоантигенов, присутствующих в трансфузионных средах, обедненных лейкоцитами и тромбоцитами, включает активную продукцию анти-HLA-антител [Swoboda R. et al., 1991]. На этой стадии иммунизации иммуносупрессивные воздействия не предохраняют пациента от сенсибилизирующего воздействия гемотрансфузий [Greenberg L. J. et al., 1975]. Единственный путь профилактики дальнейшей сенсибилизации и предотвращения посттрансфузионных реакций — использование крови гистосовместимого донора [Sasazuki T. et al., 1978]. Некоторые больные с достоверной клональной экспансией имели высокий уровень циркулирующих анти-HLA-антител в течение нескольких лет даже в отсутствие гемотрансфузий. Такая персистенция антител была ассоциирована с присутствием антигена в лимфоидной ткани реципиента [Sasazuki T. et al., 1983].

По данным N. Heddle и соавт. (1995), аллоантитела в крови появляются через 48–72 ч после трансфузии, достигая пика на 7–10-й день. Посттрансфузионная аллоиммунизация наблюдается у 2,2–3,6 % реципиентов, а в случае предшествующих трансфузий — у 3,6–17,4 % реципиентов. Наиболее часто выявляются анти-Jk^a, анти-E и анти-K. Однако гемолитические реакции встречаются не чаще, чем 1:10 000 трансфузий.

1.5.2. HLA-фенотип и уровень аллосенсибилизации при гемотрансфузиях

Изложенная выше гипотеза Scornik и соавт. раскрывает иммунологические механизмы аллоиммунизации и может быть успешно использована для интерпретации результатов перекрестных проб в трансплантологии. Однако представлен-

ные теоретические построения не вскрывают причины индивидуальной чувствительности к аллоантигенам и не учитывают факторов, предрасполагающих к развитию широкой аллоиммунизации при проведении гемотрансфузионной терапии.

Известно, что выраженность антительного иммунного ответа к различным антигенам определяется HLA-фенотипом индивида [Hsu S. H. et al., 1981; Kreisler J. M. et al., 1988]. В ряде популяционных и семейных исследований [Gore S. M., Bradley B. A., 1988; Claes F. J. N. et al., 1989] была обнаружена корреляция между определенными HLA-DR антигенами и высоким иммунным ответом к антигенам HLA I класса. Связь HLA-фенотипа с аллосенсибилизацией при гемотрансфузиях была продемонстрирована [Duquesnoy L. T. et al., 1990] при анализе уровня анти-HLA-антител у 423 реципиентов гемотрансфузий и 461 реципиента почечного аллотрансплантата. У высокосенсибилизированных больных антиген HLA-DR2 выявлялся в 2 раза чаще, чем у лиц, не имевших этого антигена (соответственно, 36 % против 19 %). Дополнительно было отмечено, что у HLA-DR2 позитивных реципиентов, получивших донорскую почку, идентичную по антигенам II класса, но несовместимую по антигенам I класса, сроки переживания почечного аллотрансплантата были достоверно меньшими, чем у лиц с DR2-негативным фенотипом и такой же степенью совместимости в парах донор—реципиент.

Аналогичные сведения получены в ряде более поздних исследований [Jerne N. K. 1974; Reed E. et al., 1987; Scholz S., Allert E., 1983]. Для объяснения полученных результатов авторы используют сетевую теорию иммунитета, постулирующую индукцию антиидиотипических антител после гемотрансфузий [Kichler T. S. et al., 1985; Schiffer C. A. et al., 1983]. Высокий ответ на аллогенные стимулы у лиц, носителей DR2, обусловлен низким антиидиотипическим ответом к HLA. Согласно клиническим данным, антиген DR2 — протектор аутоиммунных заболеваний [Janke R. A. et al., 1969]. Этот феномен также может быть объяснен слабой индукцией антиидиотипических антител.

1.5.3. Клиническое значение аллосенсибилизации и методы ее профилактики

Большинство больных, имеющих достоверную клональную экспансию, или продолжают нуждаться в заместительных курсах гемотрансфузионной терапии, или являются кандидатами на трансплантацию аллогенной ткани или органа. Эти пациенты составляют группу повышенного риска развития рефрактерности к переливаемым клеткам крови [Rebulla P., 1993] или острого отторжения (даже при отрицательных результатах перекрестных проб) [Серова Л. Д. и др., 1980; Cugony E. S. et al., 1972]. Эти осложнения могут быть связаны с наличием клонов, специфичных к вводимым аллоантигенам. Инициация иммунного ответа (как гуморального, так и клеточного) приводит к повреждению трансплантата, причем этот процесс развивается значительно интенсивнее в присутствии расширенных клонов Т- и В-лимфоцитов.

Описанные выше процессы вынуждают обращаться к поиску разнообразных средств, способных предотвратить аллоиммунизацию и ее последствия. Стандартный, но не всегда достижимый прием — назначение гемокомпонентов от одного гистосовместимого донора. Однако трансфузии от HLA-совместимого донора пациенту, находящемуся в фазе достоверной клональной экспансии с персистирующей

щими антителами, в 40–60 % случаев оказываются неудачными [Murphy M. F. et al., 1986; Мегуман Н. Т., 1989]. Кроме того, часто бывает трудно подобрать гистосовместимого донора, особенно для больных с необычным фенотипом.

Одним из перспективных методов повышения эффективности гемокомпонентной терапии при снижении ее сенсибилизирующего воздействия является удаление лейкоцитов из трансфузионных сред [Claas F. G. H. et al., 1981; Andreu G. et al., 1988; Van Marwijk K. M. et al., 1990; Aulmann M., Neppert J., 1991]. Еще Dausset и Rappaport продемонстрировали, что высокоочищенные препараты тромбоцитов не способны индуцировать сенсибилизацию к аллотрансплантату [Schiffer C. A. et al., 1983]. Установлено, что аллоиммунизация развивается только после получения 5 млн лимфоцитов (так называемая «критическая иммуногенная доза»). Для профилактики посттрансфузионных негемолитических фебрильных реакций содержание лейкоцитов в трансфузионных средах не должно превышать 250 млн [Kahn R. A. et al., 1985]. При использовании современных технологий такой очистки гемокомпонентов можно добиться только при использовании лейкоцитарных фильтров [Deeg H. J., 1983; Andreu G. et al., 1988]. Сенсибилизирующая способность лимфоцитов может быть понижена ультрафиолетовым облучением, которое отменяет способность этих клеток стимулировать развитие аллоиммунизации как *in vitro*, так и *in vivo* [Kahn R. A. et al., 1985]. При этом функция и посттрансфузионная выживаемость тромбоцитов не нарушаются [Andreu J. et al., 1990; Traube D. U. et al., 1984] (подробнее см. раздел 4.5).

Для предотвращения последствий аллоиммунизации принимаются также попытки воздействия на организм высокосенсибилизированных реципиентов. Плазмаферез [Palmer A. et al., 1989] и иммуносорбция на колонках со стафилококковым протенном А [Gil-Vernet S. et al., 1990; Esnault V. et al., 1990] в сочетании с иммуносупрессивными препаратами могут понижать концентрацию аллоантител в сыворотке крови и повышать вероятность отрицательных перекрестных проб у гипериммунизированных больных. К сожалению, разработанные режимы эфферентной терапии не позволяют добиваться успешного приживания аллогенного трансплантата в 60–80 % случаев [Fauchald P. et al., 1987; Terasaki P. I. et al., 1978]. Там не менее, успех, достигнутый у части пациентов, являвшихся абсолютно бесперспективными для проведения аллогенных трансплантаций (гемотрансфузий), является значительным достижением и стимулирует дальнейшие исследования в этом направлении.

Данные о механизме развития аллосенсибилизации позволяют по-новому осмыслить результаты перекрестных проб, проводимых реципиентам аллогенных органов и тканей, и свидетельствуют о важности разработки таких трансфузионных сред, использование которых не будет осложнено развитием гипераллоиммунизации.

1.6. Посттрансфузионная иммуносупрессия и ее профилактика

Учитывая возрастающий интерес к проблеме иммунодефицитов, отдельного рассмотрения заслуживают вопросы посттрансфузионной иммуносупрессии. Тем более, что такие изменения в иммунной системе реципиентов, как апергия, иммунологическая толерантность, невозможность развития высокого иммунного ответа, встречаются с большей частотой, чем клинически значимая аллосенсибилизация.

Иммуносупрессивное действие гемотрансфузий было распознано благодаря тому, что аллогенные почечные трансплантаты переживали гораздо дольше у лиц получавших гемотрансфузии, по сравнению с теми, кто их не получал [Opelz G. et al., 1973]. Последовавшие за этим многочисленные исследования показали, что гемотрансфузии могут нарушать иммунный ответ к опухолям и инфекциям.

1.6.1. Трансфузии и послеоперационные инфекции

Послеоперационные инфекции у хирургических больных наблюдаются примерно в 5 % случаев, но их частота возрастает до 20—30 % у реципиентов, получивших 2 дозы и более аллогенной крови [Blumberg N. et al., 1988]. Реципиенты аутологичной крови имеют такую же частоту инфекций, как и нетрансфузируемые больные [Mezrow C. et al., 1992]. Отмечено также снижение срока пребывания в стационаре при проведении аутологичных трансфузий. При использовании лейкоцитарных фильтров частота послеоперационных инфекционных осложнений снижается с 20 до 2 %. Этот благоприятный клинический эффект коррелировал со снижением иммуносупрессии, наиболее значимым показателем которой считают активность естественных киллеров [Jensen L. et al., 1992]. Сходные результаты были получены и в экспериментальной модели на животных (энтеральный сепсис) [Gianotti L. et al., 1993].

Не затрагивая возможность передачи с гемокомпонентами микроорганизмов, поражающих иммунокомпетентные клетки, следует подчеркнуть опасность реактивации и генерализации латентных вирусных инфекций у реципиентов гемокомпонентов, что ведет к дальнейшему угнетению противоинфекционной резистентности [Sloand E. et al., 1994].

1.6.2. Трансфузии и онкогенез

При анализе эффективности хирургического лечения пациентов с аденокарциномой ободочной и прямой кишки обнаружено увеличение летальности в группе лиц, получавших гемотрансфузии в периоперационном периоде. Сходные результаты были получены при ретроспективном анализе больных с колоректальным раком [Blumberg N. et al., 1988], опухолями легких [Piantadosi S., 1992]. Смертность больных зависела от стадии опухолевого роста, размеров опухоли и трансфузионного режима.

В клинических и экспериментальных исследованиях была выявлена значительная вариабельность опухолевого роста (от усиления до ингибции) при проведении аллогенных гемотрансфузий [Blajman M. et al., 1993], что можно объяснить различиями опухолей, трансфузионных режимов и моделей эксперимента.

Проведенные в последние годы клинические исследования также демонстрируют широкий разброс в частоте рецидивирования опухолей. Резонно было предположить, что больные с быстро развивающимися опухолями, более тяжелой анемией, более длительной и трудной операцией получают больше гемокомпонентов и трансфузии здесь являются маркером тех биологических процессов, которые обеспечивают рецидивирование опухоли. Однако этот вопрос был дополнительно проанализирован в ряде исследований, показавших, что трансфузионный эффект не может быть объяснен ни стадией опухолевого роста, ни другими клиническими параметрами. Иммуносупрессия выявлена даже при единичных трансфузиях от-

мытых эритроцитов или аллогенной плазмы, при этом установлена ее дозозависимость и связь с типом применяемого гемокомпонента [Wobbes T. et al., 1989; Marsh J., Hamer-Hodges D., 1990].

Применение аутологичных гемокомпонентов ассоциировано с более благоприятным течением послеоперационного периода [Ablin R., Conder M., 1984], а по некоторым данным и со снижением частоты рецидивов колоректальных опухолей [Blajman M. et al., 1993].

1.6.3. Механизмы посттрансфузионной иммуносупрессии

Исследования иммунного статуса реципиентов аллогенной почки, получавших гемотрансфузии, выявило снижение пролиферативного ответа лимфоцитов на митогены и антигены после нескольких трансфузий [Opelz G. et al., 1973]. После трансфузий снижались и антигенпрезентирующая функция макрофагов, активность естественных киллеров, Т-клеточная пролиферация и секреция лимфокинов [Fisher E. et al., 1980]. У реципиентов наблюдалась инверсия соотношения хелперов/супрессоров за счет снижения CD4⁺ лимфоцитов и увеличения количества CD8⁺ клеток, снижалось число естественных киллеров и возрастало количество В-лимфоцитов [Gafer U. et al., 1992]. Многие из выявленных изменений сохранялись в течение длительного времени.

Проникновение в периферическую кровь большого количества антигенного материала, одновременно обладающего аллогенными, подобными и идентичными организму реципиента детерминантами, вызывает многообразные изменения в иммунной системе. Эволюционно организм не подготовлен к такой ситуации, так как обычно небольшие дозы антигенного материала поступают через барьер кожи или слизистых оболочек. Значительное повышение количества даже аутологичных антигенных детерминант приводит к снижению активности многих иммунных реакций, как это происходит при аутоиммунных процессах [Triulzi D. et al., 1992].

Аллогенные детерминанты распознаются рецепторами иммунокомпетентных клеток и иммуноглобулинами с образованием диссоциирующих иммунных комплексов из-за низкой аффинности циркулирующих предсуществующих антител. Значительное повышение уровня циркулирующих иммунных комплексов модулирует функциональное состояние системы мононуклеарных фагоцитов. При проведении гемотрансфузий эти клетки дополнительно оказываются перегруженными солями железа. Связываясь с Fc-рецепторами мембран моноцитов/макрофагов, иммунные комплексы активизируют ферменты, обеспечивающие изменение метаболизма арахидоновой кислоты в сторону увеличения синтеза простагландина E₂ (ПГЕ₂). В результате развивается дисбаланс между уровнями интерлейкина-2 (ИЛ-2) и ПГЕ₂. Изменение синтеза ПГЕ₂ и ИЛ-2 является важнейшим сигналом, обеспечивающим иммуносупрессию другими медиаторами. ПГЕ₂, увеличивая внутриклеточное содержание цАМФ, определяет ингибцию пролиферации лимфоцитов, снижает экспрессию рецепторов к трансферрину, угнетает секрецию лимфокинов (ИЛ-1, 2 и др.) и способствует снижению экспрессии HLA-антигенов II класса на антигенпрезентирующих клетках, что нарушает раннюю фазу иммунного ответа. Антигенная стимуляция в этих условиях приводит к последовательной генерации супрессорных лимфоцитов первого порядка (CD4⁺), второго порядка (CD8⁺), не являющихся эффекторами, и третьего по-

рядка (CD8+), являющихся собственно супрессорами/эффекторами. Лимфоциты именно этой последней субпопуляции выделяют неспецифические супрессорные факторы, угнетающие многообразные иммунные реакции и потенцирующие толерогенный процессинг антигена макрофагами [Rich R. et al., 1988].

Взаимодействие ЦИК с В-лимфоцитами приводит к противоположным эффектам, так как их связывание происходит дополнительно через Fab-фрагменты иммуноглобулиновых рецепторов. При блокировании Fc-рецепторов, иммунные комплексы становятся митогенными для В-лимфоцитов. Следствием такой митогенной стимуляции становятся увеличение количества В-лимфоцитов и поликлональная секреция антител [Phillips N., Parker D., 1987].

Низкое содержание в эритроцитоконцентрате клеток с рецепторами HLA II класса после удаления лейкоцитомблосля (Optipress) является адекватной мерой профилактики посттрансфузионной иммуносупрессии [Van Prooijen H. et al., 1995].

Иммуносупрессия может быть индуцирована и некоторыми плазменными продуктами. Растворимые HLA-антигены, фермент транслугтаминаза (так называемый фибринстабилизирующий фактор, или фактор XIII) имеют выраженное иммуносупрессивное действие на Т-лимфоциты и способствуют пролиферации В-лимфоцитов. Кроме того, введение препаратов плазмы и концентратов факторов свертывания, содержащих значительное количество фибриногена, приводит к повышению уровня альфа₂-макроглобулина. Этот острофазовый белок, наряду с плазмином, осуществляет дезагрегацию фибриногена, и повышение его уровня может быть ответной реакцией на избыточное поступление фибриногена. При этом альфа₂-макроглобулин является иммуносупрессорным агентом, ингибитором ИЛ-1, способным подавлять пролиферацию лимфоцитов, естественную цитотоксичность и антителозависимый киллинг.

М. Ghio и соавт. (1999) отмечают иммуносупрессивное действие растворимых антигенов HLA I класса и лиганда Fas-антигена, кроме вышеуказанных механизмов, также за счет индукции апоптоза клеток реципиента, экспрессирующих Fas-антиген. Отмечая максимальное накопление растворимых антигенов HLA I класса и лиганда Fas-антигена в эритроцитной массе на 30-й день хранения, авторы предлагают использовать эритроцитную массу длительных сроков хранения для индукции толерантности к трансплантату.

Физиологические эффекты цитокинов, накапливающихся в процессе хранения в контейнерах с гемокомпонентами и попадающих в организм реципиента, не учитываются при определении показания и не всегда сочетаются с задачами гемотрансфузии. Установлено, что интерлейкин-1, интерлейкин-6 и ФНО являются основной причиной посттрансфузионных фебрильных реакций [Adhesion in leukocyte homing and differentiation..., 1993; Stack G., Snyder E. L., 1994].

Таким образом, при гемокомпонентной терапии практическое значение имеет высокая доза и длительная персистенция антигена в циркуляторном русле, презентация антигена неспециализированными антигенпрезентирующими клетками (специализированные преобладают в коже и слизистых оболочках). Внутривенные гемотрансфузии значительно выраженнее предрасполагают реципиента к анергии, чем к аллоиммунизации.

Посттрансфузионная иммуносупрессия может иметь значение в формировании всех 4 основных иммунопатологических синдромов: инфекционного, аллергического, аутоиммунного и лимфопролиферативного [Петров Р. В. и др., 1994].

Оптимизация функционального потенциала иммунной системы, обеспечивающей «экологию тела» — одна из важнейших задач при лечении раненых и больных. Гемокомпонентная терапия обладает мощным иммуномодифицирующим действием, поэтому при проведении гемотрансфузий следует: производить выбор оптимальных и подбор гистосовместимых гемокомпонентов; использовать аутологичные гемокомпоненты; удалять лейкоциты из трансфузионных сред; осуществлять диагностический мониторинг функционального состояния иммунитета и неспецифической резистентности.

Целенаправленные мероприятия по профилактике и коррекции посттрансфузионной иммуносупрессии позволят повысить эффективность лечения хирургических и терапевтических пациентов [Шевченко Ю. Л. и др., 1996].

1.7. Болезнь «трансплантат против хозяина» и переливание крови

Аллогенная трансплантация, в том числе и периферической крови, вызывает защитную реакцию организма, направленную на отторжение трансплантата. Однако возможна и обратная ситуация: при трансплантации иммунокомпетентных клеток последние способны активно действовать против организма реципиента. Такая реакция (болезнь) носит название «трансплантат против хозяина» (БТПХ) [Шабалин В. Н., Серова Л. Д., 1986].

Условием развития БТПХ является неспособность организма иммунитета подавить и отторгнуть иммунокомпетентные клетки трансплантата, т. е. иммунодефицитное состояние. В эксперименте БТПХ проявляется при наличии у реципиента по крайней мере одного антигена, отсутствующего у донора. Наиболее яркий пример из клинической практики — БТПХ при трансплантации аллогенного костного мозга, развивающаяся у 30—45 % реципиентов.

Однако количество трансплантаций костного мозга (около 15 000 в год в мире) несопоставимо с количеством трансфузий крови и ее компонентов, также содержащих иммунокомпетентные клетки. Понимание того, что переливание донорской крови по сути является пересадкой аллогенной ткани, выражается в постепенной замене соответствующих терминов: с 1995 г. Европейская группа по трансплантации костного мозга называется «Европейская группа по трансплантации крови и костного мозга». В немалой степени этому послужило возрастающее количество зарегистрированных случаев посттрансфузионной БТПХ (ПТБТПХ).

ПТБТПХ является наиболее ярким подтверждением тезиса о некоторой тождественности понятий «переливание крови» и «трансплантация крови». Безусловно, задача трансплантации — приживание органа или ткани с последующим длительным функционированием в организме реципиента, тогда как гемокомпоненты лишь временно возмещают структурно-функциональный дефицит периферической крови реципиента. Тем не менее, «посттрансплантационные» осложнения гемотрансфузий должны быть постоянно в поле зрения клиницистов [Шевченко Ю. Л., 1997].

ПТБТПХ клинически и морфологически отличаются от таковых, связанных с трансплантацией костного мозга, и проявляются симптомами тяжелого заболевания, сходными с известными инфекциями и лекарственными реакциями, что затрудняет клиническую диагностику. Так как ПТБТПХ развивается не сразу после

трансфузии, то заболевание не связывают с предшествовавшим переливанием ге-мокомпонентов.

ПТБТПХ встречается гораздо чаще в острой форме. Острая форма заболевания характеризуется дисфункцией кожи, желудочно-кишечного тракта и печени. Первоначальные клинические проявления — это гипертермия, продолжающаяся от 24–48 ч, с диффузной кожной сыпью. Типичное начало ПТБТПХ — 2–30-й день (чаще на 7–14-й день) после трансфузии.

Большинство пациентов с развившейся БТПХ получали иммуносупрессивную химиотерапию. У пациентов с ПТБТПХ ожидаемого клинического эффекта лечения основного заболевания нет, в большинстве случаев смерть наступает в результате вторичной инфекции или кровотечений от аплазии костного мозга. Большинство пациентов, у которых развилась БТПХ, получали необлученную цельную кровь, эритроцитную массу или их комбинации с другими компонентами. В некоторых случаях были перелиты только тромбоциты или только свежая незамороженная плазма. Во всех наблюдениях БТПХ реципиенты получили более чем 1×10^7 лимфоцитов в одной или более доз компонентов крови. Так как замороженные продукты крови, такие как свежемороженая плазма или замороженная деглицинизированная кровь, не вызывали БТПХ, эти продукты, вероятно, содержали менее 1×10^7 лимфоцитов или не содержали цитотоксичных лимфоцитов, которые, как представляется, являются причиной ПТБТПХ.

БТПХ встречается преимущественно у пациентов, неспособных отвергать перелитые иммунокомпетентные клетки. Эти пациенты имеют врожденный или приобретенный клеточный иммунодефицит [Балашов Д. Н. и др., 1999]. Но в то же время не у всех пациентов с явным клеточным иммунодефицитом развивается ПТБТПХ.

Популяция больных, наиболее подверженных развитию БТПХ, включает новорожденных, детей и подростков, врожденные иммунодефициты у которых часто не диагностируются до переливания крови. В данной группе наиболее велик риск нераспознанной БТПХ. Так, среди детей до 2 лет, получавших трансфузии, у 0,1–1 % развилась ПТБТПХ.

В последнее время особое внимание обращается на ПТБТПХ у пациентов, считавшихся ранее иммунокомпетентными.

Значимыми факторами риска ПТБТПХ являются трансфузии свежей крови, кардиохирургические операции, злокачественные новообразования, принадлежность к мужскому полу. Из верифицированных случаев ПТБТПХ 39 % зарегистрировано у кардиохирургических и 36 % — у онкологических пациентов. В Японии ПТБТПХ развивается у 1 из 650 кардиохирургических пациентов. Представляют интерес сообщения о развитии БТПХ при использовании HLA-гомозиготных и родственных доноров [Thaler M. et al., 1989; Olto H., Yasuda H., 1992].

Mincheff M. (1998) установил, что после 15 дней хранения цельной крови или на 5–7-й день хранения эритроцитов (отмытых) в безбелковой среде Т-лимфоциты утрачивают способность к пролиферации, что, по-видимому, достаточно для профилактики ПТБТПХ. При этом апоптотные лейкоциты экспрессируют фосфатидилсерин, увеличивающий прокоагулянтную активность хранящейся крови.

Для подтверждения диагноза БТПХ используют биопсию кожи, а также HLA-типирование реципиента, донора и фибробластов реципиента [Brubaker D., 1986].

При исследовании значимости цитокинов в развитии БТПХ установлена важная роль интерлейкина-6 и γ -интерферона. Отмечают, что содержание этих цито-

кинов повышалось к 4-му и достигало пика к 7-му дню после трансплантации клеток селезенки (у мышей). Содержание вырабатывающих γ -интерферон клеток было в 5–10 раз выше после аллогенной, чем после сингенной трансплантации. При этом содержание ФНО, интерлейкина-2 и -4 не повышалось. В качестве одного из признаков БТПХ предложено исследовать уровень содержания молекул межклеточной адгезии. Повышенное содержание этих молекул позволяет сделать вывод об отторжении трансплантата или о воспалении [Rothlein R., Marlin S., 1993].

Таким образом, факторами риска ПТБТПХ является иммунодефицит у реципиента и высокое содержание иммунокомпетентных клеток в трансфузионной среде. Для профилактики ПТБТПХ предложено использовать: 1) гамма-облучение гемокомпонентов в дозе 25 Гр для подавления пролиферации Т-лимфоцитов [Holland P. V., 1999]; 2) очищающие фильтры для удаления лейкоцитов из трансфузионной среды [Moroff G., Luban N., 1992] (см. раздел 4.5).

1.8. Иммунологическое обеспечение гемокомпонентной терапии после трансплантации костного мозга

Жесткие режимы цитостатической полихимиотерапии в сочетании с ТКМ приводят к длительной (3–4 нед) аплазии костномозгового кроветворения. Наиболее опасным осложнением этого периода является геморрагический синдром, коррекция и профилактика которого осуществляется трансфузиями аллогенных донорских тромбоцитов. Однако у 5–10 % больных к переливаемым тромбоцитам развивается рефрактерность, возникают посттрансфузионные реакции негемолитического типа.

Развитие рефрактерности к донорским тромбоцитам связывают с развитием анти-HLA-сенсibilизации, так как даже в тех случаях, когда антитела не были обнаружены, подбор доноров тромбоцитов по антигенам системы HLA улучшал результаты трансфузий [Fauchet R. et al., 1982].

Для своевременного выявления рефрактерности к аллогенным тромбоцитам используют корректные клинические показатели инкремента (прироста) тромбоцитов. В настоящее время общепринятыми являются два показателя посттрансфузионного прироста тромбоцитов:

1) скорректированный прирост тромбоцитов (СПТ):

$$\text{СПТ} = \frac{(\text{абс. прирост тромбоцитов, } 10^9/\text{л}) \times (\text{площадь поверхности тела, м}^2)}{\text{количество перелитых тромбоцитов, } 10^9};$$

2) посттрансфузионный выход тромбоцитов (ПВТ), который определяется по формуле:

$$\text{ПВТ} = \frac{(\text{абс. прирост тромбоцитов, } 10^9/\text{л}) \times \text{ОЦК, л}}{\text{количество перелитых тромбоцитов, } 10^9} \times 100 \%$$

В данном исследовании для оценки эффективности трансфузии был выбран показатель ПВТ, для оценки которого использованы следующие критерии рефрактерности: 1) через 1 ч после трансфузии ПВТ менее 20 %; 2) через 24 ч после трансфузии ПВТ отсутствует.

Для иммунологического обеспечения больным, которым осуществлялись ТКМ, были применены следующие методы исследования:

- HLA-фенотипирование пациентов;
- подбор гистосовместимых доноров из числа лиц, включенных в регистр типированных доноров Военно-медицинской академии;
- исследование анти-HLA-сенсibilизации реципиента еженедельно после начала гемотрансфузионной терапии;
- постановка перекрестных проб в лимфоцитотоксическом тесте и методом тромбоцитоагглютинации.

Как правило, перекрестные пробы проводят в тех случаях, когда появляются аллоантитела у реципиента или при обнаружении ранних признаков рефрактерности (снижение ПВТ ниже 15 % после двух трансфузий тромбоцитоконцентрата). Однако в данном исследовании перекрестные пробы проводились нами перед каждой трансфузией для совершенствования методов их оценки.

Иммунологический мониторинг по представленной схеме проведен нами у 4 больных, получивших ауто-ТКМ. Из них двое больных миеломной болезнью, 1 — лимфогранулематозом и 1 — неходжкинской злокачественной лимфомой. Данные HLA-фенотипирования и сведения о наличии гистосовместимых доноров представлены в табл. 1-40.

Таблица 1-40

HLA-фенотип, трансфузионный режим и аллосенсibilизация пациентов, получивших ауто-ТКМ

Пациент	Группа крови	HLA-фенотип	Число трансфузий		Уровень лимфоцитотоксических антител		Число совместимых доноров	Число перекрестных проб (+/-)
			эритроциты	тромбоциты	ИС, %	специфичность		
Кр.	0(I)+	A2,x/B12,13	3	4	0	—	6	6/6
Гал.	A(II)+	A2,9/B27,40	16	12	28	CREG-1+8	5	2/14
Ст.	A(II)+	A1,2/B8,27	4	4	0	—	8	4/4
Гат.	0(I)+	A9,32/B40,21	7	2	0	—	1	2/2

Период агранулоцитоза у наблюдаемых больных продолжался с 4—5-го дня до 24—35-го дня после трансплантации аутологичного костного мозга; период тромбоцитопении — с 5—8-го дня до 14—22-го дня. Минимальные значения концентрации лейкоцитов в крови составили $0,3 \times 10^9/\text{л}$, а минимальные значения тромбоцитов — $15 \times 10^9/\text{л}$.

У одного больного анти-HLA-антитела были выявлены на 15-й день после трансплантации, их специфичность была анти-CREG-1 (A1+A2), а с 22-го дня расширилась за счет появления антител к перекрестной группе CREG-8 (B8+BI4). При этом индекс сенсibilизации увеличивался с 10 до 28 %, а сила реакций возросла от 20 до 60 %. Полученные данные позволили исключить из числа возможных доноров лиц, имеющих в своем фенотипе соответствующие антигены.

При проведении перекрестных проб в лимфоцитотоксическом тесте и методом тромбоцитоагглютинации у 3-х больных (Кр., Ст., Гал.) нам не встретились положительные перекрестные пробы, свидетельствующие о несовместимости гемокomпонентов. Напротив, у больного Гал. (лимфогранулематоз) (и. б. № 3261) после 10 трансфузий тромбоцитоконцентрата и 14 трансфузий эритроконцентрата в тесте тромбоагглютинации были выявлены антитела, неспецифически агглютинирующие тромбоциты различных доноров. Пробы в лимфоцитотоксическом тесте при этом оставались отрицательными. Тромбоцитоконцентраты 2 доноров, дававшие положительную перекрестную пробу (число агглютинировавших тромбоцитов — 30 %), не были перелиты. Тромбоцитоконцентраты от 2 других доноров, показавших тромбоцитоагглютинацию с сывороткой пациента соответственно 10 % и 15 %, были перелиты больному. При этом ПВТ составил соответственно 10,1 % и 5,4 %, что указывало на развитие рефрактерности. Однако в связи с тем, что первые признаки рефрактерности появились у больного сравнительно поздно (на 26-й день после ауто-ТКМ), т. е. к моменту выхода из состояния аплазии костного мозга, существенного значения на исход трансплантации развившаяся сенсibilизация не имела.

Анализ причин, приведших к развитию аллосенсибилизации, показал, что сенсibilизация развилась к антигенам, не представленным у донора тромбоцитоконцентрата, и следовательно, является следствием многократных трансфузий в те же сроки эритроконцентрата, содержащего до 30 % первоначального количества лейкоцитов.

Полученные данные заставили нас пересмотреть требования к гистосовместимости эритроцитсодержащих компонентов. У 3 последующих больных, получавших ауто-ТКМ, были применены трансфузии аутологичных эритроцитов, заготовленные до операции или криоконсервированные донорские эритроциты, практически полностью лишенные примеси лейкоцитов. В некоторых случаях применяли трансфузии отмытых эритроцитов (концентрация лейкоцитов в которых не превышает 15–20 % от исходной концентрации в цельной крови). Ни у одного из этих 3 больных признаков аллосенсибилизации или рефрактерности не отмечено.

Проведенное исследование показало, что успешное проведение гемотрансфузионной терапии в период аплазии костного мозга у больных с ауто-ТКМ зависит не только от степени гистосовместимости переливаемых тромбоцитов, но и от вида переливаемых эритроцитсодержащих сред. Для пациентов, получавших ауто-ТКМ, наиболее подходящими являются аутологичные или донорские криоконсервированные эритроциты [Багаутдинов Ш. М., 1998].

Полученные результаты свидетельствуют, что выбранные методы постановки перекрестных проб являются достаточно чувствительными и информативными для диагностики развивающейся рефрактерности и могут быть рекомендованы для широкого клинического применения.

1.9. Организация подбора гистосовместимых компонентов крови в многопрофильном лечебном учреждении

Создание банка гистотипированных доноров и полученные данные о закономерностях анти-HLA-сенсibilизации позволили обосновать систему подбора гистосовместимых компонентов крови в многопрофильном специализированном

лечебном учреждении. Моделью такого учреждения были клиники Военно-медицинской академии.

С учетом выявленного риска аллосенсибилизации на основе экспертной оценки больных, поступающих на лечение в крупные многопрофильные военные лечебные учреждения, были сформированы 4 группы реципиентов гемотрансфузионной терапии. К I группе были отнесены лица, нуждающиеся в аллогенных трансплантациях органов или тканей (пациенты с хронической почечной недостаточностью, гемобластомами, апластической анемией и др.). Такие больные часто нуждаются в гемотрансфузионной терапии в связи с наличием анемии, геморрагического или инфекционно-токсического синдромов. Если проведение гемотрансфузионной терапии осложняется развитием аллосенсибилизации, это может стать непреодолимым препятствием для нахождения гистосовместимого донора и приведет к отказу от планируемой трансплантации.

II группу составили так называемые «трансфузиозависимые» больные с врожденными аномалиями эритроцитов, гемоглобинопатиями, гемофилией, апластической анемией и др. Эти лица в течение многих лет нуждаются в трансфузионной поддержке как важнейшем факторе жизнеобеспечения. Снижение эффективности гемотрансфузий вследствие развития аллосенсибилизации значительно ухудшает течение основного заболевания и ограничивает возможности оказания помощи этим больным.

В III группу включены больные, у которых высока вероятность проведения повторных курсов гемотрансфузий. Сюда могут быть отнесены лица с последствиями ожоговой травмы, механическими повреждениями и огнестрельными ранениями, которым планируются реконструктивные операции, проводимые в несколько этапов. Предшествующая аллосенсибилизация может существенно затруднить подбор необходимых эритроцитсодержащих сред и других компонентов.

В IV группу отнесены больные, нуждающиеся в проведении краткосрочных курсов гемотрансфузионной терапии.

Разработанные программы иммунологического мониторинга определялись степенью риска аллосенсибилизации и были различны для каждой из групп.

Основной задачей мониторинга при подборе компонентов крови для больных I и II групп была профилактика аллосенсибилизации. Для больных III группы была поставлена задача профилактики посттрансфузионных реакций. Для больных IV группы целенаправленный мониторинг не проводился, так как вероятность аллосенсибилизации и осложнений, связанных с ней, у этих реципиентов минимальна.

Подбор гистосовместимых гемокомпонентов по программе мониторинга проводился для 25 реципиентов эритроцитсодержащих сред с гематологическими и хирургическими заболеваниями. Система мониторинга была внедрена и опробована на базе клиники гематологии и клинической иммунологии и клиники сердечно-сосудистой хирургии. Подбор гистосовместимых лейкоцитоконцентратов был внедрен и опробован в клиниках термических поражений и военно-полевой хирургии.

По изложенной ниже схеме обследовано 5 реципиентов лейкоцитотрансфузий.

Подбор гистосовместимых гемокомпонентов проводился следующим образом. Перед началом трансфузионной гемотерапии врач, ответственный за переливание крови в клинике, определял, к какой из вышеперечисленных групп риска по развитию аллосенсибилизации относится данный больной. В направлении, передава-

емом в Центр крови и тканей, указывали Ф. И. О. пациента, диагноз, трансфузионный анамнез и группу риска по развитию аллосенсибилизации. Для выполнения исследований в Центр крови и тканей передавали 5 мл гепаринизированной крови больного (20 ЕД/мл) и 5 мл крови больного без стабилизатора.

Базовыми исследованиями при подборе гистосовместимых компонентов крови были определение HLA-фенотипа реципиента и скрининг анти-HLA-антител. Полученные результаты позволили подобрать гистосовместимых доноров из числа лиц, включенных в регистр типированных доноров.

Из 25 реципиентов, нуждавшихся в трансфузиях эритроцитсодержащих сред, к I группе отнесены 6 человек, которым могла быть показана аллогенная трансплантация костного мозга в случае нахождения гистосовместимого донора костного мозга. Данные о проведенных трансфузиях представлены в табл. 1-41.

Таблица 1-41

**Трансфузии эритроцитсодержащих сред,
проведенные реципиентам I группы риска**

Пациент	Диагноз	HLA-фенотип	Число совместимых доноров	Число трансфузий эритроцитов		Анти-HLA-сенсibilизация после трансфузий (ИС, %)
				криоконсервированные	гистосовместимые	
В-в	Острый лейкоз	A1,3/B7,8	4	10	2	0
Л.	Острый лейкоз	A2,x/B13,15	3	8	—	0
В-ва	Гипопластическая анемия	A2,9/B14,16	3	12	1	0
К.	Гипопластическая анемия	A10,x/B18,12	2	6	—	0
М.	Острый лейкоз	A2,1/B7,40	4	10	—	0
С.	Миеломная болезнь	A3,11/B13,7	3	13	1	0

Представленные в табл. 1-41 данные свидетельствуют, что гемокомпонентная терапия этим больным проводилась преимущественно криоконсервированными и отмытыми эритроцитами, только в некоторых случаях (4 из 63) использовались эритроцитсодержащие среды от гистосовместимых доноров.

Перед трансфузиями эритроцитсодержащих компонентов крови перекрестные пробы не проводились, так как ни у одного из этих больных гемотрансфузии ранее не проводились и предшествующей аллосенсибилизации не было. Анти-HLA-антитела определяли у больных данной группы еженедельно в ходе проведения гемотрансфузионной терапии и в течение 3 нед после ее окончания. После трансфузий эритроцитсодержащих сред от гистосовместимых доноров и криоконсервированных эритроцитов анти-HLA-сенсibilизация не была выявлена ни в одном случае.

II группа больных, нуждающаяся в проведении гемотрансфузионной терапии эритроцитсодержащими средами при проведении плановых операций (19 чело-

век), была отнесена к III группе риска. Из них 8 человек ранее получали гемокомпоненты или имели в анамнезе несколько беременностей. У этих 8 больных была изучена предшествующая анти-HLA-сенсibilизация на панели с донорскими лимфоцитами. Анти-HLA-антитела были выявлены у 2 больных (ИС — 16 % и 22 %, специфичность соответственно анти-B5-35 и анти-A2).

Для сенсibilизированных больных подбор гемокомпонентов проводили так же, как для больных I и II групп риска, используя преимущественно криоконсервированные эритроциты. В тех случаях, когда криоконсервированные эритроциты не были доступны, перед трансфузиями эритроцитоконцентрата проводили перекрестную пробу в лимфоцитотоксическом тесте, используя сыворотку реципиента и лимфоциты донора. В случае положительной пробы эритроцитоконцентрат отводился как неподходящий для переливания.

При переливании эритроцитсодержащих компонентов ни у одного из наблюдаемых 44 пациентов посттрансфузионных реакций не было.

Подбор гистосовместимых лейкоцитоконцентратов осуществлен также для 5 реципиентов с острыми гнойно-септическими заболеваниями (пневмония, эндокардит, ожоговая болезнь). Все эти больные были отнесены к III группе риска, так как до трансфузий лейкоцитарной плазмы все они получали свежзамороженную плазму, эритроцитоконцентрат, консервированную кровь. Трансфузии лейкоцитов были назначены в связи с тяжелым (критическим) состоянием больных и неэффективностью антибактериальной терапии. Остроту гнойно-воспалительного процесса характеризовали температура тела ($38,6 \pm 0,6$ °C), лейкоцитоз ($11,2 \pm 0,6 \times 10^9/\text{л}$), СОЭ ($47,0 \pm 2,1$ мм/ч), количество палочкоядерных нейтрофилов ($9,1 \pm 1,4 \times 10^9/\text{л}$).

Лейкоцитоконцентрат получали с использованием цитафереза от HLA-совместимых доноров. Перед трансфузиями лейкоцитоконцентрата проводили перекрестные пробы в лимфоцитотоксическом тесте и методом лейкоцитоагглютинации. Все перекрестные пробы давали отрицательные результаты. Посттрансфузионные реакции и осложнения не были отмечены. После проведенных курсов лейкоцитотрансфузий у реципиентов отметили снижение температуры тела ($37,2 \pm 0,4$ °C), нормализацию СОЭ ($25,0 \pm 2,4$ мм/ч) и улучшение гематологических показателей (лейкоцитоз — $10,0 \pm 0,8 \times 10^9/\text{л}$, палочкоядерные нейтрофилы — $7,1 \pm 0,6 \times 10^9/\text{л}$).

Анти-HLA-антитела исследовали еженедельно во время курса лейкоцитотрансфузий и в течение 3 нед после его окончания. Нарастание титра антител после трансфузий лейкоцитоконцентрата у больного Н-н не отмечалось, так как трансфузии проводились только от доноров, не имеющих этого антигена. Незначительная по силе сенсibilизация к антигену A2 (титр 1:2) у больного К-о обусловлена наличием этого гена на лейкоцитах двух доноров со степенью совместимости С (табл. 1-42).

При проведении перекрестных проб переливание гистонесовместимых компонентов блокировалось, клинических последствий развившаяся сенсibilизация не имела.

Внедрение в практику работы Центра крови и тканей системы, направленной на выявление аллосенсibilизированных лиц и поиск гистосовместимых доноров, позволило заметно сократить число посттрансфузионных реакций в клиниках академии. Несмотря на то что в последнее время с внедрением в практику стимуляторов гемопоэза [Жибурт Е. Б. и др., 1996] и, в частности, гранулоцитопозза (см. подробнее раздел 4.2) количество трансфузий концентрата лейкоцитов резко

сократилось, этот гемокомпонент не должен быть исключен из арсенала трансфузиолога. Так, Д. Н. Балашов и соавт. (1999) по результатам применения трансфузий гранулоцитов у пациентов с тяжелым бактериальным и грибковым инфекционным процессом, не контролируемым антибактериальными и противогрибковыми препаратами и ростовыми факторами (Г-КСФ, ГМ-КСФ) на фоне агранулоцитоза, приходят к выводу об эффективности этого метода лечения. Трансфузии донорских лейкоцитов после пересадки костного мозга увеличивают продолжительность ремиссии у большинства пациентов с рецидивом хронического миелогенного лейкоза, а также у некоторых больных острым миелоидным лейкозом, миелодиспластическими синдромами и множественной миеломой, индуцируя процесс «трансплантат против лейкоза» [Kolb H.-J., 1998].

Приведенные данные свидетельствуют, что мероприятия, направленные на выявление аллосенсибилизированных лиц, система поиска гистосовместимого донора и постановка перекрестных проб позволяли адекватно решать проблемы профилактики аллосенсибилизации и посттрансфузионных реакций.

Таким образом, разработанная и внедренная в Центре крови и тканей Военно-медицинской академии система скрининга аллосенсибилизированных больных и подбора гистосовместимых гемокомпонентов является эффективной для профилактики посттрансфузионных реакций и осложнений.

Таблица 1-42

Аллосенсибилизация пациентов, получавших трансфузии лейкоцитоконцентрата

Пациент	Диагноз	HLA-фенотип	Число совместимых доноров	Число трансфузий в анамнезе	Число трансфузий лейкоцитоконцентрата	Предшествующая сенсибилизация (ИС, %)	Сенсибилизация после окончания лейкоцитотрансфузий
К-в.	Сепсис	A9,11/B15,22	3	5	5	Нет	Нет
Н.	Сепсис	A2,x/B35,12	4	7	7	Анти-CREG-1; 15,5 %	Анти-CREG-1; 15,5 %
А.	Сепсис	A1,11/B5,27	2	3	3	Нет	Нет
К-о	Ожог	A3,x/B7,27	3	5	5	Нет	Анти-A2; 8,0 %
Л.	Ожог	A2,32/B5,18	2	6	6	Нет	Нет

1.10. Молекулярно-генетические методы в трансфузионной медицине

Быстрый рост знаний о геноме человека, наблюдающийся в последние десятилетия, позволил внедрить самые современные технологии в практическую медицину. Критическими моментами, которые позволили успешно применять новые молекулярные технологии в диагностике заболеваний, стали возможности определять генотип и фенотипическую экспрессию гена на индивидуальном уровне. В настоящее время молекулярные технологии внедряются в трансфузиологию в

целях диагностики (генотипирование тромбоцитов, гранулоцитов, эритроцитов и лейкоцитов, микробиологическое тестирование), для стабильной интеграции генов в гемопоэтических стволовых клетках (генотерапия), для производства продуктов крови (факторов свертывания) трансгенными животными и клеточными линиями, а также ингибции экспрессии специфических генов антисмысловыми олигонуклеотидами (табл. 1-43). Детально разработанные к настоящему времени технические приемы позволяют относительно легко проводить манипуляции с генами, а именно определять различные аллели или обеспечивать экспрессию генов млекопитающих в клетках культивируемых линий или в организме животного [Avent N. D., 1998].

Таблица 1-43

Применение молекулярно-генетических методов в трансфузиологии

1. Типирование по лейкоцитарным антигенам HLA II класса (DR, DQ, DP) для подбора гистосовместимых пар донор—реципиент.
2. Типирование по антигенам тромбоцитов (HPA) — определение причин посттрансфузионных негемолитических реакций и рефрактерности к трансфузиям аллогенных тромбоцитов.
3. Типирование по антигенам гранулоцитов (NA) — определение причин посттрансфузионных негемолитических реакций и этиологии гранулоцитопений.
4. Определение эритроцитарных антигенов — определение причин посттрансфузионных гемолитических реакций, профилактика гемолитических реакций новорожденных.
5. Микробиологическое тестирование донорской крови — профилактика гемотрансмиссивных инфекций, в том числе обследование пулов и минипулов донорской крови, контроль инаktivации вирусов при производстве препаратов крови.
6. Генотерапия — стабильная интеграция генов в гемопоэтические стволовые клетки.
7. Производство факторов свертывания крови трансгенными животными и клеточными линиями — альтернативный источник биологически чистых белков крови для заместительной терапии.
8. Ингибция экспрессии специфических генов антисмысловыми олигонуклеотидами — удаление злокачественно трансформированных клеток из ауотрансплантата костного мозга и аутологичных гемотрансфузионных средств у гематологических больных.

1.10.1. Полимеразная цепная реакция

Среди методов, обеспечивших технологический прогресс в трансфузиологии, наибольшее место принадлежит полимеразной цепной реакции (ПЦР). ПЦР является ферментной реакцией, позволяющей в относительно короткое время (часы) синтезировать миллионы копий выбранных участков ДНК. Количество исходного материала, используемого для амплификации, может быть мало (от пикодо нанограммов ДНК). ПЦР составляют три повторяющихся последовательных этапа, проводимых в одной пробирке.

Основные стадии ПЦР-анализа

Денатурация — расхождение цепей двойной спирали ДНК, которое достигается при нагревании до 91–95 °С.

Отжиг — при снижении температуры до 50–70 °С находящиеся в реакционной смеси праймеры связываются с комплементарным участком одноцепочечных ДНК. (Праймеры, короткие олигонуклеотидные затравки длиной 18–30 нуклеотидов, определяют специфичность ПЦР.)

Синтез — при температуре 72 °С фермент Таq-полимераза начинает удлинять праймер, присоединяя к нему нуклеотиды в последовательности, задаваемой ДНК-матрицей. После первого цикла как исходная ДНК, так и ДНК, образованная в ходе ферментативной реакции, служат матрицами на втором и последующих циклах.

Последовательное изменение температурных режимов в специальных термоджиклерах (амплификаторах) при достаточном количестве праймеров и нуклеотидов обеспечивают увеличение концентрации исследуемых участков ДНК в несколько миллионов раз за 30–35 циклов.

Необходимый минимум оборудования для ПЦР-лаборатории представлен в табл. 1-44.

Таблица 1-44

Необходимый минимум оборудования для ПЦР-лаборатории

1. Микропипетки автоматические с переменным объемом 0,5–10 мкл; 5–40 мкл; 40–200 мкл; 200–1000 мкл.
2. Наконечники к микропипеткам.
3. Микропробирки полипропиленовые на 0,2 мл, 0,5 мл и 1,5 мл.
4. Штативы для микропробирок.
5. Микроцентрифуга (не менее 10 000 об/мин).
6. Встряхиватель типа «Вортекс».
7. Термостат на 20–100 °С
8. Программируемый термостат (термоджиклер, амплификатор).
9. Камера для горизонтального электрофореза с источником постоянного тока.
10. Ультрафиолетовый трансиллюминатор с фотоаппаратом или система видеокомпьютерной детекции.

Модификации ПЦР. В зависимости от состава праймеров амплификация может быть «аллель-специфичной» или «консенсусной». В первом случае — ПЦР с сайт-специфическими праймерами (метод ПЦР-ССП) — о наличии в генотипе определенного аллеля судят непосредственно по образованию продукта ПЦР при использовании праймеров, специфических для данного аллеля. Данный метод довольно широко используется для HLA- и HPA-типирования [Olerup O. et al., 1992; Valentini T. et al., 1999]. Т. Довс и соавт. (1999) рекомендуют ПЦР-ССП для определения генотипов систем АВ0, RH, Kell, Kidd и Duffy у реципиентов множественных трансфузий.

При проведении «консенсусной» ПЦР участок экзона амплифицируется независимо от аллельного полиморфизма соответствующего гена. Идентификация аллеля исходной ДНК-матрицы осуществляется в данном случае на стадии пост-

ПЦР-анализа. Предложенные для этой цели методы весьма разнообразны, каждый из них имеет свои преимущества и недостатки. Так, гетеродуплексный анализ [Sorrentino R. et al., 1991], несмотря на относительную простоту в его использовании, может быть применен только при подборе родственной пары «донор—реципиент» для аллогенной трансплантации костного мозга, поскольку обладает низкой разрешающей способностью и не позволяет судить об аллельном статусе типизируемого гена. Определение ПЦР-продукта, напротив, дает исчерпывающую информацию о нуклеотидной последовательности исследуемого участка ДНК. Данный метод незаменим при установлении новых аллельных вариантов генов HLA, однако его использование ограничено высокой стоимостью и трудоемкостью такого анализа.

Широкое распространение получил метод **ПЦР-ССО** (ПЦР с последующей гибридизацией продукта с сайт-специфическими олигонуклеотидными зондами). Здесь специфичность ПЦР-продукта определяется его способностью образовывать двухцепочечные ДНК-комплексы в ходе реакции гибридизации с олигонуклеотидными зондами [Saiki R. K. et al., 1989]. Особого внимания заслуживает вариант метода ПЦР-ССО, включающий обратную дот-блот гибридизацию, когда амплификат в ходе одной реакции гибридизации тестируется с набором олигонуклеотидных зондов, фиксированных на твердофазной подложке — мембране, либо планшете [Bugawan T. L., Eriich H. A., 1991; Cros P. et al., 1992]. Преимущество данной технологии заключается в сочетании высокой разрешающей способности такого ПЦР-теста с относительной простотой его выполнения. Более того, использование микропланшета в качестве носителя олигонуклеотидных зондов позволяет полностью автоматизировать процесс генотипирования [Cros P. et al., 1992].

При невозможности использовать клеточную ДНК в качестве матрицы (например, при диагностике инфекции РНК-содержащими вирусами), в качестве первичного субстрата используют специфическую информационную РНК. С помощью фермента обратной транскриптазы (ревертазы) на мРНК синтезируют ее ДНК-копию (кДНК), которая и становится матрицей для последующей ПЦР. Такое сочетание ревертазной и ДНК-полимеразной цепной реакции получило название **РТ-ПЦР**.

Основные достоинства метода ПЦР

1. В отличие от ИФА, серологических, бактериологических и вирусологических исследований, ПЦР является прямым методом, позволяющим определять наличие генома вирусов и бактерий в крови при отсутствии специфических антител и антигенов.
2. Чувствительность и специфичность ПЦР близки к предельно возможной: детектируются единичные копии генома.
3. Высокая специфичность метода обусловлена тем, что в исследуемом материале выявляется уникальный, характерный только для данного вида возбудителя, фрагмент ДНК или РНК. Специфичность задается нуклеотидной последовательностью праймеров и специально отработываемыми жесткими условиями их присоединения. В отличие от серологических методов, ПЦР позволяет исключить проблемы, связанные с перекрестно-реагирующими антигенами.
4. Результат получают в течение нескольких часов, т. е. одного рабочего дня.

5. Для ПЦР практически пригоден любой материал, в том числе и гистологические препараты, сухие пятна крови и тканей.
6. ПЦР позволяет определять концентрацию возбудителя в пробе, т. е. проводить количественное тестирование — определять количество копий возбудителя в пробе и тем самым контролировать вирусемию или бактериемию в процессе лечения.
7. Снижается возможность инфицирования персонала, поскольку исследуемый материал дезинфицируется лизисом и высокой температурой при проведении ПЦР. Более того, возможна химическая или термическая дезинфекция при отборе исследуемого материала, следовательно, возможность инфицирования персонала в процессе проведения исследования может быть полностью исключена.
8. ПЦР позволяет быстро и надежно выявлять такие состояния, как вирусо- и бактерионосительство, которые нередко наблюдаются у клинически здоровых серонегативных лиц. Положительные результаты, как правило, должны иметь подтверждающие тесты. ПЦР в качестве подтверждающего теста дает самые достоверные данные, намного превосходящие иммуноблот-анализ.
9. Количество исследуемого материала, как правило, составляет несколько микролитров.
10. Простота исполнения и возможность полной автоматизации.
11. Возможность строгого контроля ПЦР-методов в соответствии со стандартными протоколами, что является обычной практикой в трансфузионной медицине.

1.10.1.1. Генотипирование лимфоцитов (исследование генов системы HLA)

Долгое время самым распространенным подходом к идентификации полиморфизма антигенов HLA оставался микролимфоцитотоксический метод, обладающий целым рядом преимуществ перед другими методами в рутинной практике. Внедрение серологических методов HLA-типирования с использованием панелей антисывороток позволило добиться стандартизации при определении аллельспецифичных антигенов (так называемых «специфичностей»). Однако отсутствие качественных серологических реагентов в ряду HLA-антигенов ограничивает возможности этого метода. Кроме того, из-за низкой экспрессии HLA-антигенов доля ошибочных результатов при серологическом определении может достигать 20–25 % [Блинов М. Н. и др., 1994; Бубнова Л. Н. и др., 1998]. Таким образом, недостаточно высокая надежность стандартных иммунологических методов при типировании HLA-антигенов требует развития новых подходов для решения данной проблемы.

Значительный прогресс в этом направлении достигнут благодаря успехам молекулярной генетики, в частности, клонированию кДНК HLA-генов и созданию на их основе специфических для каждого гена «зондов», позволяющих анализировать изменения в структуре ДНК [Andersson M. et al., 1984]. В 1986 г. было показано, что при гидролизе геномной ДНК рестриктазой Taq I и фракционировании обработанного препарата ДНК путем электрофореза в геле с последующей Саузерн-блот-гибридизацией у различных индивидов наблюдается «полиморфизм длин рестрикционных фрагментов» (ПДРФ) [Bidwell J. L., Jarrold A., 1986]. Образуемый при этом спектр полученных рестрикционных фрагментов соответ-

вует определенной специфичности исследуемого антигена [Carlsson B. et al., 1987]. Эти результаты явились началом нового этапа в типировании антигенов HLA II класса, позволяющих выявлять существующие различия в антигенной структуре на уровне ДНК. Анализ ПДРФ стал первым из методов идентификации полиморфизма генов HLA, основанных на принципе ДНК-типирования. Он позволил охарактеризовать полиморфизм гена DQA1, многообразие аллельных вариантов генов DRB1 и DQB1 [Cox N. J. et al., 1988]. Однако широкое использование ПДРФ в клинических целях было затруднено технической сложностью и длительностью проведения анализа. Кроме того, HLA-типирование на основе ПДРФ позволяло судить о структуре кодирующих участков только косвенно [Simons M. J. et al., 1989].

Новый этап в разработке методов ДНК-типирования антигенов HLA ознаменовал открытие ПЦР. HLA-генотипирование на основе ПЦР явилось одним из наиболее интенсивно развивающихся направлений данной технологии. Сочетание высокой чувствительности и специфичности реакции с простотой ее постановки и быстротой проведения анализа сделало методы, основанные на ПЦР, наиболее информативными и удобными в рутинной практике HLA-типирования. Метод ПЦР быстро внедряется в практическую работу лабораторий, так как не требует долговременной работы по созданию обширных коллекций редких антисывороток (табл. 1-45). Министерством здравоохранения РФ зарегистрирована первая отечественная тест-система для HLA-генотипирования (DQA1; ООО МЦ «Авиценна», Москва).

Таблица 1-45

Число распознанных аллелей в локусах главного комплекса гистосовместимости HLA

I класс		
HLA-A 61 (18)	HLA-B 130 (35)	HLA-C 36 (8)
II класс		
HLA-DRB1 137 (14)	HLA-DQB1 25 (6)	HLA-DP 66 (?)

Примечание:

В скобках показано число аллелей, идентифицируемых серологически [Buysse I. et al., 1993].

Внедрение перечисленных выше методов ДНК-типирования для определения антигенов HLA в значительной мере обусловило прогресс, наблюдаемый в последнее время практически во всех областях медицины и биологии, связанных с изучением этой сложной генетической системы. Клиническое использование молекулярно-генетических методов HLA-типирования позволило добиться значительных успехов в трансплантологии. Так, годовая выживаемость пересаженных аллогенных почек в центрах, перешедших на селекцию доноров на основе молекулярно-генетического типирования, выросла на 10–15 %. Эти данные, полученные на основе международного анализа, проведенного G. Opelz (1997), совпадают с результатами совместной программы, осуществленной московским координационным центром органного донорства и Институтом иммунологии МЗ РФ [Алексе-

ев Л. П. и др., 1997; Opelz G. и др., 1997]. Еще более впечатляющими являются данные, полученные за последние 2–3 года в результате реализации национальных (США) и международных программ по пересадке аллогенного неродственного костного мозга. Благодаря ДНК-типированию при селекции пар «донор–реципиент» и созданию «банка» HLA-генотипированных доноров, включающего 1,5 млн человек, годовую выживаемость пересаженного костного мозга удалось повысить с 10–20 % до 70–80 % [Dupont B., 1997]. В свою очередь это привело к тому, что количество трансплантаций костного мозга от неродственных доноров в США (где наибольшее количество генотипированных доноров и пациентов) за период 1993–1997 гг. выросло более чем в два раза. При этом средняя эффективность (по тем же параметрам) при пересадке «родственного» костного мозга составила по международным данным не более 40 %. Этот впечатляющий эффект от пересадки неродственного костного мозга достигнут исключительно за счет подбора «полностью» HLA-совместимых пар «донор–реципиент» [Dupont B., 1997].

1.10.1.2. Генотипирование эритроцитов

В последние годы в трансфузионную практику широко вошли реагенты для типирования клеток крови на основе моноклональных антител, которые стали доступными в необходимых количествах. Однако набор специфичных моноклональных антител к антигенам групп крови все еще не является достаточно полным. Генотипирование эритроцитарных антигенов на основе ПЦР пока используется только в референс-лабораториях, где оно обеспечило новый импульс развития в этой области.

Генотипирование эритроцитов наиболее целесообразно использовать в тех случаях, когда получение клеток крови затруднено или даже связано с определенными опасностями, например, при необходимости антенатального генотипирования плода при высоком риске гемолитической болезни новорожденного. Стоит заметить, однако, что все еще не решен ряд важных проблем при молекулярном типировании, связанных с генетическим разнообразием различных популяций. Например, у большинства кавказоидов (европеоидов) D-негативный фенотип возникает при полной делеции RHD гена [Colin Y. et al., 1991], тогда как у негроидов [Daniels G. L. et al., 1997], японцев [Okuda H. et al., 1997] и отдельных субпопуляций европеоидов имеется неповрежденный RHD ген, который, однако, четко различается по числу нуклеотидных оснований. До тех пор пока не будет понят молекулярный механизм образования этих D-негативных генотипов, сохранятся проблемы практического применения в клинике D-генотипирования представителей этих популяционных групп. Поэтому в странах с разнообразной этнической структурой населения при обследовании плода должна быть учтена этническая принадлежность родителей.

Сходная ситуация существует и при генотипировании по системе AB0. Существует много генетических вариантов нулевого (0) фенотипа эритроцитов, которые варьируют в различных этнических группах [Grunnet N. et al., 1994; Olsson M. L. et al., 1996a; Olsson M. L. et al., 1996b]. Генотипирование с помощью ПЦР уже используется в некоторых референс-лабораториях для подтверждения присутствия редких антигенов или для определения вариантов групповых антигенов, которые создают проблемы при трансфузиях или при беременности.

1.10.1.3. Генотипирование тромбоцитов

Как и при генотипировании эритроцитов, началось стремительное проникновение молекулярно-генетических методов для определения тромбоцитарных антигенов в случаях высокой вероятности тромбоцитопении новорожденных, когда получение тромбоцитов сопряжено с трудностями [Udom R. I., Bussel J. B., 1995; Kaplan C. et al., 1996]. Разрушение тромбоцитов аллоантителами до уровня тромбоцитопении (менее $100 \times 10^9/\text{л}$) приводит к тому, что только очень небольшое количество тромбоцитов бывает доступно для серологического исследования. Для методов, основанных на ПЦР, независимо от количества тромбоцитов, достаточным для определения генотипа являются примерно 100 мкл крови или 1 мл амниотической жидкости). Всего имеется пять типов дигаллельных тромбоцитарных антигенов, сенсибилизация к одному из которых (анти-НРА-1а) является наиболее частой причиной аллоиммунной тромбоцитопении новорожденного. Уже разработаны тест-системы на основе ПЦР для всех антигенов, имеющих клиническое значение (см. также раздел 1.4.6).

1.10.1.4. Генотипирование гранулоцитов

Несколько тяжелых патологических состояний, в том числе иммунная нейтропения новорожденных и нейтропения, обусловленная лекарственными препаратами, обусловлены антителами к гранулоцитам. При нейтропениях индивидуальное фенотипирование с помощью серологических методов сопряжено с техническими трудностями, так как нейтрофилы — короткоживущие клетки, легко активирующиеся, а антисыворотки к ним относительно малодоступны [Bux J., 1996]. В связи с этим для замены серологических исследований гранулоцитов может использоваться ПЦР-анализ, так как для его проведения также требуется малое количество ДНК, которая, к тому же, может быть получена из различных тканевых источников. В настоящее время разработаны реактивы для генотипирования гранулоцитов по антигенам NA1 и NA2 (экспрессирующимся на Fcγ-рецепторах нейтрофилов FcγIIIb) [Stein E. L. et al., 1994; Bux J. et al., 1995].

О применении ПЦР в диагностике гемотрансмиссивных инфекций см. раздел 2.3.

1.10.2. Производство рекомбинантных продуктов крови

Широкие исследования в этой области определили необходимость производства значительных количеств рекомбинантных белков для проведения заместительной терапии пациентам с врожденными заболеваниями системы крови. Проблемы инфицирования больных гемофилией, возникающие при использовании продуктов из обширных пулов человеческой плазмы, контаминированной ВИЧ и другими гемотрансмиссивными вирусами, определили очевидные преимущества введения рекомбинантных факторов свертывания. Среди первых охарактеризованных генов человека еще в 1980-х годах был ген фактора VIII. Белок фактора VIII (2332 аминокислоты) продуцируется в значительных количествах культурами овариоцитов китайского хомячка (ОКХ), в которые был трансфектирован соответствующий участок ДНК человека. Интенсивные исследования по клонированию кДНК фактора VIII позволили создать промышленную технологию произ-

водства этого продукта [Kaufman R. J., 1992]. Клонирование фактора VIII впервые позволило подробно изучить биосинтез этого белка у млекопитающих. При продукции мутантного (делетированного) белка было установлено, какой домен этого протеина отвечает за его правильную сборку, включая функционально важную ассоциацию с фактором Виллебранда, существенную для стабильности синтезированного белка. Рекомбинантный белок фактора VIII был экспрессирован в линии ОКХ, трансфецированной кДНК в экспрессионном векторе, содержащем выбранный специфический генетический маркер дегидрофолатредуктазу (ДГФР). Эти клеточные линии были далее ко-трансфецированы плазмидой, содержащей кДНК фактора Виллебранда и, в качестве селективного маркера, аденозиндезаминазу (АДА). Используя селективные ингибиторы ДГФР и АДА (метотрексат и 2-дезоксикоформицин, соответственно), ОКХ были изолированы как клетки, экспрессирующие и фактор VIII, и фактор Виллебранда, т. е. полностью функциональный фактор в бессывороточной среде [Kaufman R. J. et al., 1989].

В настоящее время имеется два лицензированных рекомбинантных фактора VIII, доступных для больных гемофилией, а именно препараты фирм Байер и Бакстер—Хайленд, которые прошли широкие клинические испытания. Лицензированы и некоторые препараты других факторов свертывания, включая факторы VIIa и IX [Roddie P. H., Ludlam C. A. 1997]. Производство и клиническое использование этих белков ярко демонстрирует возможности молекулярно-биологических технологий для производства рекомбинантных продуктов крови. См. также разделы 4.1. (об эритропоэтине) и 4.2. (о колониестимулирующем факторе гранулоцитов).

1.10.3. Ингибция генного синтеза с применением антисмысловых олигонуклеотидов

Новым чрезвычайно интересным видом препаратов, которые могут в ближайшем будущем стать доступными для медицинского использования, являются антисмысловые дезоксиолигонуклеотиды. Уже активно проводятся клинические исследования, в которых антисмысловые олигонуклеотиды используются как лечебные препараты, а дополняющие их фундаментальные исследования значительно обогатили представления о функционировании генов. Антисмысловые олигонуклеотиды могут специфично ингибировать экспрессию потенциально токсических генов, включая онкогены и вирус-специфические гены. Этого эффекта добиваются, назначая фосфорйодированные олигонуклеотиды (химическая модификация для повышения стабильности), которые комплементарны мишени мРНК (так называемые антисмысловые). Связываясь, эти олигонуклеотиды предотвращают трансляцию от мРНК к белковому продукту, разрушая трансляционный процесс в рибосомах.

Антисмысловые олигонуклеотиды были опробованы как агенты для очистки костного мозга от бластных клеток *ex vivo*, кроме того, их предполагают использовать при лечении больных ХМЛ и ОМЛ [Gewirtz A. M., 1997]. Было установлено, что уровень нормального клеточного транскрипционного фактора *c-myb*, белка с лейцин-зависимым ДНК-связывающимся доменом, повышен у больных ОМЛ, хотя его роль еще точно не установлена. Представляется, что лейкозные клетки в большей степени зависят от функции *c-myb*, чем нормальные клетки, и, таким образом, специфическое выключение («нокаут») синтеза *c-myb* может приводить к

удалению трансформированных лейкозных клеток. Обработка бластных клеток при ОМЛ и ХМЛ (перемешанных с нормальными мононуклеарами костного мозга) антисмысловыми олигонуклеотидами с-мyб приводила к тотальной ингибции колоние- и кластерообразования при культивировании в полужидких средах, в то время как обработка смысловыми с-мyб олигонуклеотидами такого действия не имела [Gewirtz A. M., 1997].

Использование антисмысловых олигонуклеотидов при миелотрансплантациях указывает на то, что они могут быть применены и в трансфузионной медицине у онкологических больных для «очистки» аутологичных компонентов крови и костного мозга от злокачественных клеток. Более того, этот новый класс лекарственных препаратов имеет потенциальные возможности и в других сферах трансфузиологии. Антисмысловые олигонуклеотиды способны ингибировать рост *Plasmodium falciparum*, при использовании для ингибции специфических ферментов паразитов (дигидроптероатсинтазы, рибонуклеотидредуктазы) и антигена ЕВА 175, ответственного за связывание паразитов с эритроцитами [Barker R. H., 1996]. Развитие этого нового класса антималярийных препаратов имеет чрезвычайно большое значение, обусловленное появлением высокорезистентных штаммов *P. falciparum*, которые устойчивы к проводимой химиотерапии.

1.10.4. Генная терапия в трансфузионной медицине

Одной из наиболее обещающих областей современной биологии является концепция соматической генной терапии. Первые положительные результаты были получены в этой области в 1990 г. при лечении двух детей, больных тяжелым врожденным иммунодефицитом, обусловленным дефицитом фермента аденозиндезаминазы [Blaese R. M. et al., 1995]. Разрабатываемые протоколы генной терапии направлены на устранение индивидуальных генных дефектов (мутаций) путем стабильной интеграции функционально полноценной копии гена. Наиболее частым методом введения нового гена является клонирование кДНК перемещаемого гена в ретровирус, который затем вводится в геном клетки при трансдукции ретровируса. В качестве других вирусных векторов используют аденовирусы и парвовирусы, но их применение пока менее успешно. Современное состояние генной терапии позволяет надеяться на значительный прогресс в будущем.

Глава 2. ГЕМОТРАНСМИССИВНЫЕ ИНФЕКЦИИ И ИХ ПРОФИЛАКТИКА

Общие положения

Важнейшей проблемой современной трансфузиологии является проблема гемотрансмиссивных инфекций. Оценка риска и меры профилактики возможных инфекционных осложнений — обязательное мероприятие при проведении гемотрансфузионной терапии.

Перечень основных инфекционных агентов, передающихся с компонентами и препаратами крови, представлен в табл. 2-1. Ведущее место среди современных гемотрансмиссивных микроорганизмов занимают вирусы. Сегодня общепризнанным является мнение, что среди форм вирусных инфекций (табл. 2-2) наиболее распространенной является персистенция, особенно ее скрытая форма. Оказалось, что все без исключения вирусы и большинство бактерий способны поддерживать в организме скрытую форму персистенции [Бухарин О. В., 1994; Зувев В. А., 1994].

Иммунодефицит является глобальной проблемой здравоохранения конца XX в. Всеобщее внимание привлекают инфекционные агенты, поражающие иммунокомпетентные клетки и вызывающие иммунодепрессию. Как правило, взаимоотношения таких микробов с макроорганизмом хозяина реализуются по механизму отрицательной обратной связи: активированный и размножающийся патоген угнетает резистентность организма хозяина, создавая тем самым условия для развития инфекционного процесса с поражением различных органов и систем. Угнетение функционального состояния иммунной системы также является ключевым звеном развития онкологических и множества других неинфекционных заболеваний. Передача с гемокомпонентами ретровирусов, вирусов герпеса и других иммуотропных патогенов — печальная реальность трансфузионной медицины сегодняшнего дня.

Ключевой проблемой для лабораторного обследования доноров является необходимость использования высокочувствительных диагностикумов для выявления маркеров гемотрансмиссивных инфекций [Leon P. et al., 1993, 1994] (подробнее см. разделы 2.1.4.2 и 2.3).

Положительные и неопределенные результаты скрининга доноров на маркеры гемотрансмиссивных инфекций в отсутствие системы подтверждающего обследования и критериев возврата в донорский контингент становятся все более существенной причиной уменьшения числа доноров в США [Sandler S., 1994].

Основные современные гемотрансмиссивные микроорганизмы**Вirusы**

Вирусy иммунодефицита человека I и II типов *
 Вирусy гепатита A, B *, C *, D, E, G (и другие?)
 Т-лимфотропные вирусy человека I и II типов
 Вирусy группы герпеса:
 Вирусy простого герпеса I и II типов
 Вирус опоясывающего герпеса
 Вирус Эпштейна—Барр
 Цитомегаловирус
 Вирусy герпеса человека VI, VII и VIII типов
 Парвовирус B19
 Вирус TT

Бактерии

Бледная трепонема *
 Возбудители бруцеллеза, сальмонеллеза, иерсиниоза, риккетсиоза, проказы

Простейшие

Возбудители малярии, трипаносомоза, лейшманиоза, токсоплазмоза

Протоны**Примечание:**

Знаком * отмечены инфекции, скрининг специфических маркеров которых обязательно проводится у всех доноров гемокомпонентов.

Таблица 2-2

Классификация форм вирусных инфекций

Клиническая характеристика инфекционного процесса	Время пребывания вируса в организме	
	непродолжительное	продолжительное (персистенция)
Без симптомов (внешне здоровый организм)	Инаппарантная инфекция	Латентная инфекция
С развитием симптомов заболевания	Острая инфекция	Хроническая инфекция Медленная инфекция

2.1. Посттрансфузионные гепатиты

Посттрансфузионные гепатиты (ПТГ) — гепатиты, возникающие после переливания крови, ее компонентов и препаратов, контаминированных вирусами гепатитов B, C, D и другими, цитомегаловирусом, а также в результате передачи вируса с кровью вирусоносителя (донора, больного, медицинского работника) в процессе работы с донорами и выполнении трансфузиологических операций. Посттрансфузионные гепатиты в настоящее время рассматриваются как вариант

артифициального (созданного искусственно медициной) механизма передачи инфекции вирусной, бактериальной или протозойной природы при нарушении правил асептики (через инструментарий, руки медицинского персонала).

По распространенности и тяжести клинических последствий такие гепатиты занимают ведущее место среди гемотрансмиссивных инфекций (см. табл. 2-1).

Следует подчеркнуть, что определение «кровь» традиционно является обобщающим. При профилактике посттрансфузионных гепатитов аналогичные меры безопасности должны быть приняты как в отношении цельной крови, так и ее компонентов и препаратов, не подвергающихся пастеризации (криопреципитат, фибриноген и др.). Отдельные препараты крови (альбумин, протеин и др.) и реагенты, производимые из нее, подвергаются инаktivации вирусов и, соответственно, более безопасны.

В трансфузионной медицине профилактика ПТГ обеспечивается с помощью активного выявления источника инфекции; разрыва путей передачи вируса; профилактической работы с лицами из групп высокого риска заражения гепатитом; строжайшего соблюдения асептических мероприятий на всех участках работы с кровью, требований по обеззараживанию инфицированных гемотрансфузионных средств, аппаратуры, инструментария. Сложность проблемы обуславливает необходимость участия в ее решении широкого круга специалистов: врачей поликлиники (учреждения), персонала учреждений службы крови (терапевта, экстрасфузиониста, хирурга, лаборанта), лечебных учреждений, осуществляющих гемотрансфузионную терапию и экстракорпоральную гемокоррекцию, эпидемиологов и инфекционистов.

2.1.1. Этиологическая структура посттрансфузионных гепатитов

В разных странах удельный вес ПТГ среди гепатитов с парентеральным путем передачи неодинаков и в начале 1990-х годов составлял от 2 до 17 %. Так, если в Голландии, Австралии, Финляндии он составляет до 5 %, а в Германии, Франции, США и Японии до 10 %, то в Испании и Италии этот показатель достигал 21 %. В СНГ частота регистрируемых ПТГ составляет менее 10 % от всех гепатитов с парентеральным путем передачи. Абсолютное количество случаев ПТГ находится в прямой зависимости от общей заболеваемости гепатитами В, С и D на каждой конкретной территории, состояния службы крови, частоты бессимптомного носительства вирусов гепатитов В, С и D среди населения, интенсивности реализации других путей передачи этих гепатитов и т. д.

За последние 3 года заболеваемость гепатитом В в Москве возросла в 1,5 раза (преобладает заражение при внутривенном введении наркотиков), что повышает риск рекрутирования инфицированных лиц в донорский контингент. Этому способствует и «омоложение» острых гепатитов — среди больных с верифицированным гепатитом в Санкт-Петербурге преобладает возрастная группа 15—29 лет (58—76,5 % среди больных с верифицированным гепатитом В и 55—60 % — с гепатитом С). К. В. Жданов и соавт. (1999) сообщают, что среди лиц молодого возраста — пациентов клиники инфекционных болезней — как острый, так и хронический гепатит С протекает бессимптомно в 63 % случаев и выявляется, как правило, при обследовании в донорском центре.

Причиной ПТГ в 50—60 % случаев является вирус гепатита С, в 25—30 % — вирус гепатита В, в 4—6 % — цитомегаловирус, и в 1—4 % — другие вирусы. Несом-

ненно, что данные официальной регистрации заболеваемости гепатитами В и С являются далеко не полными, так как не учитывают многочисленные случаи острых гепатитов, протекающих без желтухи [Онищенко Г. Г., Шахгильдян И. В., 1999].

Инкубационный период. Длительность инкубационного периода является одним из важных критериев при характеристике инфекционного заболевания, поскольку он отражает особенности взаимодействия конкретного вируса и организма человека. Патогенетические процессы, происходящие в инкубационном периоде, в общем виде заключаются: 1) в количественном увеличении (размножении) возбудителя; 2) распространении его по организму и достижении органа или органов, являющихся основным объектом поражения (клетки-мишени); 3) патологическом воздействии на клетки и ткани; 4) защитной реакции макроорганизма. Начало клинических проявлений инфекции соответствует тому моменту, когда поражение клеток и тканей выходит за пределы сдерживающих возможностей организма и возникает дисфункция органа. Продолжительность инкубации зависит от: 1) вида и вирулентности возбудителя; 2) количества инфицирующего агента; 3) состояния защитных и компенсаторных систем организма-хозяина; 4) способа попадания возбудителя в организм.

Длительность инкубационного периода для вирусных гепатитов человека: гепатит В — 80 сут (от 40 до 200), гепатит С — 40 сут (от 14 до 60). В случаях ПТГ инкубационный период имеет тенденцию к сокращению.

При ПТГ регистрируется весь спектр клинических проявлений, характерных для гепатитов В, С и D.

Группы риска — лица, объединенные по принципу повышенной вероятности заражения тем или иным инфекционным заболеванием в результате более частых, длительных или тесных контактов с источником инфекции. Эта вероятность определяется, с одной стороны, характером профессиональной деятельности и другими социальными условиями жизни, а с другой — способами передачи заразного начала данной инфекции.

Группы высокого риска заражения гепатитом В составляют:

- дети, родившиеся от матерей, инфицированных вирусом гепатита В; вероятность заболевания таких детей в течение первых двух лет жизни — до 90 %;
- наркоманы, вводящие наркотики внутривенно;
- лица, страдающие хроническими гематологическими заболеваниями, которым показаны повторные переливания гемотранфузионных средств;
- персонал медицинских учреждений, имеющий контакт с кровью и другими материалами от больных, в особенности, сотрудники гематологических отделений, отделений гемодиализа, эфферентной терапии, учреждений службы крови, хирургических, послеоперационных и туберкулезных отделений, отделений реанимации и интенсивной терапии. В Москве показатель заболеваемости гепатитом В среди медицинских работников почти в 3 раза превышает таковой для взрослого населения. Маркеры гепатита В у медработников выявлены в два, а анти-ВГС — в три раза чаще, чем среди взрослого населения. Существуют специальные данные, свидетельствующие о том, что при проведении внутривенных инъекций и взятии крови персонал в 50–60 % случаев подвергается случайным ранениям каждые 3–6 мес. Лица, работающие в сфере похоронных услуг, в 70 % случаев имеют интенсивные контакты с патологическим материалом, а в 50 % случаев получают порезы,

уколы и другие травмы при работе. Патологоанатомы подвергаются подобным профессиональным повреждениям с частотой 1 случай на 26—29 биопсий или 37 вскрытий, а стажеры — в 5 раз чаще, при этом систематически наблюдается попадание тканевых экссудатов на лицо, в глаза, в разрывы перчаток. Специальные исследования показывают, что 9 % виниловых и 6 % латексных перчаток проницаемы для мелких вирусов [Воробьев А. А., Макаров В. В., 1997].

— проститутки, гомосексуалисты.

Посттрансфузионный гепатит С (ПТГС) в различных странах составляет от 50 до 88 % всех случаев ПТГ. Следует подчеркнуть вариабельность абсолютных и относительных показателей распространенности как ПТГС, так и других ПТГ по мере совершенствования медицинских технологий. Особенностью ПТГС является высокая частота (более 50 %) развития хронических форм. Ранее вирус, вызывающий гепатит С, обозначали как «ни А, ни В», передающийся парентеральным путем. Впервые в практике медицины тест-система для диагностики ВГС-инфекции была создана до выделения вируса [Alter H., 1991; Reesink H. et al., 1992]. В настоящее время известно 12 генотипов ВГС [Tsuji T. et al., 1994]. При сравнении геномов различных штаммов ВГС установлена их значительная вариабельность (гомология порядка 62—95 %) [Kato N. et al., 1992]. Клинико-лабораторные показатели у вирусоносителя и больного связаны с типом генома ВГС [McOmish F. et al., 1993].

Некоторые авторы находят общие черты у ВГС и вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) [Eyster M. et al., 1991; Murphy M. et al., 1990]. Однако ВИЧ-инфекция (как и цитомегаловирусная инфекция) сопровождается изменением гемопоэза и существенным нарушением субпопуляций иммунокомпетентных клеток, а при ВГС-инфекции (особенно персистирующей) не выявлено отклонений показателей гемо- и иммунограммы [Prince H., Fang C., 1992]. Установлено, что ВГС более устойчив к инаktivации, чем ВИЧ [McAuley C. et al., 1992]. До введения обязательного обследования доноров гемокомпонентов на анти-ВГС у 12,4 % кардиохирургических пациентов сероконверсия наблюдалась в течение 6 мес после оперативного лечения. Прослеживается связь риска заражения с количеством гемотрансфузий: у получивших от 1 до 12 гемотрансфузий сероконверсия отмечена в 6,6 %, у получивших более 12 гемотрансфузий — в 16,3 % [Wang Y. et al., 1984].

Посттрансфузионный гепатит В (ПТГВ) в СНГ составляет до 40—50 % всех ПТГ. Трансфузия крови, содержащей HBsAg, вызывает гепатит В у 50—89 % реципиентов. Риск заражения ПТГВ возрастает у реципиентов, получающих многократные и массивные трансфузии крови, ее компонентов и препаратов.

Возбудителем гепатита В является вирус гепатита В (ВГВ). Первоначальное название антигена данного вируса — «австралийский антиген» связано с его обнаружением в сыворотках крови австралийских аборигенов. Позднее он был идентифицирован как поверхностный антиген ВГВ (HBsAg). Одним из свойств вируса гепатита В является его способность индуцировать развитие первичного рака печени. Особенность ВГВ — высокая инфекционность, которая в сыворотке крови сохраняется даже в разведениях 10^7 — 10^8 при температуре 30—32 °C — в течение 6 мес; при –20 °C — в течение 15 лет; при 96 °C — в течение 20 мин; при обработке сухим жаром (160 °C) вирус разрушается в течение 1 ч.

При одновременной инфекции вирусами гепатитов В и С отмечаются более серьезное поражение печени и склонность к онкогенезу [Tsukuma H. et al., 1993].

Посттрансфузионный гепатит D (ПТГД) — риск возникновения заболевания значительно ниже, чем при ПТГВ и ПТГС. Исключение крови с наличием HBsAg приводит к устранению образцов, в которых имеется вирус гепатита D. Вероятность заражения ПТГД при переливании крови, в которой не обнаружен HBsAg, ничтожна.

Посттрансфузионный гепатит, связанный с цитомегаловирусом (ЦМВ), является одним из проявлений посттрансфузионной ЦМВ-инфекции, доля которой среди гемотрансмиссивных инфекций составляет несколько процентов и резко увеличивается среди иммунокомпрометированных реципиентов. Как и другие герпесвирусы, ЦМВ обладает способностью персистировать в тканях и лейкоцитах в течение ряда лет после первичного инфицирования. Не содержащая антител к вирусу кровь здорового донора не несет в себе риска передачи инфекции. Лишь незначительная доля донорской крови с анти-ЦМВ действительно передает инфекцию. Однако в настоящее время весьма затруднительно отделить потенциально инфицирующие серопозитивные дозы донорской крови от неинфицирующих, но также содержащих анти-ЦМВ. Арбитражным методом выявления ЦМВ в крови является детекция его ДНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) (подробнее см. разделы 2.2.3 и 2.3). У лиц с адекватным иммунным ответом эти вирусы вызывают гепатит редко и в легкой форме. У реципиентов гемотрансфузионных сред с расстройством, подавлением клеточного иммунитета присоединение ЦМВ-инфекции ведет к развитию тяжелых висцеральных поражений, в частности, гепатита, часто со смертельным исходом. Поэтому при заготовке донорской крови (компонентов), предназначенной для трансфузии иммунокомпрометированным реципиентам, необходимо отбирать только анти-ЦМВ-отрицательных доноров.

Известно, что часть больных, перенесших явно посттрансфузионный гепатит, остается серонегативной в отношении всех маркеров известных ПТГ. Однако четкого представления о существовании **посттрансфузионных гепатитов F, G**, упоминаемых в научной литературе в настоящее время не сформировано. Описанный в последние годы за рубежом гепатит G в конце 1996 г. обнаружен в России [Львов Д. К., 1999] (подробнее см. раздел 2.2.5.1).

2.1.2. Закономерности эпидемиологии посттрансфузионных вирусных гепатитов

Проблемы контаминации вирусами гепатитов следует разделить на две группы: организационного и производственного характера.

К организационным дефектам относятся:

- недостаточный учет эпидемической обстановки в регионе, где планируется заготовка донорской крови;
- недооценка значимости медицинского анамнеза;
- привлечение к донорству лиц, имеющих противопоказания к кроводаче (см. раздел 2.1.3);
- привлечение к донорству лиц, относящихся к группам риска (см. раздел 2.1.1);
- недостаточная подготовка персонала;
- дефекты в организации работы службы крови, в том числе — в организации лабораторных исследований;

- недостаточно четкое взаимодействие станций (отделений) переливания крови и учреждений, осуществляющих лабораторные исследования.

Производственные дефекты возможны на всех этапах заготовки и лабораторной апробации крови.

При обследовании доноров:

- несоблюдение правил отбора доноров;
- нарушение правил взятия крови на исследование из пальца, вены (повторное использование инструментов и материалов одноразового использования, попадание крови на руки персонала);
- использование некачественно обработанных планшетов, капилляров, пробирок и/или других изделий многократного применения.

При взятии и фракционировании крови:

- нарушение правил венепункции, ведущее к попаданию крови донора на руки эксфузиониста;
- нарушение требований асептики при соединении двух и более полимерных контейнеров для компонентов крови, гемоконтейнера и бутылки с консервантом или отмывающим раствором;
- использование в работе полимерных контейнеров, имеющих микроповреждение и как следствие — разрыв (бой) гемоконтейнеров (бутылок) при центрифугировании крови;
- применение одного и того же инструмента (ножницы, скальпель) для разрезания соединительных трубок контейнеров с гемокомпонентами, герметизированных с помощью колец или узлов, у двух и более доноров;
- попадание донорской крови на руки персонала, выполняющего операции по ее заготовке и фракционированию.

Мероприятия по минимизации потенциального риска гемотрансмиссивных инфекций основаны на следующих положениях.

- За соблюдение мер безопасности на соответствующих участках работы отвечают все сотрудники, что обеспечивается прежде всего постоянным повышением профессиональной подготовки персонала и улучшением технического оснащения.
- Учитывая выявление новых инфекционных агентов, развитие медицинских технологий, следует периодически проводить переоценку адекватности мер безопасности.
- Каждый образец крови следует расценивать как возможно инфицированный. Особые меры безопасности могут потребоваться для материалов с высоким риском инфицирования (положительные контрольные образцы; кровь и ее компоненты, содержащие маркеры вирусов гепатитов, ВИЧ и т. д.).
- При загрязнении кровью оборудования кроме действий, указанных в разделе 2.1.5, могут потребоваться дополнительные мероприятия в соответствии с инструкцией производителя.

Руководитель медицинского учреждения обязан:

- постоянно совершенствовать общую организацию работы на основе улучшения технического оснащения и профессиональной подготовки персонала;

- обеспечить безопасность на всех рабочих местах, выдачу специальной одежды, перчаток и т. д.;
- проводить специальную подготовку сотрудников по выполнению мер безопасности;
- контролировать соблюдение правил техники безопасности на всех рабочих местах;
- предусмотреть возможность профилактической вакцинации против гепатита В всех сотрудников.

2.1.3. Организация донорства в профилактике посттрансфузионных гепатитов

Особенности современного социально-экономического положения в стране, снижение материального уровня жизни населения, ухудшение демографических показателей приводят к постепенному росту доли платного донорства крови и ее компонентов, повышению риска развития гемотрансмиссивных инфекционных заболеваний. Возрастает роль специалистов станций и отделений переливания крови по заблаговременному отбору доноров, а при необходимости — проведению предварительного исследования крови на маркеры вирусных гепатитов. Такой подход к донорству невозможен без активного привлечения к сотрудничеству врачей других лечебно-профилактических учреждений региона, в котором планируется заготовка крови. Исключение из списка потенциальных доноров лиц, имеющих противопоказания к донорству, а также относящихся к группам риска, составляет главную цель такого сотрудничества, позволяет уменьшить количество бракуемой крови и, следовательно, является экономически целесообразным.

Не допускаются к донорству лица:

- перенесшие гепатит любой этиологии независимо от сроков давности;
- применявшие наркотики в инъекционной форме (даже однократно);
- страдающие хроническими заболеваниями печени (цирроз печени, хронический гепатит), в том числе токсической и неясной этиологии;
- в сыворотке крови которых выявлен HBsAg, анти-HCV или повышенное содержание аланинаминотрансферазы.

Временно отстраняются от донорства лица:

- имеющие клиничко-лабораторные признаки заболевания печени (до установления диагноза);
- нанесшие татуировку или получавшие лечение иглоукалыванием (на 1 год);
- получавшие гемотрансфузии (на 1 год);
- имевшие контакт (в семье, подразделении) с больным вирусным гепатитом (на 6 мес);
- перенесшие холецистэктомию (на 6 мес).

На стадии врачебного осмотра непосредственно перед кроводачей специалист станции (отделения) переливания крови решает те же задачи: выявление и отстранение от донорства лиц, имеющих противопоказания. Весьма полезным может быть анкетирование и/или предварительное обследование доноров [Попова Н. Н., 1999].

Одновременно донору разъясняется назначение забираемой у него крови и необходимость ее уничтожения в случае выявления маркеров гемотрансмиссивных инфекций.

Важнейшими направлениями в профилактике посттрансфузионного гепатита являются:

- развитие аутодонорства, применение реинфузии крови;
- использование кровезаменителей, стимуляторов различных звеньев гемопоэза.

Дооперационное резервирование аутологичных сред (крови, плазмы, эритроцитов, тромбоцитов) является важным способом снижения объемов трансфузии аллогенной крови при проведении плановых хирургических вмешательств у ортопедических, кардиохирургических, гинекологических больных. Дозы (количество) и сроки заготовки аутокрови или ее компонентов зависят от времени проведения операции, величины прогнозируемой кровопотери, необходимости использования экстракорпорального кровообращения, интраоперационной гемодилюции. Решение о целесообразности и возможности заготовки аутологичных гемотрансфузионных сред принимают совместно врач-трансфузиолог и специалисты (начальник отделения, лечащий врач) конкретного лечебного учреждения. Реинфузию крови, излившейся в серозные полости (грудную, брюшную) во время плановой или ургентной операции, при отсутствии противопоказаний следует считать обязательной.

Обследование аутодоноров проводится на станции переливания крови в объеме, предусмотренном для доноров аллогенной крови. Больные-аутодоноры относятся к категории лиц с повышенным потенциальным риском инфицирования. Венепункция и заготовка крови должны выполняться в таком случае вне донорской операционной либо в отдельной зоне, либо в отдельное время. Заготовленные аутокровь и компоненты хранятся отдельно от донорских гемотрансфузионных сред.

2.1.4. Обследование доноров в профилактике посттрансфузионных гепатитов

2.1.4.1. Отбор проб крови для лабораторных исследований, маркировка, доставка

Для предупреждения заражения гепатитом доноров и персонала станции (отделения, нештатного пункта) переливания крови необходимо:

- использовать индивидуальные стерильные комплекты лабораторных инструментов и материалов для каждого донора;
- имеющиеся на коже рук персонала повреждения (ранки) заклеить лейкопластырем, работать только в резиновых перчатках, а при угрозе разбрызгивания крови — в масках;
- обрабатывать руки персонала, кожу донора в месте пункции (пальца, локтевого сгиба), а также поверхность лабораторных столов только по методикам, рекомендованным официальными документами;
- растворы для дезинфекции необходимо использовать в свежем разведении в течение рабочего дня;

- транспортировать кровь в закрытых пробирках и специальных контейнерах с надежно закрытыми крышками;
- при работе с кровью (сывороткой) использовать резиновые груши или автоматические пипетки с одноразовыми наконечниками;
- перемешивать кровь только в закрытых пробкой пробирках;
- при попадании крови донора на руки (перчатки), рабочее место немедленно обработать их 70 % этанолом или 1–3 % раствором хлорамина, или другим разрешенным антисептиком в течение 2 мин, а поверхность столов — 2 раза с интервалом 15 мин;
- кровь для исследований собирать в пробирку, на которой наклеена этикетка с указанием даты взятия крови, фамилии, инициалов обследуемого и доставлять в лабораторию вместе с документами донора (списки, донорские карточки).

Тщательная маркировка гемоконтейнеров, пробирок-спутников необходима для изъятия забракованной крови и проведения расследования в случае возникновения гепатита у донора и/или реципиента.

2.1.4.2. Лабораторное исследование маркеров вирусных гепатитов

Авторы не ставили себе задачей детальное описание методик исследований, используемых для детекции маркеров гепатитов, необходимых при обработке донорской крови, поскольку каждое исследование должно быть выполнено в соответствии с инструкциями производителя, прилагаемыми к используемым диагностикам и оснащению.

Непременным условием является то, чтобы все оборудование, используемое для исследований, было тщательно калибровано (например, погрешность автоматических пипеток не должна превышать 5 %) и верифицировано при введении в эксплуатацию и после ремонта, тщательно соблюдены инструкции по работе с диагностическими тест-системами, условия их хранения, сроки годности.

Общие требования к обследованию донорской крови

Обязательным является определение в крови доноров двух специфических маркеров вирусных гепатитов: поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) и антител к вирусу гепатита С (анти-ВГС), а также одного суррогатного — активности аланинаминотрансферазы, а также антител к ВИЧ-1, 2 и бледной трепонеме.

Исследование маркеров гемотрансмиссивных инфекций должно проводиться в лаборатории, имеющей соответствующую лицензию.

При выборе диагностикумов (тест-систем) для обследования доноров следует выполнять следующее.

- Использовать только реагенты и оборудование, сертифицированные для обследования крови доноров. Необходимо придерживаться самой последней инструкции производителя.
- Выбирать наиболее чувствительные тест-системы, позволяющие минимизировать количество ложноположительных (необоснованный отвод от донорства) и ложноотрицательных (риск заражения реципиента) результатов.

- По возможности поддерживать прямой контакт лаборатории и производителя тест-систем для обеспечения качества работы оборудования и персонала, а также для контроля «холодовой цепи» при транспортировке тест-систем. Это положение особенно актуально для России, поскольку, по данным И. А. Ольховского и соавт. (1999), в практических лабораториях отдаленных регионов параметры чувствительности и специфичности некоторых тест-систем существенно отличаются от значений, указанных в паспорте. Очевидно, что в такой ситуации следует отдавать предпочтение диагностикам с высокой устойчивостью к воздействию экстремальных температур.
- Обратить внимание на требования к образцу крови для исследования: объем пробы, маркировка, наличие и свойства антикоагулянта, срок заготовки образца, допустимые периоды и условия его хранения, другие параметры.
- Проверять свойства требуемых контрольных образцов и способ их использования. Если контрольные образцы поставляются производителем лицензированного теста, они должны использоваться именно с этим тестом.
- Проводить исследования с тщательно маркированным образцом от настоящей (последней) донации. При каждой донации, компоненты крови которой предназначены для аллогенного использования, должен быть выполнен весь комплекс исследований.
- Записывать результаты каждого исследования сразу же после просмотра; оценка результатов исследования производится лишь после его полного завершения. Документы по учету доноров и движения компонентов крови должны позволять отследить место нахождения любой дозы крови и каждого компонента из каждой дозы. Запись донорских доз и сведения о реципиентах должны позволять провести расследование побочных реакций, развившихся у реципиента. Предшествующие информационные материалы о доноре не исключают необходимости обследования донации для аллогенного использования.

Срок годности результатов исследования — 10 дней.

Исследование поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg)

Твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА) — метод выбора для скрининга донорской крови на HBsAg. В ИФА используется твердая подложка (например, микропланшет, шарик или пластинка), покрытая немеченной антисывороткой против соответствующего антигена. В качестве индикаторного материала используется такое же антитело, маркированное ферментом, присутствие которого может быть зарегистрировано по изменению окраски субстрата. Если образец содержит антиген, то последний будет связываться с антителом, фиксированным на твердой фазе, а с другой стороны будет связываться с индикаторным антителом, меченным ферментом.

Высокая чувствительность ИФА обуславливает полезность этого метода для массового скрининга, однако одновременно создает возможность ложноположительных реакций. До признания донора антиген-положительным — что имеет значительные клинические и социальные последствия и вызывает бессрочное отстранение от донорства, важно определить, действительно ли результат скрининга воспроизводим. Если начальный тест повторен в дубле и один из двух повторных

тестов реактивен, образец квалифицируется как повторно реактивный и доза крови (ее компоненты) должны быть забракованы.

Реакция нейтрализации для подтверждения результатов ИФА. Проведение подтверждающих исследований не является обязательным, однако общепринято выполнять повторно дополнительное исследование реактивных образцов в ИФА. В подтверждающих тестах с нейтрализацией реактивный образец инкубируется с человеческой сывороткой, заведомо содержащей антитела, специфичные к искомому антигену. Если при этом положительная реакция исчезнет или выраженность ее сократится не менее, чем на 50 %, а контрольные образцы реагируют, как и ожидалось, — присутствие антигена подтверждается и исходный результат расценивают как истинно положительный. Если инкубация с известным антителом не влияет на реактивность, то первичный результат расценивается как ложноположительный.

Параллельно с образцами крови донора или пациента должны тестироваться известные положительный и отрицательный контрольные образцы. Необходимо параллельно выполнять исследование с препаратом, заведомо содержащим антитела, специфичные к искомому антигену, и с препаратом, заведомо свободным как от антигена, так и от антител. Значения положительного и отрицательного контрольных образцов должны вписываться в регламентированные границы. Если процент нейтрализации не соответствует указанному в инструкции к набору, то исследование следует повторить.

Твердофазный иммуноферментный анализ для скрининга антител к вирусам

Твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА) часто применяется для скрининга на наличие антител к ВИЧ и ВГС. Для скрининга антител используется твердая подложка (микропланшет, шарик или пластинка), покрытая антигеном, приготовленным из рекомбинантных белков соответствующего вируса или синтетических пептидов. В большинстве диагностикумов используется принцип захвата. Сыворотка или плазма инкубируется с фиксированным антигеном; при наличии антител они прочно связываются с твердой фазой и остаются в этом состоянии после отмывания всей жидкой фазы. Затем добавляется конъюгированный с ферментом препарат антигена; если фиксированные антитела присутствуют — они связываются с меченым антигеном с образованием комплексов «антиген—антитело», которые могут быть определены путем измерения ферментативной активности. Специфические антитела, присутствующие в образце, будут конкурировать с антителами, конъюгированными с ферментом, тем самым уменьшая уровень активности фиксированного фермента по сравнению с результатами, полученными в присутствии нереактивного материала.

Исследование антител к вирусу гепатита С

Антитела к ВГС остаются единственным специфическим критерием этой инфекции, используемым в службе крови. Сама по себе природа антигена (рекомбинантный или синтетический) чувствительность тест-системы не определяет [Leon P. et al., 1994]. Выбор наиболее чувствительных тест-систем для скрининга доноров гемокомпонентов является актуальной научно-практической задачей.

Антитела к ВГС определяются спустя 2 мес после инфицирования, но могут и не появляться 3–6 мес [McAuley C. et al., 1992; Nelson K. et al., 1993]. Закономерности гуморального иммунного ответа при ВГС-инфекции во многом не изучены. Однако вряд ли исчезновение анти-ВГС-антител после проведения иммуносупрессивной терапии у пациентов с аутоиммунным гепатитом [Schvarz R. et al., 1991] является действительным признаком эрадикации вирусной инфекции.

Наряду с достижениями, в профилактике гепатита С сохраняются некоторые проблемы. Сроки появления антител к белкам ВГС весьма вариабельны. Как методы скрининга, так и подтверждающие методы могут давать ложноположительные и ложноотрицательные результаты [Caspari G. et al., 1993; De Beenhower H. et al., 1992; Yoshida C. et al., 1992]. В силу этого положительный результат скрининга на анти-ВГС-антитела является основанием для выбраковывания донорской крови и углубленного обследования донора [Caspari G. et al., Menitove J. et al., 1990].

Для обследования донорской крови целесообразно использовать тест-системы, в которых имеется возможность выявления антител классов IgG и IgM к структурным и неструктурным антигенам ВГС.

Образцы, дающие отрицательные результаты при скрининговом исследовании (в соответствии с инструкцией к диагностикуму), квалифицируются как отрицательные и не нуждаются в дальнейшем исследовании.

Образцы, дающие положительные результаты в первичном скрининговом исследовании, целесообразно повторно исследовать с использованием двух диагностикумов. Позитивная реакция в обоих повторных исследованиях или в одном из них означает положительный результат. Если в обоих повторных тестах позитивная реакция не выявлена — результат исследования образца расценивается как отрицательный.

При выявлении позитивной реакции образцов в первичном скрининговом исследовании доза донорской крови помещается на карантинное хранение до тех пор пока не станут известны результаты двойного повторного исследования. Все образцы крови и ее компонентов от «положительной» донации должны быть уничтожены. Факт уничтожения регистрируется документально.

Целесообразно, хотя и не обязательно, проведение дополнительного или подтверждающего исследования образцов с положительным результатом.

Выбор диагностикума оптимально определять в зависимости от количества образцов, подлежащих исследованию (цельные микропланшеты — на 90–92 исследования; стриповые тест-системы — на 4–24 исследования). При необходимости срочного исследования 1–3 образцов целесообразно использовать тест-систему, позволяющую провести индивидуальное исследование (см. раздел 2.2.2).

До венопункции донору разъясняют порядок действий учреждения с положительным результатом исследований. О любом отклонении, выявленном при лабораторном обследовании, целесообразно информировать доноров.

Определение других маркеров вирусных гепатитов при первичном обследовании доноров нецелесообразно. При неблагоприятной эпидемической обстановке в регионе (области, городе) соответствующие местные органы здравоохранения могут принять решение о расширении перечня параметров лабораторного обследования донорской крови [Barbara J. A. J., 1998], что связано с дополнительными расходами, трудозатратами и сокращением донорского контингента. Обосновано решение руководства Московской городской станции переливания крови о дополнительном генотестировании минипулов плазмы и криоконсервированной крови [Барановский П. М. и др., 1998; Елов А. А. и др., 1998]. В то же время вызы-

ваает недоумение порядок исследования билирубина в крови доноров в Санкт-Петербурге.

Обследование доноров крови в профилактике гепатита С

Представляет интерес изучение распространенности маркеров ВГС-инфекции среди доноров крови, оценка эффективности скрининга специфических и неспецифических маркеров ВГС, оптимизация методов профилактики гемотрансмиссивных инфекций.

Обследовали 7347 доноров крови, 80 % из которых составили молодые мужчины в возрасте до 30 лет ($23,4 \pm 0,9$ лет). В рамках общепринятого обследования исследовали активность АЛТ в сыворотке крови («Синтакон», Санкт-Петербург, «Лахема», Чешская республика). Донорскую кровь обследовали с использованием иммунодиагностикума для выявления антител к структурным и неструктурным белкам ВГС («Авиценна», «Аквапаст», Санкт-Петербург). Результаты иммуноферментного анализа оценивали с помощью диагностического комплекса для ИФА («ИЛИП», Санкт-Петербург).

Антитела к ВГС обнаружены в крови 95 доноров (1,29 %). Количественно уровень содержания антител можно охарактеризовать по соотношению оптической плотности пробы и критерия (минимальной пороговой оптической плотности) тест-системы. Повышение активности АЛТ зафиксировано у 135 человек (1,84 %), в том числе у 27 серопозитивных доноров. Результаты исследования маркеров ВГС-инфекции представлены в табл. 2-3.

Таблица 2-3

Результаты исследования маркеров гепатита С у доноров крови

Отношение оптической плотности образца к минимальной оптической плотности положительной пробы	Все доноры		С повышением АЛТ	
	п	%	п	%
< 1	7238	98,6	108	80,0
< 2,5	40	0,6	3	2,2
< 4	15	0,2	7	5,2
> 4	40	0,6	17	12,6

ВГС передается парентеральным путем, и образование антител к ВГС является звеном ответа иммунной системы на вирусную контаминацию. Содержание антител к ВГС (специфических иммуноглобулинов) опосредовано степенью вирусемии, состоянием иммунной системы пациента и ее взаимодействием с ВГС. Использование определения антител к ВГС в качестве диагностического показателя не исключает возможности ложноположительных (связывание неспецифических антител) и ложноотрицательных (подпороговое содержание антител) результатов. Тем не менее мировая практика показывает эффективность скрининга антител к ВГС у доноров для профилактики посттрансфузионных гепатитов, перспективным считают совершенствование тест-систем.

Повышенное содержание антител к ВГС, по-видимому, характерно для активного инфекционного процесса, сопровождающегося синдромом цитолиза, следствием чего является повышение активности АЛТ. Уровень содержания антител по результатам ИФА коррелирует с частотой положительных результатов подтверждающих методов исследования [Яшина Т. Л. и др., 1993].

Характерной чертой ВГС-инфекции принято считать флюктуацию уровня аминотрансфераз, поэтому специфические маркеры играют решающее значение в диагностике гепатита С, а суррогатные маркеры могут служить показателями функционального состояния гепатоцитов. В то же время нельзя исключить ситуацию, при которой повышение активности АЛТ сочетается с серонегативностью по результатам ИФА у донора, инфицированного вирусами гепатита. Причинами этого могут быть, с одной стороны, собственно снижение содержания искомым антител за счет особенностей иммунитета. С другой стороны, причиной отрицательного результата ИФА может быть недостаточная чувствительность тест-системы. Следует иметь в виду, что ВГС отличается высокой вариабельностью и полиморфизмом генома и аминокислотного состава [Yoshida C. et al., 1992]. Очевидно, что тест-объект иммунодиагностикума должен соответствовать наименее вариабельным участкам штаммов ВГС, характерных для конкретного региона. Не исключены изменения показателей чувствительности тест-систем вследствие географических особенностей распространения штаммов ВГС.

В группу с невысоким содержанием антител к ВГС, вероятно, входят лица, у которых инфекционный процесс находится в начальной стадии или имеет вялое течение без серьезного нарушения функции гепатоцитов.

Кровь серопозитивных доноров бракуется, а эти лица направляются на углубленное клинико-лабораторное обследование.

Известно, что особенности аллоантигенного состава тканей индивида определяют выраженность гуморального иммунного ответа и предрасположенность (резистентность) к различным заболеваниям, в том числе гепатитам. У серопозитивных доноров А(II) группы крови относительно снижено содержание антител к ВГС (рис. 2-1). Эту особенность следует учитывать при динамическом наблюдении [Жибурт Е. Б. и др., 1995].

Таким образом, обследование крови доноров на содержание антител к вирусу гепатита С является важным мероприятием по профилактике посттрансфузионного гепатита. Определение активности АЛТ в крови доноров как суррогатного маркера вирусного гепатита сохраняет свою значимость. Актуальными являются вопросы: а) повышения чувствительности и специфичности тест-систем, используемых при исследовании маркеров гемотрансмиссивных инфекций у доноров; б) возврата в донорский контингент лиц с ложноположительными результатами лабораторного обследования; в) утилизации серопозитивных гемокомпонентов.

Специфические и суррогатные маркеры гепатита С при скрининге донорской крови

2615 образцов донорской крови исследовали на содержание анти-ВГС-антител («Авиценна», Санкт-Петербург), тест-объектом в которой являются синтетические пептиды. В программу обследования донорской крови также входило определение активности АЛТ в сыворотке крови («Лахема», Чешская республика; «Синтакон», Санкт-Петербург), антител к ВИЧ-1, 2 (ИФА, «Авиценна»), HBsAg (ИФА, «Аквапаст»), антител к бледной трепонеме с использованием реакции

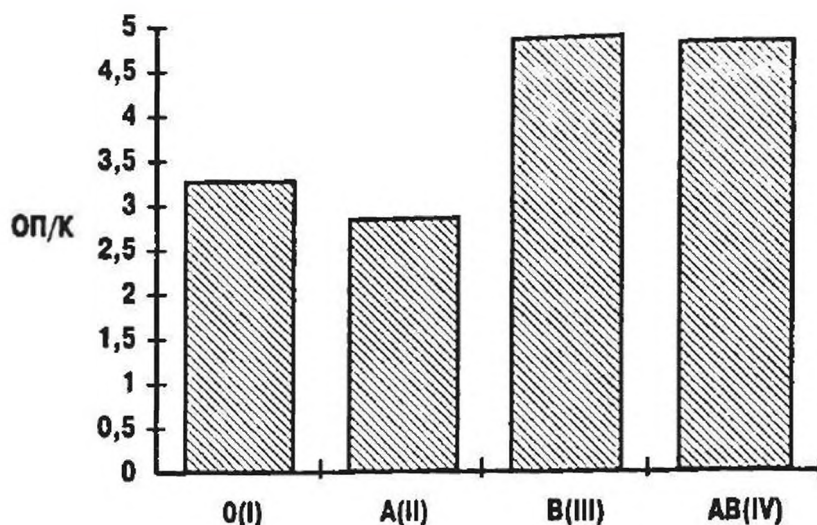


Рис. 2-1. Содержание антител к ВГС у серопозитивных доноров различных групп крови (ОП — оптическая плотность образца; К — минимальная оптическая плотность положительной пробы).

микропреципитации (Предприятие по производству бактериальных препаратов, Харьков).

Анти-ВГС-позитивные сыворотки дополнительно исследовали с использованием тест-системы НПО «Диагностические системы» (Нижний Новгород), тест-объектом в которой является рекомбинантный пептид, соответствующий белку, кодируемому соге-областью генома ВГС. Выполнили определение анти-НВс-антител, анти-НВе-антител, анти-ВГД-антител (НПО «Диагностические системы», Нижний Новгород).

Частота встречаемости маркеров гемотрансмиссивных инфекций у доноров сопоставима с популяционной. При расширенном исследовании 34 анти-ВГС-позитивных сывороток присутствие суррогатных маркеров установлено в 11 образцах, что составляет 32,4 % (табл. 2-4). В 2 случаях повышение активности АЛТ сочетается с анти-НВс-антителами.

Таблица 2-4

Результаты исследования анти-ВГС-позитивных сывороток

Отношение оптической плотности образца к минимальной оптической плотности положительной пробы	«Авиценна»			«Диагностические системы»		
	(n = 34)	с повышением АЛТ (n = 7)	анти-НВс+ (n = 6)	(n = 34)	с повышением АЛТ (n = 7)	анти-НВс+ (n = 6)
< 1	0	0	0	7	1	1
< 2,5	12	0	3	6	4	0
< 4	4	1	0	2	0	0
> 4	18	6	3	19	2	5

В то же время 7 анти-ВГС-положительных сывороток (20,6 %) оказались серонегативными при исследовании в тест-системе «Диагностические системы», в том числе в 1 пробе с повышением активности АЛТ и в 1 — с наличием анти-НВс-антител. Вполне возможно, что в данных сыворотках присутствуют антитела лишь к неструктурным белкам ВГС, хотя нельзя исключить и возможности ложноположительного результата в тест-системе «Авиценна». Для уточнения диагноза ВГС-инфекции необходимо обследование с использованием подтверждающих методов.

Проведенные исследования позволяют сделать следующие частные выводы.

1. Обследование донорской крови на анти-ВГС-антитела иммуноферментным методом позволяет в несколько раз снизить риск передачи ВГС с компонентами и препаратами крови. Также нужно обследовать доноров других органов и тканей. Предпочтение при скрининге донорской крови следует отдавать более чувствительным тест-системам. Менее чувствительные, но более специфичные тест-системы должны использоваться для более точной диагностики и оценке эффективности лечения ВГС-инфекции.
2. Определение активности АЛТ в донорской крови сохраняет профилактическое значение в отношении потенциально существующего гепатита ни А — ни G, а также в период «окна» — до сероконверсии инфицированного донора.
3. Целесообразно ввести обязательное обследование медицинских работников на ВГС-инфекцию. В связи с этим актуальной задачей является разработка критериев верификации диагноза ВГС-инфекции и основ профилактических, в том числе организационных, мероприятий [Жибурт Е. Б. и др., 1995].

Сравнительная оценка диагностических тест-систем для определения антител к вирусу гепатита С

Анализ работы служб крови, внедривших скрининг донорской крови на анти-ВГС-антитела, позволяет отметить: 1) по финансовым соображениям широкое внедрение тест-систем западного производства в практику работы службы крови стран СНГ в ближайшее время представляется проблематичным; 2) увеличивается количество отечественных производителей необходимых диагностикумов.

Представляет интерес исследование эффективности использования иммуноферментных тест-систем отечественного производства для скрининга донорской крови на анти-ВГС-антитела.

Обследовано 3308 доноров крови, около 80 % из которых составили мужчины 18–30 лет. При выполнении обязательных исследований антитела к вирусу гепатита С определяли с использованием иммуноферментного иммунодиагностикума производства НПП «Аквапаст», Санкт-Петербург (серия 12). В крови 43 человек (1,3 %) обнаружены анти-ВГС-антитела. Сыворотки крови этих доноров дополнительно обследованы на наличие анти-ВГС-антител с использованием следующих иммуноферментных тест-систем: «Аквапаст», (СП «Авиценна», НПП «Аквапаст», Санкт-Петербург) (серии 3 и 12), «Гепаскан» (БТК «Биосервис», Москва), находящейся в стадии разработки первой отечественной подтверждающей тест-системы «Блот-0,5» (БТК «Биосервис», Москва), «ImmunoComb» (Франция). Предназначенные для планшетной фотометрии тест-системы «Аквапаст» и «Гепаскан» относятся к иммуноферментным тест-системам второго поколения и со-

держат в качестве тест-объекта в лунках планшетов для иммунологических реакций иммобилизованную смесь рекомбинантных полипептидов, содержащих антигенные детерминанты структурного («сog») и неструктурного («NS4») белков вируса гепатита С.

Тест-объект в диагностикумах «Блот-0,5» и «ImmunoComb» представлен в виде двух отдельных участков: ядерный (С) и неструктурный (NS) белки вируса. Следует подчеркнуть, что разрабатываемая БТК «Биосервис» тест-система предусматривает одновременную раздельную детекцию методом иммуноблоттинга антител к четырем белкам ВГС.

После проведения первичного обследования сыворотку крови хранили в микропробирках при -20°C с однократным размораживанием перед повторным исследованием.

В табл. 2-5 представлены результаты выявления анти-ВГС-антител в каждом из 43 обследованных образцов.

Несовпадение результатов 3 исследований с использованием различных серий диагностикумов «Аквапаст» могут быть объяснены как различием тест-систем, так и влиянием замораживания-оттаивания перед повторным исследованием на структуру молекул антител. Этот фактор следует учитывать и при сравнительном анализе других тест-систем.

Максимальная специфичность зафиксирована у тест-системы «Гепаскан». Все 24 положительные сыворотки получили подтверждение позитивного результата при исследовании другими диагностикумами. Однако в ряде образцов, положительных в нескольких тест-системах, «Гепаскан» дал отрицательный результат.

Наряду с технологическими особенностями причиной отсутствия полной тождественности результатов исследований в тест-системах «Блот-0,5» и «ImmunoComb» может выступать высокий полиморфизм ВГС.

Известно, что у некоторых пациентов с множественными гемотрансфузиями интервал между первым подъемом активности сывороточной АЛТ и сероконверсией составляет от 5 до 38 мес. Первыми в сыворотке ВГС-инфицированных появляются антитела к неструктурным белкам NS3 и NS4 [Cornu C. et al., 1994]. Течение хронического вирусного гепатита С характеризуется флюктуацией уровня аминотрансфераз и изменением содержания антивирусных антител в сыворотке крови вплоть до полного исчезновения.

Результаты настоящего исследования и данные литературы позволяют констатировать отсутствие идеально чувствительного и специфичного диагностикума для выявления анти-ВГС-антител. Для скрининга доноров гемокомпонентов и других массовых обследований следует отдавать предпочтение максимально чувствительным тест-системам («Аквапаст»). При углубленном обследовании и диагностическом мониторинге лучше использовать высокоспецифичные тест-системы («Гепаскан»). Актуальной задачей является создание системы референтной и экспертной диагностики гепатита С, в которой ключевое место займут лабораторные исследования. Отсутствие такой декретированной системы сохраняет риск распространения гепатита С медицинскими работниками. Положительный результат скрининга следует рассматривать не как диагноз, а как показание к углубленному обследованию и лечению [Жибурт Е. Б. и др., 1996]. На основе подтверждающих методов исследования (иммуноблоттинг, методы молекулярной гибридизации) должны быть разработаны критерии возврата в донорский контингент лиц с ложноположительными результатами скрининга. H. Vrieling и соавт. (1997) показали, что лица, отстраненные от донорства вследствие наличия анти-ВГС по

ке крови 9217 доноров крови, около 80 % из которых составили мужчины 18–30 лет, определяли унифицированным дифенилгидразиновым методом («Синтакон», Санкт-Петербург). Повышение активности АЛТ более 0,67 ммоль/ч·л зарегистрировано у 210 (2,3 %) доноров. Эти сыворотки были исследованы на наличие анти-ВГС с использованием 3 тест-систем: «Аквапаст» («Аквапаст», Санкт-Петербург), высокая чувствительность которой показана выше в настоящем разделе; «ImmunoComb» («Orgenics», Израиль), иммуносорбент которой представлен в виде 2 отдельных участков; «Авиценна» («Авиценна», Санкт-Петербург), в которой в качестве иммуносорбента используются 3 синтетических пептида, аналогичных белкам ВГС: ядерному из области E1 (17 аминокислот) и 2 неструктурным из области NS4 (20 и 30 аминокислот). Также во всех образцах определяли наличие другого суррогатного маркера ГС — анти-НВс-антител класса IgG («Orgenics», Израиль).

Для контроля специфичности использовали 73 образца донорской крови, содержащих анти-ВГС по результатам первичного обследования с использованием тест-системы «Аквапаст».

Во всех случаях образцы сывороток отбирали после первичного обследования, хранили при -20°C и однократно размораживали перед повторным исследованием.

Результаты сравнительной оценки чувствительности тест-систем представлены в табл. 2-6. Специфические маркеры вирусных гепатитов обнаруживаются в 20–25 % случаев, что соответствует данным предыдущих исследований. В 19 (9 %) образцах анти-ВГС обнаружены с использованием лишь 1 из 3 тест-систем («Авиценна» или «ImmunoComb»). Положительный результат во всех 3 тест-системах зарегистрирован в 37 (17,6 %) образцах. По-видимому, возможность ложноположительного результата минимальна при совпадении результатов исследования в 2 тест-системах. Такие совпадения отмечены для тест-систем «Аквапаст» + «ImmunoComb» в 38, «Авиценна» + «ImmunoComb» — в 45 образцах.

Положительный результат скрининга анти-ВГС («Аквапаст») подтверждается более чем в 50 % случаев при использовании других иммуноферментных тест-систем. Следует иметь в виду, что несовпадение результатов исследований может быть объяснено как различием тест-систем, так и влиянием на структуру молекул антител замораживания-оттаивания перед повторным исследованием. Расхождение результатов тест-систем «Авиценна» и «ImmunoComb» отмечается в 4 (5,5 %) образцах, совпадение положительного результата — в 37 (50,7 %), отрицательного — в 32 (43,8 %) образцах.

Таким образом, тест-система «Авиценна» для определения анти-ВГС, в которой в качестве иммуносорбента используются синтетические пептиды, характеризуется высокой чувствительностью и специфичностью и может быть рекомендована для применения в учреждениях службы крови.

Высокий полиморфизм генома ВГС требует использования в качестве тест-объекта нескольких пептидов, кодируемых наиболее консервативными участками генома. Учитывая данные о раннем появлении в сыворотке инфицированных анти-ВГС к неструктурным белкам NS3 и NS4, можно рекомендовать при совершенствовании тест-системы «Авиценна» включить в тест-объект пептид из области NS3 [Жибурт Е. Б. и др., 1997].

Дополнительное введение нового фрагмента неструктурного белка NS3 позволило повысить реактивность антигена, что показано на сероконверсионной панели ВВ1 905 — выявление антител на 11–14-й день с начала заболевания (сыворотки 04 и 05). Использование комбинированного конъюгата стабилизировало и по-

высило показатели чувствительности по стандарту ВОЗ CLB Pelichek anti-HCV (до титра 1:512—1:1024) [Лисок Т. П. и др., 1999].

Таблица 2-6

Серологические маркеры ГС при повышении активности сывороточной АЛТ (n = 210)

Образцы		Результаты исследования в тест-системах				Наличие анти-НВс- антител
n	%	«Аквапаст»	«Авиценна»	«ImmunoComb»		
				C	NS	
116	55,2	-	-	-	-	-
31	14,8	-	-	-	-	+
3	1,4	-	-	-	+	-
2	1,0	-	-	+	-	-
5	2,4	-	+	-	-	-
1	0,5	-	-	+	-	+
1	0,5	-	+	-	+	-
7	3,3	-	+	-	-	+
1	0,5	-	+	+	-	-
1	0,5	-	+	+	-	+
3	1,4	-	+	+	+	-
1	0,5	-	+	+	+	+
10	4,8	+	+	+	+	+
18	8,6	+	+	+	+	-
3	1,4	+	+	+	-	+
5	2,4	+	+	+	-	-
1	0,5	+	-	+	-	+
1	0,5	+	+	-	+	-
Всего...	n	38	56	51		55
	%	20,5	26,7	24,3		26,1

Исследование антител к цитомегаловирусу

Цитомегаловирус (ЦМВ) обладает способностью персистировать в тканях и лейкоцитах в течение ряда лет после первичного инфицирования. Не содержащая антител к вирусу кровь не несет в себе риска передачи инфекции. Некоторые категории пациентов с иммунодефицитом должны быть защищены от возможного инфицирования или реинфицирования ЦМВ. Для этого целесообразно отобрать ан-

ти-ЦМВ-отрицательных доноров для приготовления клеточных компонентов крови. Исследование анти-ЦМВ не является обязательным, однако при его выполнении применяются обычные правила контроля.

Для определения антител может быть использован твердофазный иммуноферментный анализ, аналогично описанному для анти-ВГС. В инструкции к набору указано, можно ли с его использованием отдельно определить IgM- и IgG-антитела к вирусу.

Другим путем профилактики посттрансфузионной ЦМВ-инфекции (и других вирусных инфекций, возбудители которых персистируют в лейкоцитах) является удаление лейкоцитов из клеточных компонентов крови. С этой целью можно использовать центрифугирование с удалением лейкоцитарного слоя, отмывание свежих и криоконсервированных эритроцитов, специальные лейкоцитарные фильтры. Подробнее см. в разделе 2.2.3.

Суррогатные маркеры вирусных гепатитов

Суррогатные маркеры — неспецифические маркеры, дополняющие специфические тесты выявления возбудителя инфекционного заболевания.

Тестирование донорской крови на наличие суррогатных маркеров вирусных гепатитов было предложено до разработки и внедрения в производство специфических диагностикумов. По мере совершенствования специфических диагностикумов значимость исследования суррогатных маркеров вирусных гепатитов у доноров снижается.

Аланинаминотрансфераза (АЛТ, АлАТ) — фермент, катализирующий процесс переаминирования, т. е. обратимого переноса аминогруппы с L-аланина на альфа-кетоглутаровую кислоту, ранее назывался сывороточной глутаматпируваттрансаминазой, SGPT. Фермент присутствует во многих тканях организма, в частности в печени. В гепатоцитах он локализуется в цитоплазме клеток. Высвобождение АЛТ в кровь происходит при повышении проницаемости клеточных мембран, что свойственно как острому вирусному гепатиту, так и рецидивам хронического гепатита. В этой связи АЛТ считается «индикаторным ферментом», и к его определению прибегают постоянно при постановке диагноза гепатитов любой природы. Повышение активности АЛТ в циркулирующей крови встречается при различного рода поражениях печени, включая вирусную инфекцию, заболевания желчевыводящих путей, токсичность лекарств и алкоголя, гемохроматоз и ожирение.

Методы исследования АЛТ основаны на определении скорости образования пировиноградной кислоты. Наиболее распространенными являются спектрофотометрический и колориметрический методы.

Колориметрический метод (динитрофенилгидразиновый) основан на определении окрашенного комплекса пировиноградной кислоты. Нормальные величины активности фермента — 0,1–0,68 ммоль/л, коэффициент вариации метода — 2–6 %. Пробы сыворотки крови можно хранить до 5 сут при температуре 2–8 °С.

Спектрофотометрические методы основаны на принципе разницы поглощения при определенной длине волны восстановленной и окисленной форм никотинамидадениннуклеотида. Преимущество метода состоит в возможности прямого измерения скорости ферментативной реакции. Нормальные величины АЛТ составляют от 2 до 50 МЕ/л (в зависимости от модификации метода), коэффициент вариации метода — 2–6 %.

В настоящее время определение уровня активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) при обследовании доноров крови и ее компонентов является обязательным. Отмечено более частое (в 10—12 раз) выявление анти-ВГС среди проб сыворотки крови с повышенным уровнем АЛТ. Кроме того, повышение уровня АЛТ может свидетельствовать о наличии других гепатотропных вирусов, передающихся с кровью; «подпороговом», неулавливаемом содержании специфического маркера либо о его отсутствии в серонегативном периоде (периоде «окна»). В перспективе с внедрением в практику работы службы крови специфических диагностикомов повышенной чувствительности исследование уровня АЛТ у доноров может быть признано необязательным (в США — с 1996 г.).

С внедрением в практику службы крови исследования активности АЛТ утратило свою значимость определение содержания билирубина в качестве суррогатного маркера безжелтушной формы вирусных гепатитов билирубином [Мыльников А. Я. и др., 1994]. Исследование донорской крови на содержание билирубина проводить не следует.

В ряде стран в качестве суррогатного маркера гепатита «ни А, ни В» было внедрено определение анти-НВс, которое с обследованием доноров на анти-ВГС утратило свою значимость и проводить его не следует. Ни в одном из образцов крови с изолированным наличием анти-НВс IgG не удалось обнаружить ДНК ВГВ [Сычев А. В. и др., 1999]. Более того, М. С. Моогге и соавт. (1997) показывают, что анти-НВс-положительные доноры обладают особой ценностью, поскольку значительная доля их содержит и анти-НВс — источник сырья для производства специфического иммуноглобулина.

Аланинаминотрансфераза — суррогатный маркер вирусного гепатита

Вирусные гепатиты занимают особое место в ряду гемотрансмиссивных инфекций вследствие широкой распространенности инфицированности вирусами гепатита В, С и D среди потенциальных доноров и неблагоприятных клинических последствий передачи вирусов с компонентами и препаратами крови [Логинов А. С., 1994].

Применительно к отечественным условиям определение АЛТ сохраняет диагностическое значение. Это положение наглядно иллюстрирует следующее исследование.

Обследовано 4457 доноров крови, около 80 % из которых составили мужчины 18—30 лет. Активность АЛТ в сыворотке крови определяли унифицированным дифенилгидразиновым методом («Синтакон», Санкт-Петербург, «Лаксма», Чешская республика). Повышение активности АЛТ свыше 0,67 ммоль/ч•л зарегистрировано у 82 доноров (1,8 %). Сыворотки крови этих доноров обследованы на наличие маркеров вирусного гепатита с использованием следующих иммуноферментных тест-систем: НВsAg, анти-ВГС-антитела («Аквапаст», Санкт-Петербург), НВsAg, анти-ВГС-антитела, анти-НВс-антитела, анти-НВе-антитела, анти-ВГD-антитела, анти-ВГА-антитела, класс IgM, анти-ВГЕ-антитела (НПО «Диагностические системы», Нижний Новгород), анти-ВГС-антитела (ORTHO HCV 3.0, США; с подтверждающим тестом CHIRON RIBA HCV 3.0). Кровь всех обследованных доноров не содержала антител к ВИЧ-1, 2 («Авиценна», Санкт-Петербург) и бледной трепонеме («Аквапаст», Санкт-Петербург).

**Специфические маркеры вирусного гепатита у доноров
с повышением активности АЛТ в сыворотке крови**

№ образца	Показатели										
	Анти-ВГС-антитела («Аквапаст»)	Анти-ВГС-антитела («Диагностические системы»)	Анти-ВГС-антитела (ОРТНО HCV 3.0)	Анти-ВГС-антитела (ОРТНО RIBA HCV 3.0)	HBsAg («Аквапаст»)	HBsAg	Анти-НВс-антитела	Анти-НВе-антитела	Анти-ВГД-антитела	Анти-ВГА-антитела	Анти-ВГЕ-антитела
1	+	+			-	-	-	-	-	-	+
2	-	+			-	-	-	-	-	-	-
3	-	+			-	-	-	-	-	-	-
4	-	-			+	+	+	+	+	-	-
5	-	-			+	-	+	+	-	-	-
6	-	-			+	-	-	-	-	-	-
7	-	-			+	-	+	+	-	-	+
8	-	-			-	-	+	+	-	-	-
9	-	-			-	-	+	-	-	-	-
10	-	-			-	-	-	-	-	+	-
11	-	-			-	-	-	-	-	-	+
12	-	-			-	-	-	-	-	-	+
13-50	-	-			-	-	-	-	-	-	-
51	-		+		-						
52	+		+		-						
53	+		+		-						
54	-		+		+						
55	-		-		+						
56-72	-		-		-						
73	+		+	+	-						
74	+		+	+	-						
75	+		+	-	-						
76	+		+	+	-						
77	-		+		-						
78	-		+	+	-						
79-82	-		+		-						

Примечание:

+ — положительный результат;

- — отрицательный результат;

пробел — исследование не проводилось.

Результаты обследования представлены в табл. 2-7. В 22 (26,8 %) исследуемых сыворотках обнаружены маркеры вирусного гепатита. С использованием различных тест-систем маркеры гепатита С обнаружены в 15,9 %, гепатита В — в 12 %, гепатита D — в 2 %, гепатита А — 2 %, гепатита Е — 8 % обследованных сывороток. При плановом регламентированном обследовании доноров специфические маркеры вирусного гепатита удалось выявить в 15,9 % обследованных сывороток, тогда как при углубленном исследовании — еще в 10,9 %. Обращают на себя внимание случаи, когда в одной исследуемой сыворотке при исследовании с использованием различных тест-систем сочетаются положительные и отрицательные результаты обнаружения HBsAg и анти-ВГС (образцы 2, 3, 5, 6, 7, 51, 54, 75, 78). Это явление можно объяснить различной чувствительностью и специфичностью иммунодиагностикумов, а также феноменом высокой вариабельности вирусного генома и соответствующих аминокислотных последовательностей вирусных белков. Заболевания, вызванные различными вариантами вирусных штаммов, имеют клинко-лабораторные особенности, в том числе различную динамику содержания специфических антител и активности АЛТ в сыворотке крови.

Методическое совершенствование профилактического скрининга доноров приводит к снижению частоты посттрансфузионного гепатита С. Тем не менее при сравнительных исследованиях выявляются существенные расхождения показателей чувствительности и специфичности современных зарубежных тест-систем [Kolho E. K., Krusius T., 1992]. Ложноотрицательные результаты описаны не только у методов скрининга, но и у всех подтверждающих методов, включая ПЦР [Perrons C., Garson J., 1993] (см. разделы 2.2.2 и 2.3). На значительном материале показано, что трансфузии крови, содержащей анти-HBc-антитела, но не содержащей HBsAg, безопасны в плане передачи вируса гепатита В [Mosley J. et al., 1993].

Таким образом, в обозримом будущем сохранится потенциальная возможность передачи вирусов гепатита при переливании крови и ее компонентов. Наряду с разработкой и внедрением в практику более совершенных иммунодиагностикумов, для уменьшения риска заражения реципиента целесообразным является комплексное обследование донорской крови с определением специфических и неспецифических маркеров вирусного гепатита. Как суррогатный маркер вирусного гепатита уровень активности АЛТ в сыворотке крови сохраняет свою самостоятельную значимость. С целью совершенствования методического подхода к лабораторным диагностическим исследованиям в учреждениях службы крови перспективным представляется использование для количественного определения активности АЛТ микрометода на 96-луночных планшетах последующим вертикальным фотометрированием [Жибурт Е. Б. и др., 1995].

Значимость исследования АЛТ у доноров подтвердили А. В. Сычев и соавт. (1999), обнаружившие ДНК ВГВ у 6 из 318 доноров с повышенной активностью АЛТ, но без наличия HBsAg в крови.

Аннулирование результатов исследований маркеров вирусных инфекций

Результаты исследования на маркеры вирусных инфекций могут быть признаны несостоятельными в случае несоответствия инструкции производителя (например, повреждение упаковки, истечение срока годности, нарушение порядка выполнения исследования, испорченные реагенты) или если результаты контрольных образцов не соответствуют критериям, указанным в инструкции к диа-

гностикуму. При аннулировании результатов исследования со всеми образцами и контрольными образцами аннулированного теста выполняется новое исследование, результаты которого трактуются как результаты первичного регистрируемого теста. До аннулирования результатов исследования выявленные проблемы должны быть рассмотрены руководителем учреждения (отдела контроля качества), причины ошибок проанализированы и при необходимости предприняты меры по их исправлению. При аннулировании результатов исследования составляется протокол о нарушении стандартного производственного процесса с полным описанием причин нарушения и принятых мер.

Использование внешних контрольных образцов для исследований маркеров вирусных инфекций

Внутренние (включенные в состав тест-системы) контрольные образцы, подтверждающие достоверность исследования, поставляются вместе с диагностическим набором; их использование предназначено для демонстрации предписанного хода выполнения исследования. Внешние (арбитражные) контрольные образцы — реагенты, приобретаемые коммерческим путем или специально полученные, используются в качестве дополнения к указаниям инструкции производителя, для усиления мероприятий по обеспечению безопасности крови и повышения бдительности в отношении возможной ошибки. На основании результатов исследования внешних контрольных образцов можно аннулировать отрицательные результаты исследования, однако если исследование выполнено в соответствии с инструкциями производителей, а внутренние контрольные образцы сработали, то внешние контрольные образцы не могут быть использованы для аннулирования положительных результатов исследования. О программах контроля качества см. также раздел 2.2.2 и 2.3.

2.1.5. Профилактика посттрансфузионных гепатитов при заготовке и хранении гемотрансфузионных средств

За соблюдение правил инфекционной безопасности обследования доноров, заготовки и консервирования донорской крови, фракционирования крови на компоненты и препараты, а также проведение гемотрансфузий несут ответственность как руководители, так и персонал учреждений службы крови (статья 16 Закона РФ «О донорстве крови и ее компонентов» № 5142-1 от 9 июня 1993 г.).

2.1.5.1. Подготовка персонала

Условиями обеспечения безопасности являются четкое исполнение письменного регламента функциональных обязанностей каждого сотрудника, плановая специальная подготовка, периодический (не реже одного раза в год) инструктаж и контроль правильности выполнения операций. Программы специальной подготовки должны быть адаптированы для различных категорий персонала учреждения службы крови, включать требования действующих официальных документов.

программа подготовки по производственной безопасности для всех сотрудников должна предусматривать изучение нескольких разделов:

- требования руководящих документов;

- требования функциональных обязанностей;
- механизмы передачи вирусов гепатитов и ВИЧ с кровью, начальные симптомы, клинические проявления и последствия этих инфекций;
- особенности выполнения производственных операций с потенциальным риском инфицирования;
- организация и оснащение рабочих мест, использование защитной одежды и оснащения для выполняемых процедур. Следует обращать внимание на ограниченность возможностей защитной одежды и оснащения, а также на предостережение ложного чувства безопасности.

Кроме того, подготовка сотрудников по производственной безопасности требует выработки навыков:

- правильного использования защитной одежды и оснащения, обеззараживания и уничтожения инфицированного материала;
- действий в случае попадания крови или других потенциально инфекционных материалов на незащищенные участки тела;
- действий в случаях проливания крови или ее компонентов на любом этапе работы с ними, а также воздействия на людей жидкостей, тканей, загрязненных инструментов.

Вновь принятые сотрудники должны быть до начала работы ознакомлены с правилами техники безопасности и пройти подготовку по их соблюдению. До направления на самостоятельную работу подготовленность сотрудника и его способность применять все необходимые меры предосторожности документируется руководителем. Дополнительная подготовка по технике безопасности проводится при перемещении или временном назначении сотрудников на другой участок работы.

Соблюдение сотрудником правил техники безопасности является важнейшим критерием оценки качества работы. Руководители обязаны пресекать нарушения правил техники безопасности. О каждом нарушении и принятых мерах целесообразно сообщать всем сотрудникам учреждения службы крови.

2.1.5.2. Подготовка помещения

Тщательная планировка рабочих помещений, организация работы могут уменьшить или устранить многие потенциальные факторы риска передачи гемотрансмиссивных инфекций. Производственные подразделения станции переливания крови должны быть размещены в отдельных, специально предназначенных для этого зданиях. В помещения, где проводится заготовка, переработка, обследование и хранение крови и ее компонентов, не допускают посторонних лиц.

При заготовке крови в выездных (нестационарных) условиях планирование развертывания и работы временного пункта взятия крови целесообразно проводить начальнику станции (отделения) переливания крови или опытному врачу — руководителю выездной бригады.

Во всех местах для заготовки крови необходим свободный доступ к месту для мытья рук. Ковровые или другие поверхности, которые трудно очищать, должны быть покрыты защитным слоем поглотителя с водонепроницаемой пленкой на случай пролива крови. Для обеспечения безопасности рабочих мест можно использовать ширмы или занавески, блокирующие разбрызгивание жидкости. Мес-

та для приема пищи должны быть отделены от зон для заготовки и хранения крови. Загрязненные кровью отходы должны быть либо возвращены для централизованного уничтожения, либо упакованы и сожжены подготовленными сотрудниками. Особое внимание следует обращать на очистку подвижных пунктов после заготовки крови.

Сотрудники, в повседневной работе не выполняющие задач с риском потенциального воздействия крови, должны получить дополнительную подготовку, чтобы обезопасить себя от ошибки или несчастного случая, связанного с кровью, или при попадании в зону с ограниченным доступом. Функции, не требующие специальных мер предосторожности, должны быть четко отделены от тех задач, для которых необходима зона с ограниченным доступом. Например, канцелярские работы не должны проводиться в рабочих зонах.

Если существует возможность потенциального загрязнения кровью оснащения, подлежащего ремонту или направляемого на профилактическое обслуживание, то до передачи ремонтирующему работнику оно должно быть обеззаражено.

2.1.5.3. Правила техники инфекционной безопасности

Общие меры предосторожности при работе с кровью

Рабочие поверхности должны быть изготовлены из неадсорбирующих материалов и ежедневно обрабатываться дезинфектантами.

Производственные и лабораторные помещения оборудуются закрывающимися дверями. Раковины и емкости для обеззараживания отходов должны находиться в пределах рабочей зоны. Процедуры, при которых могут образовываться аэрозоли, например, открывание пробирок с материалом, центрифугирование, перемешивание, выполняются в ламинарном боксе (шкафу), либо при выполнении этих процедур, в дополнение к перчаткам и спецодежде, сотрудники надевают маски и защитные очки.

Обязательно используются спецодежда и перчатки. Защитная одежда снимается до выхода из рабочей зоны.

Пипетирование ртом не разрешается.

Все образцы крови помещаются в контейнеры надежной конструкции с прочными крышками, чтобы предотвратить проливание в процессе транспортировки.

Инфицированные отходы не следует сдавливать. Перед выбрасыванием их обеззараживают в водонепроницаемых контейнерах. Доставка отходов к мусоросжигательной печи или автоклаву осуществляется только специально подготовленными сотрудниками.

В рабочей зоне нельзя принимать пищу, пить, курить, пользоваться косметикой. Все продукты и напитки хранятся вне зоны с ограниченным доступом, а лабораторная посуда никогда не используется для приготовления и приема пищи и напитков.

Работы с высоким риском инфицирования должны быть отграничены от работ со сниженным риском, при этом разделяющая граница четко обозначается.

Иглы и шприцы используются и уничтожаются безопасным способом. Иглы никогда не следует сгибать, ломать, обрезать, вновь помещать в футляр или отделять от шприца до помещения в непрокальваемые, водонепроницаемые контей-

неры для уничтожения. Рабочие манипуляции разрабатываются таким образом, чтобы свести к минимуму возможность контакта с острыми предметами.

О любом случае воздействия потенциально или действительно опасного материала немедленно следует докладывать руководителю или ответственному должностному лицу.

Защитная одежда и оснащение

При работе с кровью сотрудники должны надевать поверх одежды с длинными рукавами закрытые лабораторные (хирургические) халаты или высокие передники. Любая, явно загрязненная, одежда должна быть немедленно снята. Защитную одежду следует снимать до выхода из рабочей зоны, помещать в специально предназначенный для этого контейнер и стирать как потенциально инфицированную. Одежду, используемую при работе с кровью, стирать в домашних условиях не разрешается, поскольку имеется риск распространения загрязнения при произвольной транспортировке и хранении, кроме того, домашняя стирка может быть неэффективной.

При любой возможности разбрызгивания крови должны быть защищены глаза и слизистые оболочки рта и носа. Предпочтительно использование постоянных щитков (экранов), фиксируемых как часть оборудования или конструкции рабочего места. Такие экраны должны в соответствии с графиком регулярно подвергаться очистке и дезинфекции.

Мытье рук

Важное значение для обеспечения инфекционной безопасности имеет частое и тщательное мытье рук. Гемотрансмиссивные микроорганизмы не проникают через неповрежденную кожу, поэтому их немедленное удаление уменьшает вероятность переноса на слизистую оболочку или поврежденный участок кожи либо передачу другим людям.

Мытье рук обязательно:

- перед выходом из рабочей зоны;
- между физическим исследованием донора или пациента;
- сразу же после загрязнения кровью;
- после снятия перчаток;
- после пользования туалетом.

Использование перчаток

При выполнении работ с потенциальным контактом с кровью следует использовать перчатки. Нет необходимости использования в повседневной практике перчаток специалистами, выполняющими венепункцию у обследованных доноров. Если перчатки надеты — нет необходимости смены незагрязненных перчаток между контактами с донорами. Поскольку частота встречаемости инфекционных болезней у доноров невысока, при обычной венепункции контаминация кровью происходит редко, и создание защитного барьера может быть обеспечено другими средствами, такими как использование свернутой марлевой подушечки для удаления небольших количеств крови, вытекающей при удалении иглы из руки донора.

Перчатки необходимо использовать в следующих случаях:

- при венепункции донора, если медицинский работник имеет порезы, царапины и другие повреждения кожи;
- при венепункции у ребенка;
- сотрудникам, обучающимся проведению венепункции;
- при обращении с любым «открытым» контейнером или образцами крови;
- при заготовке или контакте с кровью пациентов или доноров, инфицированных гемотрансмиссивными патогенами;
- при очистке от пролившейся крови или работе с отходами;
- при осмотре слизистых оболочек или открытых повреждений кожи;
- при венепункции у аутологичных доноров;
- при невозможности исключения контакта с кровью (отсутствие опыта проведения процедуры, освоение нового оборудования и другие ситуации).

Безопасное использование перчаток предусматривает следующие правила.

- перчатки следует использовать только для выполнения соответствующих работ, необходимо избегать прикосновений в перчатках к чистым поверхностям (дверные ручки, телефон и др.) и открытым участкам тела;
- перчатки следует сменить немедленно после их повреждения (разрыва, прокола) или загрязнения, а также после обращения с материалами с высоким риском инфицирования;
- снимать перчатки нужно так, чтобы наружная поверхность контактировала только с внешней средой (выворачивая внутреннюю поверхность перчаток при снятии);
- следует менять перчатки между контактами с разными пациентами. Нет необходимости менять незагрязненные перчатки между контактами с донорами;
- после снятия перчаток необходимо сразу же вымыть руки с мылом;
- хирургические перчатки предназначены только для однократного использования. Дезинфицирующие агенты могут вызвать повреждение перчаток.

Для решения специфических задач используются различные типы перчаток:

- стерильные перчатки — для выполнения операций с кровью, осуществляемых открытым методом; процедур, предусматривающих контакт со стерильными участками организма;
- перчатки для осмотра — для процедур, предусматривающих контакт со слизистыми оболочками, для ухода за пациентом или при выполнении других процедур, не требующих использования стерильных перчаток;
- перчатки общего назначения (например, резиновые) — для проведения уборки, предусматривающей возможный контакт с кровью, а также для очистки инструмента и проведения обеззараживания.

Бытовые перчатки можно обеззараживать и использовать повторно, но они должны быть уничтожены при образовании трещин или обесцвечивании, а также при проколах, разрывах и других повреждениях.

Эксфузионисты (врачи и медицинские сестры) независимо от вида операционной (стационарная или приспособленная) в начале работы надевают халат, шапочку, обувь, предназначенную только для операционных, после обработки рук (мытья), при необходимости перчатки.

Для предотвращения контактного инфицирования при заготовке крови медицинский персонал соблюдает все требования асептики и антисептики. Источниками инфицирования могут быть: контаминированные руки медицинского персонала, кожа локтевого сгиба донора, нарушение герметичности контейнера.

Не допускается касание руками или нестерильными предметами концевой части иглы системы для взятия крови и кожи в месте венепункции после ее обработки антисептиком.

Эксфузионисты и операционная сестра обрабатывают руки антисептиком перед началом работы и повторно при работе с каждым последующим донором.

Локтевой сгиб донора обрабатывают раствором антисептика (в соответствии с инструкцией производителя).

Продолжительность непрерывной работы в операционной не должна превышать 5 ч, после чего медицинскому персоналу предоставляют отдых и полностью заменяют состав бригады.

Кровь до аprobации должна храниться отдельно от крови, готовой к выдаче в лечебные учреждения, и быть снабжена указателями: «Кровь не исследована! Выдаче не подлежит!».

Необходимо выделение холодильника для брака крови и ее компонентов с маркировкой «Брак крови! Выдаче не подлежит!».

Очистка, обеззараживание и стерилизация

Поверхности и все повторно используемое оснащение, загрязненное кровью, требуют ежедневной очистки и обеззараживания. Значительные проливы должны быть очищены и обеззаражены немедленно; обычная влажная уборка должна проводиться в конце каждой рабочей смены или в каком-то другом регулярном порядке, обеспечивающем эквивалентную безопасность.

Очистка от пролитой крови

В каждом работающем с кровью учреждении заранее должны быть отработаны действия на случай ее проливания («пролива»). Такая подготовка должна включать, по крайней мере, следующие элементы.

1. Рациональное планирование рабочих зон таким образом, чтобы можно было просто провести очистку.
2. Комплектование укладки для обеззараживания «пролива», содержащей все необходимое имущество и оснащение, а также инструкцию по использованию. Эта укладка помещается вблизи зон, где возможны «проливы».
3. Определение ответственности за содержание укладки, уборку «пролива», анализ причин пролива и оформление протокола.
4. Подготовку всех потенциально задействованных лиц к проведению очистки, обеззараживания и отчета о значительных случаях.

При возникновении «пролива» должны быть предприняты следующие действия.

1. Персонал должен покинуть рабочую зону на 30 мин, если создан аэрозоль или после требования «Очистить помещение!» (обязательно при проливе более 20 мл). Загрязненная одежда снимается. Если «пролив» произошел в центрифуге, следует немедленно выключить ее и не открывать крышку в течение 30 мин.
2. Залить участок «пролива» дезинфектантом, например, свежеприготовленным 1:10 раствором натрия гипохлорита и оставить на 15–20 мин.
3. Полностью накрыть «пролив» поглощающим материалом. Удалить впитавшийся слой, а также разбитое стекло, используя веник и совок.
4. Очистить поверхность, используя моющее средство.
5. Для уборки надеваются соответствующая защитная одежда и перчатки. Если предстоит обращаться с острыми предметами, перчатки должны быть устойчивы к проколу.
6. Безопасным способом, в соответствии с правилами биологической безопасности, удалить все материалы. Все загрязненные кровью предметы должны быть обеззаражены установленным способом.

В случае разрыва полимерного контейнера с кровью (эритроцитами, плазмой, тромбоцитами) в центрифуге необходимы (после остановки и 30-минутной паузы) следующие меры.

1. Изъять неповрежденные контейнеры с кровью (ее компонентами), обработать их 6 % раствором перекиси водорода и передать для продолжения необходимых технологических операций.
2. Извлечь стакан с поврежденным контейнером, содержимое стакана вылить в емкость с дезинфицирующим раствором (3 % раствор хлорамина или аналог). Опустошенный стакан поместить в другую емкость с дезинфицирующим раствором на 1 ч.
3. Внутреннюю поверхность и ротор центрифуги тщательно обработать 6 % раствором перекиси водорода и вымыть с использованием 0,5 % раствора моющего средства. Спустя 1 ч работа на центрифуге может быть возобновлена.

Дезинфекция

В целях профилактики госпитальной инфекции все изделия медицинского назначения, применяемые при инвазивных манипуляциях или при контакте с поверхностью слизистых оболочек, после каждого использования должны подвергаться дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации.

Запрещается повторно использовать предметы однократного применения (иглы, бритвенные лезвия, шприцы, системы переливания крови, скарификаторы для взятия крови, наконечники к автоматическим пипеткам и др.). Они подлежат обеззараживанию в паровом стерилизаторе, в биксах при давлении 2 кгс/см² (132 °C) в течение 60 мин с последующей утилизацией (уничтожением).

Основные средства и методы дезинфекции различных биообъектов и технических средств трансфузиологического назначения приведены в табл. 2-8. Допускается использование других разрешенных дезинфицирующих средств специально-

го предназначения. Поскольку присутствие органического материала уменьшает эффективность дезинфектанта, до его применения следует очистить все поверхности. Для уничтожения микробов требуется контакт определенной продолжительности, которая варьирует в зависимости от выбранного дезинфектанта. Большинство растворов должны использоваться в свежем разведении, которое готовится для работы в течение дня.

Таблица 2-8

Средства и методы дезинфекции в службе крови

Объект обработки	Способ обеззараживания	Средства обеззараживания	Режим дезинфекции	
			концентрация раствора, %	время, мин
1	2	3	4	5
Поверхности лабораторных столов	После завершения работы протирать ветошью, смоченной в растворе. При загрязнении кровью немедленно протереть 2 раза с интервалом 15 мин	Хлорамин	3,0	
		Нейтральный гипохлорит кальция (НГК)	0,6	
		Сульфохлорантин	0,5	
		ДП-2	0,5	
		«Дезоксон-1»	0,5	
		Перекись водорода	6,0	
Изделия из металла, стекла, пластика, резины	Полностью погрузить в раствор, промыть им полости и каналы. При загрязнении раствора кровью процедуру повторить во второй емкости с раствором. Промыть проточной водой	Хлорамин	5,0	60
		Сульфохлорантин	0,5	60
		ДП-2	0,5	60
		Перекись водорода	6,0	60
		Перекись водорода с 0,5 % моющего средства	6,0	60
		НГК	0,5	60
		Формалин	4,0	60
		Пресепт	0,1 (0,056)	60
		Сайдекс или Глутарал	2,0	15
		Гибитан (хлоргексидин 20 %) спиртовой раствор	2,5	30
		Лизоформин 3000	2,0	15
			1,5	30
			0,75	60
		Лизоформин 3000+	1,5	30
		Бланизол	0,5	

1	2	3	4	5
		Деохлор	1 таблетка на 10 л воды	30
		Дезоформ	5,0	10
			3,0	30
			1,0	60
		Дезоформ+	3,0	30
		Бланизол	0,5	
		Виркон	2,0	10
		Лизетол	4,0	30
Кровь и ее компоненты	Залить раствором в соотношении 1:2	Хлорамин	5,0	60
Полимерные изделия	Автоклавирувание	Давление 2 атм при тем- пературе 132 °С	—	30

Разборку, дезинфекцию и мойку использованного медицинского инструментария, лабораторной посуды и аппаратов необходимо выполнять в резиновых перчатках в специально оборудованных местах.

Все инструменты после использования разбирают и погружают в 3 % раствор хлорамина на 60 мин или 4 % раствор перекиси водорода на 90 мин. Иглы перед погружением в дезинфицирующий раствор промывают этим раствором путем насыпания его шприцами, специально выделенными для этих целей. Использованные многоразовые шприцы собирают в отдельную (промаркированную) емкость и по окончании работы дезинфицируют как и другой медицинский инструментарий. Дезинфицирующий раствор применяется однократно.

Для дезинфекции может применяться кипячение в дистиллированной воде — 30 мин, паровой метод — 0,5 атм (110 °С) — 20 мин или воздушный метод при температуре 120 °С — 45 мин.

Предстерилизационная очистка

По окончании дезинфекции медицинский инструментарий промывается проточной водой над раковиной до полного удаления запаха дезинфицирующего средства.

Продезинфицированный и промытый медицинский инструментарий замачивается в горячем (50—55 °С) моющем растворе в течение 15 мин при полном погружении изделий. Температура раствора в процессе замачивания не поддерживается.

После замачивания каждое изделие моется в моющем растворе при помощи ерша или ватно-марлевого тампона в течение 30 с. При мытье резиновых изделий ерш не применяют.

Вымытый медицинский инструментарий прополаскивают проточной водой (при применении моющего средства «Биолот» — 3 мин, «Прогресс» — 5 мин, «Астра», «Лотос», «Айна» — 10 мин), а затем 30–40 с в дистиллированной воде.

Промытый медицинский инструментарий сушится горячим воздухом в сушильном шкафу при температуре 85 °С до полного исчезновения влаги.

Качество очистки изделий от крови проверяется главными и старшими медицинскими сестрами не реже двух раз в неделю путем постановки бензидиновой, ортолидиновой, азопирамовой и амидопириновой проб. Контролю подвергают 1 % одновременно обработанного инструментария (но не менее 3–5 изделий одного наименования). Наличие остаточных количеств моющих средств на изделиях определяют путем постановки фенолфталениновой пробы.

В случае положительной пробы на кровь или моющее средство все изделия обрабатываются повторно до получения отрицательного результата.

Приготовление моющих растворов.

Раствор № 1:

- раствор перекиси водорода (с концентрацией 27,5 %) — 17 мл;
- моющее средство «Прогресс», «Айна», «Астра», «Лотос» — 5 г;
- вода — 978 мл;
- олеат натрия (ингибитор коррозии) — 1,4 г/л.

Раствор № 2:

- моющее средство «Биолот» — 5 г;
- вода — 995 мл.

Моющий раствор перекиси водорода с моющими средствами можно использовать в течение 1 сут с момента изготовления (если раствор не изменился).

Неизменный раствор можно подогревать до 6 раз, в процессе подогрева концентрация перекиси водорода существенно не изменяется.

Если перед очисткой инструментов имеется интервал, инструменты замачиваются в 1 % растворе бензоата натрия на 60 мин.

Паровой метод стерилизации

Стерилизация изделий медицинского назначения паровым методом осуществляется в паровых стерилизаторах. С учетом свойств материала, из которого изготовлено то или иное изделие, стерилизацию проводят по одному из двух режимов:

Первый режим стерилизации (основной): давление пара в стерилизационной камере 2 кгс/см², температура 132 °С, время стерилизации 20 мин. По этому режиму стерилизуют перевязочные материалы, операционное белье, хирургические инструменты, детали приборов и аппаратов, изготовленные из коррозионностойких металлов и сплавов, стеклянную посуду, шприцы с надписью «200 °С», изделия из резины (трубки, катетеры и др.).

Второй режим стерилизации (щадящий): давление пара в стерилизационной камере 1,1 кгс/см², температура 120 °С, время стерилизации 45 мин. По этому режиму стерилизуют изделия из тонкой резины, латекса, отдельных полимерных материалов.

Стерилизацию проводят в стерилизационных коробках в двойной мягкой упаковке из бязи, пергамента, бумаги мешочной непропитанной, бумаги мешочной

влагостойкой. Контроль стерилизации проводят при каждой закладке стерилизуемого материала химическим методом с использованием бензойной кислоты, маннозы, серы — при температуре 120 °С, мочевины, никотинамида — при температуре 132 °С.

Перевязочный материал (салфетки, шарики из мягкой марли и палочки с ватой) стерилизуется в биксах в специальных конвертах (не более 3 пакетов в одном биксе) в количестве, необходимом на один день работы, хранится в биксах с надписью на этикетке «стерильно» с указанием даты стерилизации и фамилии лица, ее проводившего.

Предельный срок сохранения стерильности — 3 сут.

Неиспользованные стерильные конверты подлежат обязательной повторной стерилизации через 3 дня.

Запрещается стерилизовать перевязочный материал, операционное белье в сушожаровом шкафу.

Воздушный метод стерилизации

Стерилизация изделий медицинского назначения сухим горячим воздухом осуществляется в воздушных стерилизаторах с использованием одного из двух режимов.

Первый режим стерилизации: рабочая температура стерилизации в камере 180 °С, время стерилизации 60 мин.

Второй режим стерилизации: рабочая температура стерилизации в камере 160 °С, время стерилизации 150 мин (2,5 ч). Воздушная стерилизация рекомендуется для изделий из металла, стекла и силиконовой резины.

Стерилизацию проводят в упаковке из бумаги мешочной непропитанной, бумаги мешочной влагопрочной или без упаковки (в открытых емкостях). Изделия, простерилизованные без упаковки, должны быть использованы непосредственно после стерилизации. Упакованные изделия могут храниться 3 сут. Бактериологический контроль за качеством стерилизации проводится не реже 1 раза в месяц.

Химический метод стерилизации

Стерилизация изделий медицинского назначения полным погружением в раствор химического препарата осуществляется в закрытых емкостях из стекла, пластмассы или покрытых эмалью (эмаль без повреждений).

При использовании в качестве стерилизующего агента 6 % раствора перекиси водорода применяют два режима: 1) рабочая температура стерилизации — не менее 18 °С, время стерилизации 360 мин (6 ч); 2) рабочая температура стерилизации 50 °С (в процессе стерилизации не поддерживается), время стерилизации 180 мин (3 ч). Раствор перекиси водорода может использоваться в течение 7 сут со дня приготовления при условии хранения его в закрытой емкости в темном месте. Дальнейшее использование раствора может осуществляться только при условии контроля содержания активно действующих веществ.

При использовании в качестве стерилизующего агента 1 % (по надуксусной кислоте) раствора дезоксона-1 рабочая температура стерилизации — не менее 18 °С, время стерилизации — 45 мин.

Химический метод стерилизации рекомендуется для изделий из полимерных материалов, резин, стекла и коррозионностойких металлов. После стерилизации

изделие должно быть промыто стерильной водой. Срок хранения простерилизованного изделия в стерильной емкости (стерилизационная коробка), выложенной стерильной простыней, — 3 сут.

Запрещается применять загрязненный (появление розовой окраски) кровью моющий раствор.

Обеззараживание консервированной крови и ее компонентов, забракованных по маркерам гемотрансмиссивных инфекций

Обеззараживание донорской крови и ее компонентов (эритроциты, плазма), забракованных в связи с обнаружением в них маркеров гемотрансмиссивных инфекций (гепатиты В, С, ВИЧ, сифилис), является обязательным предварительным условием обеспечения безопасности перед их уничтожением.

Выделение и отбор забракованных образцов гемотрансфузионных средств с составлением соответствующего акта организуют заведующие отделениями, выпускающие указанные средства.

Обеззараживание забракованных крови и ее компонентов осуществляется методом автоклавирования в специально выделенном автоклаве.

Все подготовительные мероприятия по обеззараживанию забракованных крови и ее компонентов, их учет, уничтожение осуществляет специально выделенный для этих целей сотрудник.

Для подготовки забракованной крови и ее компонентов к обеззараживанию необходимо иметь помещение, емкость для сбора, резиновые перчатки, специально выделенные промаркированные биксы (ведра с крышками), упаковочную бумагу, выделенный для этих целей автоклав. Работа по подготовке образцов к обеззараживанию осуществляется в специальных халате, маске и перчатках.

Поступившие забракованные кровь и ее компоненты регистрируются в специальном журнале с указанием номера образца крови (компонента) и характера брака.

Зарегистрированная кровь (компоненты) после снятия этикеток укладывается в упаковочную бумагу, помещается в специально выделенные промаркированные емкости и передается на автоклавирование.

Обеззараживание забракованных образцов осуществляется при режиме 2 атм (132 °С) — 60 мин.

Ответственный за уничтожение забракованной крови и ее компонентов расписывается в журнале под протоколом о проведении обеззараживания зарегистрированных образцов.

Обезвреженные компоненты извлекаются из биксов и выносятся в мусоросборник.

2.1.5.4. Организация карантина плазмы

Хранение заготовленной плазмы с запретом ее использования на протяжении определенного времени называется карантином плазмы. Карантин плазмы рассматривается как дополнительная мера исключения передачи вирусной инфекции. Предпосылкой к организации карантинного хранения плазмы служит возможность донации крови лицами без клинических и лабораторных признаков гемотрансмиссивных инфекций (период «окна» в начальной стадии заболевания).

С учетом максимальной продолжительности латентного периода вирусного гепатита оптимально в течение 6 мес хранить в замороженном виде плазму, полученную от доноров, обследованных обычным образом. Если в течение этого времени не поступает сообщений о развитии заболевания (вирусные гепатиты, ВИЧ-инфекция) у донора, плазма выдается для лечебного применения или фракционирования.

Непременным условием организации карантинного хранения плазмы являются достаточное количество холодильного оборудования, его надежность и правильная эксплуатация.

2.1.5.5. Элиминация и инаktivация вирусов

Безопасность гемокомпонентной терапии повышают: заготовка концентратов тромбоцитов и лейкоцитов методом аппаратного цитафереза, отмывание эритроцитов, замораживание плазмы, криоконсервирование клеток крови.

Удаление лейкоцитов из трансфузионной среды, наряду с профилактикой аллоиммунизации, иммуносупрессии и болезни «трансплантат против хозяина», обеспечивает элиминацию микроорганизмов, содержащихся в этих клетках: бактерий, цитомегаловируса и других вирусов герпеса, ретровирусов и, возможно, прионов — этиологического фактора болезни Крейтцфельда—Якоба. В мире активно применяются различные модификации специальных фильтров, задерживающих лейкоциты при заготовке крови, трансфузиях концентратов эритроцитов и тромбоцитов. В 1998 г. в России зарегистрированы лейкоцитарные фильтры последнего поколения «Тегито», Япония. Успешно завершены клинические испытания лейкоцитарных фильтров, разработанных сотрудниками РНИИ гематологии и трансфузиологии (Санкт-Петербург).

За рубежом внедрены в практику и интенсивно развиваются технологии инаktivации вирусов в плазме и продуктах ее переработки: метод «растворитель/детергент» и фотохимическая модификация с метиленовым синим [Mohr H., 1998].

Метод «растворитель/детергент» (Solvent/Detergent, SD) лицензирован для обработки концентратов факторов свертывания в США в 1985 г. Суть метода заключается в инкубации пулов плазмы с органическим растворителем три(н-бутил)фосфат (TNBP) и детергентом Тритон X-100. При SD-обработке разрывается оболочка вирусов, содержащая липиды, и инфекционность вирусов (ВИЧ, ВГВ, ВГС и др.) утрачивается. Безопасность таких продуктов обеспечивается, с одной стороны, за счет элиминации покрытых оболочкой вирусов, а с другой — за счет сохранения в пуле нейтрализующих антител к вирусу гепатита А и парвовирусу В19 — двум безоболочечным гемотрансмиссивным вирусам. Однако, в отношении открытого в 1997 г. безоболочечного вируса ТТ, это положение еще предстоит уточнить (см. раздел 2.2.5.3). В течение 13 лет использовано более 35 млн доз концентратов факторов свертывания и иммуноглобулинов, приготовленных с использованием SD-технологии. Случаев передачи покрытых оболочкой вирусов и токсических реакций не зарегистрировано. Дополнительные гарантии чистоты продукта обеспечиваются четкой связью в производственном процессе этапов экстракции, хроматографии и фильтрации.

Метод фотохимической модификации с метиленовым синим (methylene blue, MB) нацелен на другую мишень: ядро вируса. За счет положительного заряда молекула красителя связывается с нуклеиновыми кислотами, особенно в местах гуа-

ниновых оснований, а также с белками вирусного ядра. Синглетный кислород, образующийся при облучении, и является действующим фактором процесса фотоокислительной (натриевые лампы с максимумом эмиссии — 590 нм) инактивации вирусов. Поэтому метод МВ-облучения эффективен в отношении всех вирусов, независимо от наличия оболочки. С его использованием обрабатываются единичные дозы плазмы. В качестве контроля отслеживают эффективность инактивации вируса везикулярного стоматита [Lambrecht B. et al., 1999].

Следует отметить, что и SD- и МВ-технологии действуют не только на вирусы, но и на некоторые белки плазмы. SD-метод приводит к уменьшению активности ингибитора протейна С и альфа-2-антиплазмина на 50 %. При МВ-обработке активность фибриногена и других факторов свертывания снижается на 30 %. Тем не менее клиническая эффективность обработанных продуктов крови высока.

Развиваются и другие методы инактивации вирусов: иммунная нейтрализация специфическими антителами, нанофильтрация, пастеризация. Для инактивации патогенов в клеточных компонентах крови предлагаются два направления: обработка псораленами и фотодинамические методы.

2.1.6. Контроль за состоянием здоровья персонала учреждений службы крови, доноров и реципиентов

Персонал учреждений службы крови, а также лица, вновь поступившие на работу, каждые 6 мес обследуются на наличие HBsAg и анти-ВГС с последующей консультацией у врача-инфекциониста в случае получения положительных результатов. Данные обследования регистрируют в журнале. Лиц, у которых обнаружены HBsAg или анти-ВГС, занятых по роду своей деятельности заготовкой и переработкой крови, переводят на работу, не связанную с непосредственным контактом с донорами и производством гемотрансфузионных средств. Возобновление работы сотрудника с выявленными ранее HBsAg или анти-ВГС возможно только при отсутствии клинических признаков заболевания и после пятикратного отрицательного результата исследования крови на протяжении года с интервалом 2—3 мес.

Работники здравоохранения и сотрудники учреждений службы крови, в частности, составляют одну из групп высокого риска инфицирования вирусом гепатита В (ВГВ). В США ежегодно 12 000 медиков инфицируются ВГВ. Высокий уровень выявляемости маркеров ВГВ-инфекции позволяет считать данное заболевание профессиональным для медицинского персонала лечебно-профилактических учреждений [Wood J. J., 1997].

Известно, что HBsAg впервые появляется в крови примерно через 6 недель после контакта человека с вирусом гепатита В и присутствует в крови в течение 4—14 нед. Считается, что пороговая концентрация анти-HBs-антител (анти-HBs), достаточная для обеспечения защиты против инфекции, составляет 10 МЕ/л. Неспособность организма избавиться от HBsAg и вырабатывать анти-HBs является признаком хронизации инфекции. Вопрос о продолжительности естественного «напряженного» иммунитета к ВГВ остается открытым.

Основным методом профилактики гепатита В является вакцинация населения высокоэффективными рекомбинантными вакцинами, декретированная в нашей стране приказом Минздравмедпрома РФ и Госкомсанэпиднадзора РФ от 03.06.96. № 226/79 «О введении профилактических прививок против гепатита В». В пер-

вую очередь вакцинации подлежат контингенты, относящиеся к группам высокого риска заражения ВГВ: медицинские работники, имеющие непосредственный контакт с кровью больных; студенты и учащиеся медицинских учебных заведений; больные, получавшие повторные гемотрансфузии; семейное окружение больных хроническим гепатитом В; наркоманы. На II научно-практической конференции «Гепатиты В, С, D и G — проблемы изучения, диагностики, лечения и профилактики» (Москва, 14–16 октября 1997 г.) были представлены данные ряда центров крови о более высокой распространенности вирусов гепатитов среди кадровых доноров (HBsAg — до 10,4 %). Очевидно, что в таких учреждениях, целесообразна приоритетная вакцинация кадровых доноров.

Схема иммунизации взрослых состоит из трех прививок: две первые с интервалом в 1 мес, третья — через 6 мес. При введении вакцины против гепатита В формируется гуморальный иммунитет: защитный уровень анти-HBs-антител (10 МЕ/л и выше) достигается после полного курса иммунизации у 85–95 % вакцинированных. Ревакцинация проводится через 7 лет.

Важно отметить, что существуют две категории, не нуждающихся в вакцинации: носители HBsAg и лица, имеющие достаточный уровень анти-HBs-антител в результате перенесенной инфекции (контакта организма с вирусом). Вакцинация не наносит вреда этим лицам, однако целесообразно оценить экономическую эффективность тотальной вакцинации или предшествующего скрининга, тем более что в условиях ограниченного финансирования именно финансовые соображения являются основным препятствием для приобретения вакцины медицинскими учреждениями.

Наиболее широко в Российской Федерации используются вакцина производства НПК «Комбиотех Лтд» и вакцина Энджерикс-В фирмы «СмитКляйн Бичем» (табл. 2-9).

Таблица 2-9

Характеристика рекомбинантных дрожжевых вакцин против гепатита В, зарегистрированных в Российской Федерации

Вакцины	Количество антигена в 1 мл	Возрастные дозировки			Форма выпуска
		0–10 лет	11–19 лет	20 лет	
«Комбиотех ЛТД»	20,0 мкг	0,5 мл (10,0 мкг)	1,0 мл (20,0 мкг)		Ампулы по 1,0 мл
Н-В-Vax II «Мерк Шарп и Доум»	10,0 мкг	0,25 мл (2,5 мкг)	0,5 мл (5,0 мкг)	1,0 мл (10,0 мкг)	Флаконы по 1,0 мл с 10,0 мкг и 40,0 мкг. Флаконы по 0,5 мл с 5,0 мкг и 2,5 мкг
Энджерикс-В «СмитКляйн Бичем»	20,0 мкг	0,5 мл (10,0 мкг)	1,0 мл (20,0 мкг)		Флаконы по 1,0 и 0,5 мл
Рес-HBs Ag, Куба	20,0 мкг	0,5 мл (10,0 мкг)	1,0 мл (20,0 мкг)		Флаконы по 1,0 мл

Для определения HBsAg следует использовать наиболее чувствительные отечественные иммуноферментные тест-системы: «Аквапаст» (Санкт-Петербург),

«Ниармедик» (Москва), «Вектор-Бест» (Новосибирск). Доля HBs-позитивных лиц среди основных контингентов, подлежащих вакцинации, составляет 0,5–3 % и может увеличиваться в эндемичных районах и среди некоторых групп хирургических пациентов. Скрининг HBsAg (как и антител к вирусу гепатита С) у персонала лечебных учреждений целесообразно проводить при приеме на работу и ежегодном медицинском обследовании. Серопозитивных медицинских работников необходимо направлять на углубленное клинико-лабораторное обследование с участием терапевта и инфекциониста. Учитывая экспертную значимость результатов обследования, целесообразно проводить расширенный поиск маркеров вирусных гепатитов с использованием высокоспецифичных тест-систем с повышенной чувствительностью. В случае формирования «носительства» вируса гепатита В у медицинских работников можно рекомендовать: 1) перевод на должность, позволяющую избежать прямого контакта с пациентом; 2) соблюдение повышенных мер предосторожности; 3) временное отстранение от операций, инвазивных процедур при активации инфекции (например, в США и Великобритании не допускают к операциям хирургов с HBe-антигенемией) [Hepstonstall J. et al., 1997].

Распространенность HBs-антигена и анти-HBs-антител была изучена у студентов 3 курсов морского и медицинского вузов, а также кадровых доноров и двух категорий медицинских работников: специалистов службы крови и эфферентной терапии (табл. 2-10). Следует особо отметить, что широко распространенные планшетные тест-системы позволяют сделать лишь качественное заключение о наличии анти-HBs. Поэтому в настоящем исследовании применяли, на наш взгляд, наиболее оптимальный из доступных и зарегистрированных Минздравом РФ иммуноферментный диагностикум ImmunoComb (Orgenics, Израиль), позволяющий количественно оценить содержание анти-HBs в крови. Стоимость одного исследования — 45,6 руб.

Таблица 2-10

**Распространенность анти-HBs-антител в защитном титре
(более 10 МЕ/л) в различных группах**

Группа	n	Доля серопозитивных	
		m	%
Студенты-моряки	57	12	21,1
Студенты-медики	71	16	22,5
Кадровые доноры	33	7	21,2
Сотрудники Центра крови	79	28	35,4
Сотрудники Центра экстракорпоральной детоксикации	31	8	25,8

Установлено, что анти-HBs-антитела встречаются у более чем 20 % курсантов 19–20 лет, а у медицинских работников этот показатель еще более высок.

Если предположить, что распространенность анти-HBs-антител в коллективе составляет 25 %, в этом случае цена тест-систем для предварительного обследования 100 человек вышеуказанным способом составит 4560 руб.

Цена вакцины для иммунизации 100 человек — 61 200 руб. Однако после предварительного обследования количество нуждающихся в вакцинации лиц сократится до 75. В этом случае для приобретения необходимого количества вакцины потребуется на 15 300 руб. меньше — 45 900 руб.

В смоделированных условиях при проведении предварительного скрининга анти-НВs цена расходного медицинского имущества для проведения вакцинации против гепатита В сокращается на 17,5 %. Нерентабельным предварительное определение анти-НВs становится при их распространенности в коллективе менее 7,5 % [Жибурт Е. Б. и др., 1997].

Следует подчеркнуть, что в различных коллективах медицинских работников, например, у персонала гематологических, кардиохирургических и реанимационных отделений выявляемость анти-НВs-антител превышает 50–60 %. С учетом инфицированности НВsAg число лиц, нуждающихся в вакцинации, может составить 12–45 %. Соответственно, с целью рационального расходования средств при проведении вакцинации против гепатита В надлежит проводить обследование на наличие анти-НВs-антител. Лица с содержанием анти-НВs-антител более 10 МЕ/л в вакцинации не нуждаются.

В клиниках Великобритании обязательным считают постиммунизационное обследование и документирование сероконверсии у каждого врача. Установлены факторы, редуцирующие иммуногенность вакцины: возраст более 40 лет, гемодиализ, ВИЧ-инфекция, курение, подкожное введение вакцины, замораживание вакцины, нарушение графика вакцинации. У 50 % лиц с отсутствием анти-НВs в крови после третьей инъекции достигают иммунного ответа введением дополнительной (четвертой) дозы вакцины.

Другой задачей настоящего исследования явилась оценка динамики содержания «естественных» антител. Для чего у 26 сотрудников Центра крови, невакцинированных и не болевших ВГВ, определяли содержание анти-НВs с двухлетним интервалом (в 1995 г. и 1997 г.). Содержание НВsAg у всех сотрудников определяется 1 раз в 6 мес, положительных результатов не зарегистрировано.

При первичном обследовании у 8 (31 %) специалистов выявлен уровень анти-НВs более 10 МЕ/л. Через два года у 6 (23 %) из них защитный уровень анти-НВs сохранился, однако в отдельных случаях изменение количества циркулирующих анти-НВs составило от 15 до 500 % как в сторону увеличения, так и уменьшения. У 2 человек (8 %) зафиксировано отсутствие анти-НВs в крови (два года назад содержание анти-НВs у этих сотрудников — 15 МЕ/л и более 100 МЕ/л). В то же время у 3 (12 %) исходно серонегативных сотрудников произошла сероконверсия (у 1 — 20 МЕ/л и у 2 — по 75 МЕ/л). Клинических признаков гепатита у этих лиц не наблюдалось, из отклонений в состоянии здоровья в течение двух лет отмечались только острые респираторные заболевания. Двое сотрудников работают в отделение плазмоцитафереза, один — в лабораторном отделении. Можно предположить, что контакт с ВГВ не привел к развитию инфекции, а завершился формированием иммунного ответа. Тем не менее, данные о столь высоком уровне инфицирования, возможно, свидетельствуют о напряженной эпидемической ситуации, но можно предположить флюктуацию уровня антител.

Таким образом, целесообразно включить количественное определение анти-НВs в перечень маркеров гемотрансмиссивных инфекций, ежегодно исследуемых у сотрудников службы крови [Жибурт Е. Б. и др., 1998].

С введением в практику учреждений службы крови количественного определения анти-НВs появляется возможность отбора сырья для производства специ-

фического иммуноглобулина, который найдет применение для экстренной профилактики ВГВ-инфекции.

Важной задачей представляется оценка напряженности гуморального иммунитета к ВГВ после вакцинации.

2.2. Другие гемотрансмиссивные инфекции

2.2.1. Совершенствование профилактики гемотрансмиссивного сифилиса

Современная эпидемиологическая обстановка характеризуется подъемом заболеваемости сифилисом, а трансфузиологическая практика свидетельствует о возможности участия в донорстве лиц, инфицированных бледной трепонемой.

В России в 1997 г. количество вновь зарегистрированных больных достигло 277,3 случаев на 100 000 населения, это в 64 раза больше, чем в 1988 г. Н. К. Привалова (1999) полагает, что выводы этого анализа касаются только «официальной» части заболеваемости сифилисом. Косвенным подтверждением скрытого процесса заболеваемости является постепенный рост доли раннего скрытого сифилиса с 14,9 % в 1993 г. до 24,6 % в 1997 г., что особенно актуально для службы крови.

Вышеизложенное обуславливает особый интерес к лабораторному определению маркеров сифилиса в крови доноров.

В используемых в службе крови методах исследования маркеров сифилиса объектом поиска являются антитела к антигенам бледной трепонемы, содержащим фосфолипиды.

Образование аутоантител к структурным фосфолипидам тканей организма человека лежит в основе патогенеза первичного и вторичного антифосфолипидного синдрома [Насонова В. А. и др., 1994]. Антифосфолипидные антитела имеют клиническое значение при различных тромботических заболеваниях, головных болях и летальности плодов человека [Chamley L., McKay E., 1994], и их обнаружение, в том числе в тесте с кардиолипновым антигеном, является четким дифференциально-диагностическим признаком. Антитела к кардиолипину классов IgG и IgM обнаружены у 100 % пациентов с первичным и вторичным (при системной красной волчанке) антифосфолипидным синдромом, а также у 50 % больных с синдромом Снеддона (гиперплазия интимы артерий головного мозга) [Насонова В. А. и др., 1994]. Следовательно, при оценке результатов скрининга доноров надлежит иметь в виду возможность детекции аутологичных антифосфолипидных антител.

Нельзя не упомянуть об уникальном прекращении обследования доноров крови на маркеры сифилиса в Дании начиная с 1983 г. Мотивами такого решения послужили: возможность ложноотрицательных результатов исследования, особенно в ранних стадиях; низкая выживаемость бледной трепонемы (не более 72 ч при 4 °С; возможность успешного лечения сифилиса; высокие расходы: 70 млн датских крон на 1 случай). Однако подобный подход неприемлем в остальных странах Европейского Союза. Например, в Великобритании при обследовании 215 000 кроводач маркеры сифилиса обнаружены в 23 случаях, причем за последние 10 лет в крупнейшем центре крови выявлено 7 случаев свежей инфекции [Barbara J. et al., 1993]. Высока выявляемость сифилиса при лабораторном обследовании

доноров в ряде других стран: в Аргентине — 0,62 % [Blejer J. L. et al., 1999], в Греции — 0,76 % [Markris K. et al., 1999].

Важно, что бледная трепонема гибнет при хранении гемокомпонентов при температуре 1–8 °С в течение 48–72 ч. Соответственно, в условиях дефицита гемокомпонентов сохраняется возможность переливания крови по неотложным показаниям от доноров экстренного резерва (особенно в экстремальных и чрезвычайных ситуациях).

Трансфузии цельной крови, несмотря на снижение их доли, продолжают практиковаться — соотношение трансфузий эритроцитарной массы и крови в 1997 г. составило 3,6:1.

При этом существует реальная опасность переливания крови больного сифилисом в ранней стадии — с «подпороговым» содержанием антител.

Для иллюстрации данной проблемы приводим 3 примера из нашей практики обследования доноров.

Пример 1. Н., мужчина, 20 лет. При физикальном и лабораторном обследовании патологических сдвигов не выявлено. Антитела к бледной трепонеме в реакции микропреципитации с кардиолипновым антигеном (Предприятие по производству бактериальных препаратов, Харьков) не обнаружены. Заготовлено по 1 дозе эритроконцентрата и замороженной плазмы. Спустя 15 дней после кроводачи Н. обратился в дерматовенерологическое отделение госпиталя по поводу твердого шанкра и был госпитализирован с диагнозом «первичный сифилис». В отделяемом шанкра обнаружена бледная трепонема, реакция микропреципитации — 4+, реакция иммобилизации бледных трепонем (РИБТ) и реакция иммунофлюоресценции (РИФ) — положительные. Установлено, что Н. за 14 дней до кроводачи, находясь в отпуске, имел случайную половую связь. Очевидно, в период лабораторного обследования титр антител к бледной трепонеме у Н. был на подпороговом уровне реакции микропреципитации. Эритроциты Н. перелиты пациенту с сочетанной механической травмой. На следующие сутки реципиент от полученных повреждений скончался. Плазма Н. была сохранена, разморожена и подвергнута комплексному лабораторному обследованию. В реакции микропреципитации при иммуноферментном анализе и РИФ маркеров сифилиса не обнаружено.

Пример 2. П., женщина, 28 лет. Реакция микропреципитации с кардиолипновым антигеном — 4+. Следует отметить, что образование и выпадение хлопьев различной величины наблюдали в течение первых двух минут. Заготовленные гемокомпоненты уничтожены. При углубленном обследовании установлен диагноз «аутоиммунный тиреозит». Пациенты с данной патологией к донорству не допускаются. П. отрицала половые контакты в течение последних 6 лет, РИБТ и РИФ — отрицательные, сифилис исключен.

В подобных случаях следует иметь в виду возможность ранней диагностики серьезных аутоиммунных и системных заболеваний (первичный антифосфолипидный синдром, системная красная волчанка, синдром Снеддона и др.), для которых характерно образование антител к кардиолипину [Насонова В. А. и др., 1994].

Пример 3. Б., 23 лет. Реакция микропреципитации с кардиолипновым антигеном — 4+. Иммуноферментный анализ на антитела к бледной трепонеме («Аквапаст», Санкт-Петербург) — положительный. При углубленном обследовании установлен диагноз первичного серопозитивного сифилиса и начато стационарное лечение.

Таким образом, существует вероятность участия в донорстве больных с ранними стадиями сифилиса. Важным профилактическим мероприятием является углубленное изучение анамнеза, особенно последних 2 мес.

В комплексе мероприятий по выявлению инфицированных доноров (отбор доноров, опрос, физикальное обследование) ключевое значение принадлежит лабораторному обследованию донорской крови. Учитывая ограниченные возможности традиционных стандартных серологических реакций и опыт использования иммуноферментного анализа в профилактике других гемотрансмиссивных инфекций, перспективным представляется внедрение в практику работы службы крови выявления антител к бледной трепонеме методом иммуноферментного анализа [Жибурт Е. Б. и др., 1996].

Ключевое значение для обследования доноров крови имеет потенциально более высокая чувствительность иммуноферментного анализа, что позволяет выявлять невысокий уровень антител к бледной трепонеме на ранней стадии первичной инфекции. Однако сдерживающим фактором для внедрения первых отечественных иммуноферментных тест-систем явились их недостаточная специфичность, большое количество (около 3 %) ложноположительных результатов, а также длительность постановки исследования до 8 ч и наличие этапа предварительной сорбции трепонемного антигена на планшете в течение 16–20 ч [Жибурт Е. Б. и др., 1998].

Важной задачей представляется апробация появляющихся на рынке новых иммунодиагностикомов различных отечественных производителей. Цель проведенного исследования — оценить целесообразность использования для обследования донорской крови диагностической иммуноферментной тест-системы «РекомбиБест антипаллидум-стрип» (АО «Вектор-Бест», ГНЦ ВБ «Вектор»; Новосибирск).

Для исследования отобрали: 1) 92 образца сывороток крови здоровых доноров, обследованных методами микрореакции преципитации, РСК с трепонемным и кардиолипидным антигенами; 2) 11 образцов сывороток крови, впервые выявленных среди доноров, больных сифилисом, разделенных на 4 группы с различным содержанием специфических антител (табл. 2-11).

Таблица 2-11

Характеристика тестируемых сывороток больных сифилисом

Группа	n	РСК с кардиолипидным антигеном	РСК с трепонемным антигеном	Микрореакция преципитации
1	3	1:20	1:5	+
2	3	1:40	1:40	+++
3	3	1:40	1:80	++++
4	2	1:80	1:80	++++

Диагностическая иммуноферментная тест-система «РекомбиБест антипаллидум-стрип» представляет собой набор, предназначенный для выявления IgG-антител к возбудителю сифилиса в сыворотке или плазме крови человека. Осно-

вой этого набора является рекомбинантный антиген *Treponema pallidum*, иммобилизованный на поверхности лунок полистироловых планшетов. Один набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая 4 контроля (1 — положительный, 2 — отрицательных и 1 — контроль конъюгата). Возможны 6 независимых постановок иммуноферментного анализа, при каждой из которых 4 лунки используются для постановки контролей. Результаты ИФА регистрируют с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) на длине волны 492 нм. Выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществляют по воздуху. Результаты исследований оценивают только в том случае, если значение ОП в контроле конъюгата и K^- не более 0,2 о. е., а в контроле K^+ значение ОП превышает 0,8 о. е. Исследуемую сыворотку расценивают как положительную, если значение ОП превышает величину $ОП_{крит}$, которую вычисляют по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП(K^-) + 0,2,$$

где ОП (K^-) — среднее значение ОП для контрольной отрицательной сыворотки.

Учитывая, что интенсивность окрашивания коррелирует с титром антител к *T. pallidum* в сыворотке крови, для оценки чувствительности тест-системы проводили титрование 11 образцов положительных сывороток, получая в каждом стрипе последовательные двукратные разведения от 1:10 в лунке А до 1:1280 в лунке Н. Параллельно на отдельном стрипе титровали K^+ (до 6-й лунки — от 1:10 до 1:320) и ставили K^- в разведении 1:10.

Параллельно проводили аналогичное титрование положительных образцов с последующим определением антител к *T. pallidum* микрореакцией преципитации, использующейся для скрининга донорской крови.

92 сыворотки крови здоровых доноров исследовали для оценки специфичности тест-системы.

Результаты регистрировали с помощью информационно-измерительного комплекса для ИФА «ИЛИП» (АО «ИЛИП», Санкт-Петербург).

При исследовании всех 92 сывороток крови здоровых доноров методом ИФА получены отрицательные результаты, что свидетельствует о высокой специфичности тест-системы.

Результаты титрования позитивных образцов представлены в табл. 2-12 и 2-13. Во всех четырех тестируемых группах образцов зарегистрирована более высокая чувствительность иммуноферментного метода по сравнению с микрореакцией преципитации. Как правило, антитела к *T. pallidum* при исследовании методом ИФА выявляются при разведении в 2—4 раза и более относительно минимального титра в микрореакции преципитации.

Существенным преимуществом ИФА является возможность приборной регистрации оптической плотности пробы, что снижает риск ложноотрицательного заключения при субъективной оценке результата микрореакции преципитации. Протокол исследования, включающий численные параметры, облегчает решение экспертных вопросов. Время выполнения всех этапов исследования (около 2 ч) не увеличивает общую продолжительность лабораторной апробации донорской крови [Жибурт Е. Б. и др., 1999].

Таким образом, диагностическая иммуноферментная тест-система «Рекомби-Бест антипаллидум-стрип» может быть рекомендована для обследования доноров крови и ее компонентов.

**Результаты микрореакции преципитации позитивных образцов
(разведение от 1:10 до 1:1280)**

Группа 1			Группа 2			Группа 3			Группа 4		К
+	+	+	+++	+++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
-	-	-	++	++	++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
-	-	-	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+
-	-	-	+	+	+	++	++	++	++	++	+
-	-	-	+	+	+	+	+	+	++	++	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Таблица 2-13

**Оптическая плотность позитивных образцов при иммуноферментном
анализе (разведение от 1:10 до 1:1280)**

Группа 1			Группа 2			Группа 3			Группа 4		К
0,440	0,384	0,461	1,962	1,861	1,864	1,792	1,660	1,756	1,550	1,417	1,459
0,467	0,367	0,490	1,797	1,760	1,628	1,656	1,560	1,555	1,737	1,869	1,490
0,277	0,291	0,456	1,436	1,471	1,363	1,414	1,258	1,307	1,935	1,817	1,431
0,248	0,239	0,354	1,115	1,193	0,987	1,082	0,881	0,963	1,833	1,798	1,061
0,161	0,241	0,370	0,833	0,880	0,690	0,731	0,648	0,684	1,815	1,560	0,892
0,182	0,241	0,243	0,660	0,771	0,659	0,609	0,596	0,638	1,769	1,344	0,700
0,162	0,161	0,176	0,364	0,465	0,408	0,414	0,375	0,430	1,284	0,869	0,131
0,132	0,155	0,150	0,245	0,299	0,298	0,252	0,236	0,322	0,928	0,552	0,129

Примечание:

Жирным шрифтом выделены положительные результаты.

2.2.2. ВИЧ-инфекция

Глобальная проблема синдрома приобретенного иммунодефицита, связанного с инфекцией ВИЧ, во многом обусловлена передачей этих вирусов с кровью.

Вероятность заражения при переливании крови, ее компонентов и препаратов, инфицированных ВИЧ, является максимальной и превышает 90 % [Chin J., 1992]. Вклад гемотрансмиссивной ВИЧ-инфекции в распространение эпидемии в глобальном масштабе составляет 3–5 %, несмотря на практически повсеместный скрининг донорской крови на анти-ВИЧ-антитела. Феномен антителообразова-

ния при ВИЧ-инфекции тождествен вышеуказанному при гепатите С. Аналогичны проблемы серонегативного периода, вариабельности генома и чувствительности диагностических тест-систем. В отличие от вирусных гепатитов, для ВИЧ-инфекции разработана и декретирована система подтверждающей диагностики.

В группу повышенного риска ВИЧ-инфекции входят реципиенты множественных трансфузий, в первую очередь больные гемофилией. Описан ряд достоверных случаев заражения реципиентов проверенной кровью. При 100 % обследовании военнослужащих США среди активных доноров риск ВИЧ-инфекции составляет 1:10 000 [Webster N., Ward M., 1994].

Начиная с середины 1996 г. в Российской Федерации зарегистрирован резкий рост числа ВИЧ-инфицированных. В 1997 г. выявлено 4,3 тыс. новых случаев ВИЧ-инфекции, что в 3 раза больше, чем за 1996 г. и в 1,6 раза превышает число случаев выявления за весь предыдущий 10-летний период [Онисченко Г. Г. и др., 1999]. В качестве эпидемиологических моделей ВИЧ-инфекции рассматривают гемотрансмиссивные вирусные гепатиты В, С и D [Боровский И. В. и др., 1999]. Выявляемость ВИЧ-инфицированных при обследовании доноров увеличилась: с 6 человек в 1995 г. до 57 в 1997 г. и более 100 в 1998 г. 3 пациента были заражены ВИЧ при переливании от доноров, сдавших кровь в период серонегативного окна [Туполева Т. А. и др., 1999]. Важное значение при скрининге ВИЧ-инфекции (как и других инфекций) у доноров имеет выбор диагностической тест-системы [Бельгесов Н. В. и др., 1999].

Анализ развития эпидемического процесса ВИЧ-инфекции в Северо-Западном регионе России в 1998 г. показывает, что развитие эпидемии продолжалось в основном на тех же территориях, что и в предыдущие годы: Калининградская область — выявлено 754 ВИЧ-инфицированных, Санкт-Петербург — 84, Мурманская область — 20, Республика Коми — 11, Псковская область — 7, Архангельская область — 6, Новгородская область — 5, Ленинградская и Вологодская области, Карелия — по 4 [Терентьева Ж. В. и др., 1999].

Примечательно, что одним из последних достижений в профилактике и лечении СПИДа является пассивная иммунотерапия. Ежемесячное введение 500 мл гипериммунной плазмы улучшает клинический прогноз у больных СПИДом. При этом обследование здоровых ВИЧ-положительных доноров плазмы показало, что регулярная сдача плазмы не только не приносит вреда, но даже имеет терапевтический эффект — она может замедлить развитие заболевания [Карпас А. и др., 1999]. Еще одна важная демонстрация как эффективности применения иммунной плазмы, так и полезности донорства.

С другой стороны, ВИЧ продолжает оставаться «черным тюльпаном в букете гемотрансмиссивных инфекций»: тщательный предварительный отбор доноров продолжает демонстрировать свою эффективность (при обследовании около 200 тыс. доноров мы не выявили ВИЧ-инфицированных лиц). В условиях минимальной инфицированности донорского контингента важной практической задачей службы крови является использование для обследования доноров наиболее чувствительных и специфичных диагностикумов для выявления анти-ВИЧ-антител.

По результатам государственных сравнительных испытаний министр здравоохранения Российской Федерации в приказе № 153 от 5 мая 1999 г. «Об использовании иммуноферментных тест-систем для выявления антител к ВИЧ в сыворотке крови человека» отмечает, что качество диагностических иммуноферментных тест-систем отечественного производства значительно улучшилось, повысились

их чувствительность и специфичность. Этим же приказом для обследования доноров крови, органов и тканей рекомендуется 26 иммуноферментных тест-систем. В этом случае, помимо правил выбора диагностикума, изложенных в разделе 2.1.4.2, целесообразно проанализировать результаты испытаний. При этом обращает на себя внимание, что при работе с панелью низкотитражных сывороток с анти-ВИЧ-1 BBI (Boston Biomedica, Inc) образец с минимальным содержанием антител (PRB106-02) выявили лишь четыре отечественные тест-системы: «ВИЧ-1, ВИЧ-2-ИФА-Авиценна» (ООО МЦ «Авиценна», Москва) — отношение оптической плотности образца и контроля (О/К) — 1,30; «КомбиБест-Анти ВИЧ 1+2» (ЗАО «Вектор-Бест», пгт. Кольцово, Новосибирская область) — О/К — 1,19; «Эколаб-Дженелавиа-Микст» (ООО «Эколаб», г. Электрогорск, Московская область) — О/К — 1,9 и «Пептоскрин-2» (Экспериментально-производственное предприятие МБП РКНЦК, Москва) — 1,12. Тогда как результат исследования еще в 12 отечественных диагностикумах следует расценивать как ложноотрицательный. Среди зарубежных тест-систем наибольшую чувствительность показали наборы фирмы «Санофи Диагностик Пастер» (Франция).

Следовательно, правило «хорошего тона» производителей диагностических тест-систем — участие в федеральных и международных программах контроля качества. Чем лучше результаты такого участия — тем более охотно производители выдают пользователям копии сертификатов и протоколов испытаний. Особое значение для службы крови имеют результаты тестирования с панелями низкотитражных или сероконверсионных сывороток.

Для небольших диагностических лабораторий (с объемом исследований менее 90 исследований в день), не имеющих специального оборудования и высококвалифицированного персонала, приказом МЗ РФ № 153 (05.05.99) рекомендованы простые, быстрые тесты «ИммуноКомб Биспот ВИЧ-1, 2» («Биоград», Санкт-Петербург), «Джения ВИЧ-1, ВИЧ-2» и «SFD HIV-1, 2» («Санофи Диагностик Пастер», Франция).

Следует подробнее остановиться на уникальных наборах ИммуноКомб, использующихся в клиниках России с 1992 г. и предназначенных для лабораторной экспресс-диагностики ряда инфекций, в том числе ВИЧ-1, 2, вирусных гепатитов А, В и С, цитомегаловирусной инфекции, токсоплазмоза, а также краснухи, хламидиоза, хеликобактериоза (рис. 2-2).

Преимущества тест-систем в наборах ИммуноКомб состоят в следующем:

- полная комплектация наборов (мини-лаборатория);
- для постановки реакции и ее учета не требуется приборное обеспечение;
- практичность (позволяет исследовать одновременное количество проб (от 1 до 36));
- быстрота получения результатов (40–90 мин),
- стабильность (срок хранения 9 мес);
- простота в работе, возможность визуального учета результатов (не требуется специальная квалификация персонала);
- надежность (наличие дополнительного, внутреннего контроля);
- безопасность (в комплекте нет инфекционного материала);
- возможность исследования не только сыворотки или плазмы, но и цельной крови;

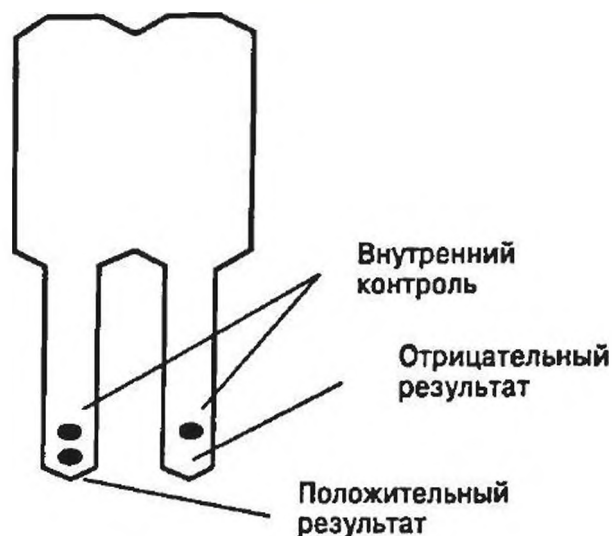


Рис. 2-2. Внешний вид диагностикума ИммуноКомб.

- результаты анализов стабильно сохраняются (годы), что обеспечивает надежное документирование и позволяет отслеживать изменения в состоянии пациентов;
- возможность количественной оценки содержания исследуемого объекта;
- чувствительность — 99,5 %;
- специфичность — 100 %;
- полностью удовлетворяет самым строгим требованиям международных стандартов.

В целом, тест-системы ИммуноКомб сочетают достоинства классического иммуноферментного анализа по специфичности и чувствительности при технической простоте и скорости анализа (табл. 2-14). Указанные выше достоинства позволяют применять наборы ИммуноКомб вплоть до районного звена здравоохранения, в том числе в полевых условиях, что имеет особое значение для работы в экстремальных условиях [Онуфриевич А. Д. и др., 1999].

2.2.3. Цитомегаловирусная инфекция

Цитомегаловирус человека классифицируют как род *Cytomegalovirus* подсемейства бета-герпесвирусы (*Bethaherpesvirinae*) семейства герпесвирусы (*Herpesviridae*). Вирион цитомегаловируса состоит из 4 структурных компонентов: сердцевины, нуклеокапсида, внутренней оболочки (*tegument*) и мембраны (*envelope*). Геном представляет собой линейную двунитевую ДНК, молекулярная масса которой колеблется от 100 до 155 млн [Жданов В. М., 1990].

Цитомегаловирус распространен по всему миру, передается половым путем и редко вызывает симптоматические болезни у иммунокомпетентных лиц. В Европе и Северной Америке антитела к цитомегаловирусу обнаруживаются в среднем у 40–60 % лиц старше 35 лет, а в некоторых регионах Африки и Азии — практически у 100 % [Becker Y. et al., 1993].

Сравнительные характеристики различных методов серологической диагностики инфекционных заболеваний

Параметр	ИммуноКомб	Планшетный ИФА	Методы агглютинации	Хроматография/фльтрация
Точность, %	> 95	> 95	> 80	> 90
Дифференцированное определение в одном анализе	Да *	Нет	Нет	Иногда
Индивидуальный внутренний контроль	Да	Нет	Нет	Иногда
Долговременная стабильность результатов	Да. Сохраняются для документации	Нет	Нет	Нет
Дифференциация фазы заболевания	Специфичная	Неспецифичная	Неспецифичная	Специфичная
Экономичность	Исключительная. Для любого количества анализов	Нет. Для отдельных анализов	Да. Для любого количества анализов	Нет. Для большого количества анализов

Примечание:

* Двухточечное дифференциальное определение антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2, структурным и неструктурным белкам ВГС, *C. trachomatis* и *C. pneumoniae*.

У иммунокомпрометированных лиц цитомегаловирус может вызывать аномалии развития, отставание в психическом развитии, глухоту, мононуклеоз, хориоретинит, фатальные болезни, такие как интерстициальная пневмония или генерализованная цитомегаловирусная инфекция. Иммуносупрессия — важнейший этап трансплантации аллогенных органов, а цитомегаловирус стал угрозой для реципиентов трансплантатов. Индуцированная цитомегаловирусом интерстициальная пневмония встречается у 35–90 % реципиентов трансплантатов.

Открытая рамка считывания гликопротеина внутренней оболочки цитомегаловируса имеет 20 % гомологию с альфа-цепью ГКГ. Бета-2-микроглобулин может связываться с этим белком и облегчать прикрепление и проникновение вируса в клетку. Эта гомология может быть причиной иммунотолерантности к цитомегаловирусу. Кроме того, в геноме цитомегаловируса обнаружен регион гомологичный HLA-DR-бета-цепи, что может служить причиной отторжения трансплантата [Жданов В. М., 1990; Букринская А. Г., Жданов В. М., 1991].

Цитомегаловирус может передаваться через биологические жидкости (слюна, сперма, моча, кровь) при различных контактах, переливании гемокомпонентов, аллотрансплантациях. Первичная инфекция, вероятно, генерализована. То, что зависимости между источником инфицирования и клиническими проявлениями инфекции не установлено, свидетельствует об определяющей роли иммунорезистентности макроорганизма в развитии и течении цитомегаловирусной инфекции.

Реактивация цитомегаловируса часто встречается в течение беременности, после перфузии, пересадки органов и при других состояниях, сопровождающихся

иммунодепрессией. Данные молекулярной биологии цитомегаловируса указывают на его потенциальную онкогенность [Букринская А. Г., Жданов В. М., 1991].

На инфицированных вирусом эндотелиальных клетках ингибируется экспрессия антигенов главного комплекса гистосовместимости II класса [Sedmak D. et al., 1994], тогда как экспрессия антигенов главного комплекса гистосовместимости I класса, напротив, возрастает [Tuder R. et al., 1994]. Цитомегаловирус индуцирует синтез цитокинов, инфицирует различные органы и ткани. Установлена синергичная и кофакторная роль цитомегаловируса в развитии СПИДа. Обсуждается патогенетическая связь цитомегаловирусной инфекции и атеросклероза [Melnick J. et al., 1993; Melnick J., 1994].

Продукты гена IE цитомегаловируса могут активировать экспрессию генов вируса гепатита В в гепатоцитах и клетках саркомы печени. Коэтиологическая роль цитомегаловируса в патогенезе саркомы печени требует глубокого изучения. Установлено, что одним из пусковых механизмов и регулятором (через активность энхансера/промотора гена IE) активации и реактивации цитомегаловируса (как и ВИЧ) является ФНО — один из важнейших эндогенных иммуномодуляторов. ФНО реактивирует цитомегаловирус дозозависимо с максимумом в концентрации 0,5–5 нг/мл, наблюдающейся в сыворотке крови при ряде патологических состояний. Показано, что повышение содержания фактора некроза опухоли в сыворотке серопозитивных лиц приводит к реактивации цитомегаловируса с развитием антигенемии. Отмечается развитие цитомегаловирусной инфекции у пациентов, получавших лечение антителами к Т-лимфоцитам: ОКТЗ, антициклический глобулин. В этом случае причиной реактивации цитомегаловируса также является увеличение выброса цитокинов [Docke W. et al., 1994].

Клиническая симптоматика и результаты инструментальных исследований позволяют сделать лишь предварительное заключение о цитомегаловирусной инфекции. Определяющее значение имеют результаты клинико-лабораторных исследований, среди которых по методическому подходу можно выделить 5 типов: 1) изоляция вируса; 2) серологическое исследование и определение вирусных антигенов (ИФА, иммунофлюоресценция, иммуноблоттинг); 3) гибридизация нуклеиновых кислот; 4) полимеразная цепная реакция; 5) цитомегаловирусные включения в гистологических препаратах [Mollison P. et al., 1987; Fest T. et al., 1994].

Выбор оптимального метода зависит от задач исследования, клинических проявлений и исследуемого материала. Синдром мононуклеоза, чаще встречающийся у лиц пожилого возраста, идентифицируется серологически. Антитела к цитомегаловирусу (IgM, IgG и IgA) появляются при первичной и возвратной инфекции в различном титре. Несмотря на гуморальный иммунный ответ, при симптоматической инфекции клеточный иммунитет угнетен, продукция интерферона снижена. Соотношение Т-хелперы/Т-супрессоры при остром мононуклеозе — порядка 0,1–0,5 за счет уменьшения содержания Т-хелперов и увеличения содержания Т-супрессоров. Классические проявления цитомегаловирусного мононуклеоза: слабость, боли в мышцах, продолжительная лихорадка, нарушения функции печени, гепатоспленомегалия и атипичный лимфоцитоз. В тяжелых случаях возникают: интерстициальная пневмония, миокардит, перикардит, поражение центральной и периферической нервной системы, острый и хронический энцефалит, асептический менингит, тромбоцитопеническая пурпура, гемолитическая анемия, гастроэнтерит, гепатит, ретинит и эпидермолиз [Lubitz R., Scheib J., 1994; Yoshinaga M. et al., 1994].

Маркером цитомегаловирусной инфекции, используемым при скрининге донорской крови, являются антивирусные антитела. Аналогичный подход достаточно эффективен при профилактике других гемотрансмиссивных инфекций (ВИЧ, сифилис, гепатит С). При углубленном обследовании у большинства (но не у всех) серопозитивных лиц удастся обнаружить вирусную ДНК; есть данные, что ДНК вируса в некоторых случаях удастся выделить, несмотря на отсутствие специфических антител.

Наибольшей антицитомегаловирусной активностью *in vitro* и *in vivo* обладают ганцикловир и фоскарнет, применяемые по различным схемам. В профилактике цитомегаловирусной инфекции используют комбинации ганцикловира, ацикловира и иммуноглобулинов для внутривенного введения. Разрабатываются специфические вакцины [Букринская А. Г., Жданов В. М., 1991; Conti D. et al., 1994; Glowacki L., Smaill F., 1994].

В 1966 г. установлена роль гемотрансфузий как вектора инфицирования цитомегаловирусом [Kaarinen L. et al., 1966; Paloheimo J. et al., 1968; Tolpin M. et al., 1985]. Нет сомнений, что вирусемия — важный элемент патогенеза цитомегаловирусной инфекции и сопровождается серьезной заболеваемостью и смертностью. Возможность передачи цитомегаловируса с кровью здорового донора объяснима с позиций концепции латентной инфекции, согласно которой фазой развития цитомегаловируса является внутриклеточное присутствие ДНК вируса, не сопровождающееся клеточными аномалиями или болезнью. Важно, что цитомегаловирус имеет предрасположенность к клеткам с первичной иммунной функцией [Saltzman R. et al., 1988].

Предполагают, что с увеличением срока хранения гемокомпонентов уменьшается вероятность передачи цитомегаловируса при их переливании. Считается, что инфицированные гемокомпоненты составляют от 1 до 12 % [Adler S., 1983; Adler S., 1984; Tegtmeier G., 1986].

Цитомегаловирусная инфекция у реципиентов гемокомпонентов может иметь следующие неблагоприятные последствия: 1) мононуклеоз; 2) повышение чувствительности к оппортунистическим инфекционным агентам как результат вирусиндуцированной иммунодепрессии; 3) отторжение трансплантата [Ouwehand A. et al., 1994]; 4) риск онкологических заболеваний; 5) риск развития атеросклероза; 6) нарушение процессов репарации и регенерации.

Важно отметить, что первичная цитомегаловирусная инфекция значительно тяжелее, чем реинфекция или реактивация [Mollison P. et al., 1987].

Цитомегаловирус является причиной постперфузионного синдрома, развивающегося в типичных случаях между 3-й и 6-й нед после гемотрансфузий. Клинические проявления аналогичны описанному выше мононуклеозу. Легкое течение — около 3 нед.

Цитомегаловирус способен инфицировать клетки многих типов, однако при передаче с гемотрансфузией основные мишени — моноциты, макрофаги, эндотелий, мегакариоциты и лимфоциты, в результате вирусного поражения которых нарушается продукция цитокинов [Rolfs A. et al., 1991].

Наиболее частым проявлением цитомегаловирусной инфекции у серонегативных реципиентов сердца и комплекса «сердце-легкие» является поражение желудочно-кишечного тракта (у 9,9 %) с воспалением, язвами, кровотечением и перфорациями различных отделов.

Острая цитомегаловирусная инфекция индуцирует субэндотелиальное воспаление сосудистой стенки аллотрансплантата, что может привести к локальному артериосклерозу [Koskinen P. et al., 1994].

Осложнения, вызванные цитомегаловирусом, могут привести к летальному исходу у 25 % больных с пересаженными почками или послужить причиной отторжения трансплантата у 20 % больных [Войлокова Р. Я. и др., 1993].

Профилактика инфекционных осложнений — важнейшая задача при пересадке сердца. Донор и реципиент должны быть серологически обследованы на ВИЧ, ВГВ, ВГС, цитомегаловирус, вирус *Varicella zoster*, ВЭБ и *Toxoplasma gondii*. При гемотрансфузиях надлежит использовать исключительно гемокомпоненты, негативные по цитомегаловирусу [Petri W., 1993].

Остается неясным — всегда ли первичная инфекция ведет к перманентной латентной инфекции. Термин «возвратная инфекция» относится к реактивации и реинфекции, однако лишь анализ вирусных ДНК, выделенных от донора и реципиента, позволяет дифференцировать два эти процесса. На практике критерием диагноза возвратной инфекции является четырехкратное увеличение титра антител к цитомегаловирусу, либо наличие в крови пациента специфического IgM. У иммунокомпрометированных пациентов серологические тесты могут быть ложноотрицательными из-за угнетения гуморального иммунитета либо ложноположительными при попадании антител с донорскими гемокомпонентами.

В табл. 2-15 представлены данные 19 исследований, опубликованных после 1966 г. В большинстве работ обследованы кардиохирургические пациенты, получавшие по 5–6 гемотрансфузий. Частота развития цитомегаловирусной инфекции изменялась от 0,9 до 67 % с отчетливой тенденцией к уменьшению. На частоту развития цитомегаловирусной инфекции у реципиентов гемокомпонентов влияют: изменения в пуле доноров, изменения лабораторного обследования и технологии производства гемокомпонентов, изменения возраста и чувствительности реципиентов. Менее значимым фактором является количество переливаемой крови. В 70–80-е годы формируются современные представления о гемотрансмиссивных инфекциях. Скрининг маркеров сифилиса, гепатитов и ВИЧ-инфекции (сурrogатных маркеров цитомегаловирусной инфекции) позволяет несколько уменьшить долю носителей цитомегаловируса среди доноров гемокомпонентов. Важнейшее значение имеет введение в практику обследования доноров определения содержания антител к цитомегаловирусу в донорской крови (в США с 1985 г.) [Sayers M., 1994].

Несмотря на то что проблему цитомегаловирусной инфекции у иммунокомпрометированных реципиентов называют «лишь видимой частью айсберга», именно ее очевидность привлекает наибольшее внимание клиницистов. В доступной литературе не удалось встретить четкого определения «иммунокомпрометированности». Применительно к обсуждаемой проблеме достаточно широко распространен подход, представленный в табл. 2-16.

Одним из наиболее показательных примеров иммунокомпрометированных реципиентов являются пациенты, которым выполняется трансплантация костного мозга. В 1993 г. в мире было выполнено 15 000 таких операций [Sable C., Donowitz G., 1994]. Цитомегаловирусная инфекция наблюдается у 50 % пациентов (15–20 % — с летальным исходом). Факторы риска развития цитомегаловирусной инфекции при трансплантации костного мозга: серопозитивность реципиента, серопозитивность трансплантата, использование серопозитивных (необследованных) гемокомпонентов, возраст пациента, HLA-несовместимость донора и

реципиента, развитие острой болезни «трансплантат против хозяина», использование общего облучения тела, количество и объем химиотерапевтических средств.

Таблица 2-15

Цитомегаловирусная инфекция у реципиентов гемокомпонентов

Год	Источник	Всего пациентов			Серонегативные			Серопозитивные		
		n	m	%	n	m	%	n	m	%
1966	Kaarinen L. et al.	21	9	43	6	6	100	15	3	20
1968	Paloheimo J. et al.	63	19	30	17	10	59	36	9	25
1968	Embil J. et al.	16	7	44	15	6	40	1	1	100
1969	Foster K., Jack I.	9	6	67	1	0	0	8	6	75
1969	Kleimola E. et al.	24	14	58	24	14	58	0		
1970	Henle W. et al.	152	53	35	61	36	59	91	17	19
1971	Prince A. et al.	152	30	20	93	17	18	59	13	22
1971	Caul E. et al.	55	21	36	21	7	33	34	14	41
1971	Luthardt T. et al.	73	12	16	35	8	23	38	4	11
1974	Med. Res. Council	712	37	5	270	24	9	442	13	3
1976	Monif G. et al.	207	19	9	140	16	11	67	3	4
1976	Armstrong J. et al.	119	15	13	93	9	10	26	6	23
1977	Bayer W.	159	5	3	30	1	3	129	4	3
1977	Lang D. et al.	10	5	50	6	4	67	4	1	25
1980	Kumar A. et al.	29	5	17	10	2	20	19	3	16
1984	Adler S.	94	12	12,6	0			94	12	12,8
1985	Grumet F. et al.	68	1	1,5	68	1	1,5	0		
1986	Wilheim J. et al.	595	7	1,2	595	7	1,2	0		
1988	Preiksaitis J. et al.	637	6	0,9	637	6	0,9	0		

Примечание:

n — общее количество пациентов в группе;

m — количество инфицированных пациентов в группе.

Дефекты защитных систем организма реципиентов костного мозга представлены в табл. 2-17. Нарушения иммунорезистентности аналогичной направленности встречаются при довольно широком спектре хирургических и терапевтических заболеваний. По-видимому, при оценке иммунокомпетентности/иммунокомпрометированности следует использовать диалектический принцип перехода количественных изменений в качественные. Соответственно, указанные в табл. 2-16 категории пациентов не исчерпывают возможный спектр иммунокомпрометированных реципиентов с повышенным риском развития цитомегаловирусной инфекции, что требует дальнейшего изучения.

**Реципиенты гемокомпонентов с повышенным риском
гемотрансмиссивной цитомегаловирусной инфекции и развития
цитомегаловирусной болезни (по M. Sayers, D. Gretch, 1993)**

1. Высокий риск хорошо установлен:
 - серонегативные беременные;
 - недоношенные дети (< 1200 г, рожденные от серонегативных матерей);
 - серонегативные реципиенты аллогенного костного мозга от серонегативных доноров;
 - серонегативные больные СПИДом.
2. Высокий риск менее хорошо установлен, но достаточный, чтобы принять во внимание:
 - серонегативные реципиенты трансплантатов (почки, сердце, печень, легкие) от серонегативных доноров;
 - серонегативные пациенты — потенциальные кандидаты на алло- или ауто-трансплантацию костного мозга;
 - серонегативные реципиенты аутологичного костного мозга;
 - серонегативные пациенты с ВИЧ;
 - серонегативные пациенты при спленэктомии.
3. Высокий риск не установлен:
 - серонегативные реципиенты аллогенного костного мозга от серопозитивных доноров;
 - серопозитивные реципиенты костного мозга;
 - новорожденные, независимо от массы тела и серологического статуса матери;
 - серопозитивные реципиенты аллотрансплантатов.

Известно, что, кроме цитомегаловируса, иммуноциты могут быть инфицированы другими герпесвирусами, аденовирусами, вирусами гриппа, кори, паротита, краснухи, гепатитов В и С, ретровирусами. Взаимосвязь иммунодепрессии и трансактивации вирусов — общепризнанный факт [Букринская А. Г., Жданов В. М., 1991]. Особо следует подчеркнуть, что применение аллогенных гемокомпонентов сопряжено с возможностью посттрансфузионной иммуносупрессии. У хирургических пациентов дисрегуляция иммунной системы усугубляется кровопотерей, анестезией, операционным стрессом [Blumberg N., Neal J., 1994].

Повышенный риск перехода цитомегаловирусной инфекции в болезнь отмечают при состояниях, сопровождающихся повышением содержания в сыворотке крови пациента ФНО: БТПХ, отторжении трансплантата, применении анти-Т-лимфоцитарных антител, синдроме системного ответа на воспаление («systemic inflammatory response syndrome»). По-видимому, у таких пациентов причиной цитомегаловирусной болезни может быть реактивация не только персистирующего цитомегаловируса, но и вируса, содержащегося в лейкоцитах донорского гемокомпонента [Docke W. et al., 1994].

Дефекты защитных систем организма реципиентов костного мозга

Система	Дефект	Восстановление
Клеточный иммунитет	Снижение количества и функции неспецифических цитотоксических клеток	30 дней
	Снижение количества Т-лимфоцитов	120 дней
	Снижение количества CD4+ клеток (хелперы/индукторы)	4—12 мес
	Снижение количества CD8+ клеток (цитотоксические/супрессоры)	1—6 мес
	Снижение соотношения CD4/CD8	1—6 мес
	Снижение продукции интерлейкина-2	3—12 мес
	Снижение реакции бласттрансформации у CD4+ клеток	2 года
	Снижение распознавания антигена	4 года
Гуморальный иммунитет	Снижение содержания IgG и IgM	30—160 дней
	Сниженный IgA-ответ на стимул	180 дней
	Сниженный Ig-ответ на пневмококки и полисахариды	180 дней
Система фагоцитоза	Угнетение хемотаксиса	4 мес
Альвеолярные макрофаги	Угнетение хемотаксиса	> 1 года
	Угнетение фагоцитоза	> 1 года
	Угнетение бактерицидности и фунгицидности	> 1 года

N. Best и соавт. (1995) установили: если концентрация циклоспорина в крови реципиентов сердца превышает 550 мг/л, то риск развития цитомегаловирусной инфекции на следующей неделе возрастает в 4,4 раза. Рекомендуется поддерживать содержание циклоспорина на уровне 375—550 мг/л, исследовать содержание антител к цитомегаловирусу у пациента 1 раз в неделю, а у обслуживающего персонала — 1 раз в 1—3 мес.

Технология заготовки, производства и применения гемокомпонентов имеет решающее значение в профилактике цитомегаловирусной инфекции у реципиентов гемокомпонентов. Например, если цитомегаловирусная инфекция развивается у 17—24 % серонегативных реципиентов почки от серонегативного донора, получивших в среднем 2,4 дозы крови, необследованной на антитела к цитомегаловирусу, то при использовании серонегативных гемокомпонентов доля инфицированных реципиентов уменьшается в несколько раз [Rubin R. et al., 1985].

Успехи в снижении гемотрансмиссивной цитомегаловирусной инфекции показаны при использовании: 1) серонегативной крови; 2) отмытых эритроцитов; 3) размороженных эритроцитов; 4) лейкоцитарных фильтров.

Таким образом, актуальными задачами являются: 1) внедрение в практику исследования содержания антител к цитомегаловирусу в сыворотке донорской крови; 2) внедрение в практику высокоэффективных лейкоцитарных фильтров; 3) минимизация посттрансфузионной иммуносупрессии (использование гистосовместимых гемокомпонентов, облучение и т. д.); 4) определение круга реципиентов, нуждающихся в трансфузиях гемокомпонентов, заготовленных от серонегативных доноров.

2.2.3.1. Механизмы активации цитомегаловирусной инфекции

Учитывая данные о реактивации цитомегаловирусной инфекции под действием ФНО [Docke W. et al., 1994], а также высокий уровень ФНО при углублении иммунодефицита у хирургических пациентов [Шевченко Ю. Л. и др., 1998] представляет интерес сравнительный анализ содержания ФНО в крови и маркеров цитомегаловирусной инфекции у хирургических пациентов.

Такое исследование проведено у 48 пациентов с ОГДЗЛ и 33 пациентов с ИЭ (табл. 2-18).

Таблица 2-18

Содержание ФНО и признаки активации цитомегаловирусной инфекции у хирургических пациентов

Группа	n	Антитела к цитомегаловирусу				ФНО, нг/л
		IgG		IgM		
		абс. число	%	абс. число	%	
Здоровые доноры	106	80	75,4	0	0	0,02±0,02
ОГДЗЛ	48	46	95,8	12	25,0	0,98±0,10
ИЭ	33	28	84,8	3	9,1	0,49±0,09

Инфекционно-воспалительный процесс сопровождается усилением продукции ФНО и, соответственно, увеличением (в десятки раз) его содержания в крови. У пациентов с ОГДЗЛ содержание ФНО в крови в два раза выше, чем при ИЭ.

В обеих исследуемых группах доля серопозитивных (IgG) лиц выше, чем в группе доноров. При этом среди пациентов с ИЭ выявлено около 15 % серонегативных, а среди пациентов с ОГДЗЛ — около 5 %.

Признаки активации цитомегаловирусной инфекции (специфический IgM) при ОГДЗЛ встречаются практически в три раза чаще, чем при ИЭ.

У всех 15 пациентов наличие антител к цитомегаловирусу класса IgM сочеталось с антителами класса IgG, однако провести дифференциальную диагностику реактивации персистирующей инфекции от активной свежей инфекции не представлялось возможным.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что у пациентов с тяжелой хирургической инфекцией на фоне углубления иммунодефицита создаются условия для активации латентных вирусных инфекций, в частности цитомега-

ловируса. Можно предположить реактивацию персистирующей инфекции и/или активацию вирусов, содержащихся в клетках гемокомпонентов [Жибурт Е. Б. и др., 1997].

Очевиден профилактический эффект следующих мероприятий: 1) использование гемокомпонентов от серонегативных доноров у серонегативных пациентов с тяжелыми хирургическими инфекциями; 2) элиминация лейкоцитов из трансфузионных сред; 3) обеспечение иммунокомпетентности хирургических пациентов путем использования максимально гистосовместимых гемокомпонентов; 4) заготовка концентратов лейкоцитов и тромбоцитов от серонегативных доноров [Ашинов Н. А., 1999; Баранова О. В., 1999].

2.2.4. Маркеры инфекции вирусом Эпштейна—Барр у пациентов с хирургическими инфекциями

В патогенезе хирургических инфекций ключевое значение имеют нарушения функционального состояния иммунной системы. Общеизвестным фактором в развитии иммунодефицитных состояний считают вирусную инфекцию, кофакторная роль которой показана при ряде гнойно-септических заболеваний, и в частности при инфекционном эндокардите (ИЭ) [Шевченко Ю. Л., Хубулава Г. Г., 1996]. В ряду иммуотропных вирусов одно из первых мест принадлежит представителям семейства *Herpesviridae*, в латентной форме широко распространенных в человеческой популяции и реактивирующихся при нарушениях иммунитета и неспецифической резистентности [Букринская А. Г., Жданов В. М., 1991]. Вирус Эпштейна—Барр (ВЭБ, вирус герпеса человека IV типа), которым инфицировано более 90 % населения, традиционно связывают с развитием лимфопролиферативного синдрома и назофарингеальной карциномы [Martinez O. M. et al., 1995]. ВЭБ-инфекция относится к значимым причинам летальности после миелотрансплантации. Угнетение функционального состояния иммунной системы лежит в основе развития этой инфекции. Существенной проблемой является неэффективность традиционных противовирусных препаратов, в частности — ацикловира, нарушающего репликативную фазу развития ВЭБ, но не изменяющего рост трансформированных В-клеток [Heslop H. et al., 1994].

С. Verdium и соавт. (1995) приводят интересный пример влияния ВЭБ-инфекции на человеческую популяцию. Установлено, что в составе ВЭБ содержится иммунодоминантный эпитоп, который связывается с антигеном HLA A11 и образовавшийся комплекс распознается цитотоксическими лимфоцитами. Таким образом, A11-позитивные лица устойчивы к ВЭБ. Этот антиген в Папуа Новой Гвинее встречается у 25—50 % населения, тогда как в Северной Европе — у 12 %. Правда, по последним данным, в Папуа Новой Гвинее обнаружен мутировавший штамм ВЭБ, не связывающийся с HLA A11. Мы обследовали несколько десятков пациентов с неходжкинскими лимфомами — HLA A11 не обнаружен (у доноров — 10 %).

Для активации ВЭБ характерны изменение цитокинового статуса (угнетение продукции интерлейкина-2, повышение продукции интерлейкинов-5, 10 и особенно 4), приводящие к стимуляции дифференцировки Т-хелперов 2-го типа и угнетению образования Т-хелперов 1-го типа [Heslop H. E. et al., 1994]. То обстоятельство, что аналогичный сдвиг иммунитета характерен для ИЭ и хирургической травмы [Vaxevanis C. N. et al., 1994], заставляет обратить более пристальное внимание на состояние ВЭБ-инфекции у пациентов с ИЭ. Традиционный подход

клинической диагностики ВЭБ-инфекции предусматривает определение содержания специфических антител (анти-ВЭБ) в крови. После кардиохирургических операций у 33 % первично серонегативных и 5,2 % серопозитивных пациентов обнаруживается как минимум 4-кратное увеличение титра антител к ВЭБ [Henle W. et al., 1970].

Обследовали 28 больных ИЭ при поступлении в клинику. Анти-ВЭБ определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью системы PLATELIA EBV («Sanofi Diagnostics Pasteur», Франция), тест-объектом в разных планшетах которой являются два высокоочищенных рекомбинантных ВЭБ-антигена:

- 1) EBNA-1-p72: антиген ядра ВЭБ, экспрессирующийся в латентно инфицированных клетках;
- 2) EA-D-p54: «ранний» антиген, p-54 — доминантный иммуноген EA-D комплекса, белки которого экспрессируются в начале репродуктивного цикла.

К обоим антигенам имеется возможность определить антитела класса IgG, а к «раннему», дополнительно, — IgM. О наличии латентной или активной инфекции позволял судить «реакционный профиль», под которым понимали значение результатов выявления трех видов анти-ВЭБ: EA-IgM, EA-IgG, EBNA-IgG.

Контрольную группу составили 32 здоровых донора гемокомпонентов.

Статистическую обработку результатов проводили с применением критерия χ^2 .

Результаты определения анти-ВЭБ в сыворотках крови представлены в табл. 2-19. За исключением одного донора в крови обследованных лиц присутствуют антитела к ядерному антигену ВЭБ класса Ig G — признак латентной ВЭБ-инфекции. Анти-EA IgG в обеих группах обнаруживаются приблизительно в одной трети случаев.

Таблица 2-19

Распространенность анти-ВЭБ у больных инфекционным эндокардитом

Вид анти-ВЭБ	Пациенты с ИЭ, n = 28		Доноры, n = 32	
	n	%	n	%
EA-IgM	21	75,0*	2	6,2
EA-IgG	9	32,1	10	31,2
EBNA-Ig G	28	100	31	96,9

Примечание:

* Достоверное отличие от контрольной группы ($p < 0,05$).

Наиболее существенные различия с высокой степенью достоверности выявлены для анти-EA IgM, которые являются маркером активной вирусной инфекции. Интересно отметить, что у одного из доноров, в крови которого обнаружены анти-EA IgM, на следующий день появились клинические и лабораторные признаки синдрома инфекционного мононуклеоза (лихорадка, фарингит, лимфаденопатия, спленомегалия и атипичный лимфоцитоз). При опросе второго анти-EA IgM-се-

ропозитивного донора установлено, что около трех недель назад он перенес острое респираторное заболевание.

Анализ распределения реакционных профилей (сочетание анти-ВЭБ у одного человека) показал, что в настоящем исследовании встречались 5 из 27 теоретически возможных комбинаций (табл. 2-20). Для здоровых лиц наиболее характерен реакционный профиль $-/-/+$ (62,5 %), который свидетельствует об отсутствии у них первичного инфицирования, тогда как у больных ИЭ был характерен профиль $+/-/+$ (43 %), типичный для реактивации латентной инфекции.

Таблица 2-20

**Распространенность реакционных профилей анти-ВЭБ
у больных инфекционным эндокардитом**

Реакционный профиль			Пациенты с ИЭ		Доноры	
EA-IgM	EA-IgG	EBNA-IgG	n	%	n	%
-	-	-	0	0	1	3,1
+	+	+	9	32,1	1	3,1
+	-	+	12	42,9	1	3,1
-	+	+	0	0	9	28,1
-	-	+	7	25,0	20	62,6

Полисистемность воспалительного процесса у пациентов с ИЭ, поступающих в кардиохирургическую клинику, маскирует клинические признаки вирусной инфекции, в том числе и ВЭБ. Тем не менее активная репликация вирусов в иммунокомпетентных клетках запускает порочный круг: угнетение функциональной активности клетки — активация вируса — поражение других клеток, что ведет к прогрессированию септического процесса. Подобная закономерность, характерная не только для ВЭБ, но и для других вирусов, в частности для вируса гепатита С [Жибурт Е. Б. и др., 1994; Шевченко Ю. Л., Хубулава Г. Г., 1996], оправдывает включение в предоперационную подготовку пациентов с ИЭ противовирусных и иммуномодулирующих средств. Контроль за ВЭБ-инфекцией обусловлен и запуском при ее активации аутоиммунного процесса, мишенью которого является супероксиддисмутаза. Последующее снижение антиоксидантного потенциала может приводить к гиперактивации свободнорадикального окисления и углублению нарушения гомеостаза организма пациента с ИЭ [Ritter K. et al., 1994].

Продолжительное иммунодефицитное состояние, опосредующее реактивацию ВЭБ, в сочетании с генетической предрасположенностью и другими факторами может приводить к переводу В-лимфоцитов и эпителия задней носоглотки в трансформированное состояние и развитию злокачественного процесса. Интересно, что у пациентов с ИЭ снижена распространенность антигена A11, с которым связывается иммунодоминантный эпитоп ВЭБ, а образовавшийся комплекс распознается цитотоксическими лимфоцитами [Verdium C. et al., 1995], что обуславливает резистентность A11-позитивных лиц к ВЭБ-инфекции.

Учитывая неожиданно высокую распространенность серологических маркеров активации ВЭБ-инфекции при ИЭ, кровь трех пациентов с ИЭ включили в группу исследования методом *in situ* ДНК-гибридизации («Biohit», Финляндия). Всего обследовали 26 пациентов: у 12 — злокачественные неходжкинские лимфомы; у 3 — острый лейкоз; у 5 — порок сердца, после операции с искусственным кровообращением; у 3 — инфекционный эндокардит, после операции с искусственным кровообращением; по 1 — системная красная волчанка, хронический миелолейкоз и рак толстой кишки, после массивных гемотрансфузий и 14 кадровых доноров гемокомпонентов.

Результаты исследований, представленные в табл. 2-21, подтверждают данные о высокой ассоциированности лимфом с ВЭБ-инфекцией. Причем ДНК ВЭБ в значительном количестве содержится не только в клетках лимфатических узлов, но и в циркулирующих лимфоцитах. При иммунофенотипировании у всех 6 ВЭБ-позитивных пациентов диагностированы В-клеточные лимфомы, причем у одного из пациентов рецидив лимфомы развился после аутотрансплантации костного мозга.

Таблица 2-21

**Результаты исследования ДНК вируса Эпштейна—Барр
в лимфоцитах периферической крови**

№ п/п	Диагноз	n	Инфицированных		Неинфицированных	
			n	%	n	%
1	Злокачественная неходжкинская лимфома	12	6	50	6	50
2	Острый лейкоз	3	0	0	3	100
3	Инфекционный эндокардит	3	1	33	2	67
4	Порок сердца	5	0	0	5	100
5	Системная красная волчанка	1	0	0	1	100
6	Хронический миелолейкоз	1	0	0	1	100
7	Рак толстой кишки	1	0	0	1	100
8	Кадровые доноры	14	0	0	14	100

У 14 кадровых доноров гемокомпонентов ДНК ВЭБ в лимфоцитах периферической крови не выявлено.

Из 14 реципиентов гемокомпонентов ВЭБ-вирусемия зарегистрирована лишь у одного пациента с инфекционным эндокардитом. Ключевое значение в профилактике ВЭБ-инфекции имеет нормализация иммунного статуса пациента и использование компонентов крови, не содержащих ВЭБ.

Тест-система «Biohit» для гибридизации ДНК ВЭБ *in situ* может быть использована в клинических лабораториях для мониторинга ВЭБ-инфекции и обследования доноров крови и тканей для иммунокомпрометированных пациентов.

Таким образом, обнаруженные у пациентов с ИЭ признаки реактивации латентной ВЭБ-инфекции требуют дальнейшего изучения как роли ВЭБ в патогенезе гнойно-септических заболеваний, так и иммунологических механизмов, срыв которых опосредует реактивацию латентных вирусных инфекций [Жибурт Е. Б. и др., 1996].

По-видимому, в комплекс лечебных мероприятий у пациентов с ИЭ целесообразно включать противовирусную и иммунокорректирующую терапию.

2.2.5. Другие гемотрансмиссивные инфекции

Наиболее частым инфекционным осложнением гемотрансфузий являются инфекционные гепатиты. Вирус гепатита D может присутствовать только у ВГВ-инфицированных. Вирусы гепатитов А и Е могут передаваться с кровью в начальный период заболевания при наличии вирусемии [Mollison P. et al., 1987]. М. McCarthy и соавт. (1996) приводят данные о нескольких случаях гепатита А у пациентов, получавших концентраты свертывающих факторов. Центр профилактики и контроля заболеваний США рекомендует вакцинировать (HAVRIX — инактивированная вакцина) реципиентов этих препаратов крови.

Т-лимфотропные вирусы человека I и II типов (HTLV-I, II) могут вызывать поражения центральной нервной системы и злокачественные заболевания системы крови. В США скрининг антител к HTLV-I у доноров обязателен. По результатам окончательного подтверждающего исследования количество серопозитивных по HTLV-I, II доноров в США составляет 0,016 %. В эндемичных районах (Карибский бассейн, Африка, Япония) инфицированность населения достигает 15 % [Guidelines for counseling persons infected with human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) and type II (HTLV-II), 1993]. Распространение HTLV-I отмечено на Сахалине [Gurtsevich V. et al., 1993]. В Латвии при исследовании донорской крови антитела к 1 или 2 белкам HTLV-I обнаружены у 0,8 % доноров, а 0,3 % из числа проверенных являются носителями HTLV-I [Кукайн Р. А. и др., 1993].

Парвовирус В19 может служить причиной развития острого артрита, апластического кризиса, гемолитической анемии и вызывать болезни плода, ведущие к спонтанному аборту [Kunimi M. et al., 1994; Jones M. et al., 1993]. Если специфические антитела к парвовирусу В19 класса IgG (признак перенесенной инфекции) встречаются у 29–65 % доноров, то антитела класса IgM (маркер свежей инфекции и возможной вирусемии) — у 1–3 % доноров [Jones M. et al., 1993]. ДНК парвовируса В19 обнаружена у 0,6 % доноров [Yoto Y. et al., 1995]. Наряду с капельным путем распространения инфекции, значимым считается и гемотрансмиссивный путь передачи [Яворковский Л. И., 1995]. Y. Yoto и соавт. (1995) наблюдали случай острой инфекции парвовирусом В19 после трансфузии эритроцитов у пациента с острым лимфоцитарным лейкозом, подготовленным к трансплантации стволовых клеток периферической крови. Авторы считают, что предупредить тяжелую инфекцию помогло внутривенное введение иммуноглобулина для профилактики цитомегаловирусной инфекции.

Совершенствование технологии хранения концентратов тромбоцитов при температуре выше 20 °С несет в себе потенциальную опасность размножения бактерий и тяжелой бактериальной инфекции [Gong J. et al., 1993]. Несмотря на создание консервантов, позволяющих сохранять функциональную полноценность тромбоцитов длительный срок, к клиническому применению рекомендуют кон-

центраты тромбоцитов со сроком хранения 5 сут и менее [MacCallum S. et al., 1993]. По образному выражению M. Blajman (1994) бактериальный сепсис, связанный с трансфузией, является «птицей Феникс»: в канадском центре крови Красного Креста бактериальное загрязнение обнаруживают в 1 из 1000 концентратов тромбоцитов. W. M. Smid и соавт. (1999) отмечают, что бактерии, контаминирующие концентраты тромбоцитов, в основном идентичны обычной микрофлоре кожи и могут быть занесены при венопункции. Ряд авторов отмечают сложность постановки раннего диагноза для начала своевременного лечения. K. Olsen и S. Sandlers (1996) наблюдали лихорадку и/или бактериальную инфекцию, леченную антибиотиками у 94,1 % реципиентов 5–10 концентратов тромбоцитов. В ряде исследований сообщается о риске сепсиса при переливании контаминированных аутологичных эритроцитов, особенно хранящихся свыше 20 сут [Blajman M. A., 1998].

Малярия может развиваться при передаче с кровью порядка 10 паразитов, которые к тому же сохраняют жизнеспособность при хранении и замораживании гемокомпонентов. Полагают, что в любое время в мире насчитывается 250 млн больных малярией [Dodd R. Y., 1998]. В таких странах, как Нигерия, Замбия и Папуа Новая Гвинея, у 10 % доноров можно выявить малярийные плазмодии при микроскопии мазков периферической крови [Mollison P. et al., 1987]. В Южной Америке инфицированность доноров *Trypanosoma cruzi* составляет более 1 %, достигая 5 % в столицах Венесуэлы и Аргентины, а в столице Боливии — 63 % [Mollison P. et al., 1987; Carvalho M. et al., 1993]. В эндемичных регионах России качественный сбор анамнеза у потенциальных доноров рассматривают как достаточно надежную профилактическую меру в отношении большинства паразитарных инфекций.

Социальные катаклизмы на территории бывшего СССР неблагоприятно сказались на противоэпидемических мероприятиях по ряду инфекций, в том числе малярии. По данным профессора А. Ф. Никитина, в настоящее время на территории России около 300 тыс больных малярией, что создает реальную угрозу передачи малярии с компонентами крови. Лиц, переболевших четырехдневной малярией, считается целесообразным исключать из числа доноров. Переболевших другими формами малярии, а также прибывших с территорий, эндемичных по этим инфекциям, привлекать к донорству через 5 лет после перенесенной болезни или пребывания на неблагополучной по малярии территории.

Инфицированность *Toxoplasma gondii* среди взрослых колеблется от 15 до 85 % в различных географических регионах [Howe D., Sibley L., 1995]. Случаи посттрансфузионного токсоплазмоза описаны у реципиентов лейкоцитоцентрированных, заготовленных от доноров с высоким уровнем антитоксоплазмозных антител, особенно класса IgM, — маркеров активного инфекционного процесса [Mollison P. et al., 1987].

Герпесвирусные инфекции взаимосвязаны с развитием иммунодефицитных состояний и приобретают особое клиническое значение у иммунокомпрометированных пациентов (см. разделы 2.2.3 и 2.2.4). Латентные формы герпесвирусных инфекций с высокой степенью достоверности выявляются при комплексном обследовании с использованием серологических, цитологических и молекулярно-биологических методов исследования [Борисова В. В., 1994]. Описаны случаи летальной инфекции вирусами простого герпеса у реципиентов почек [Войлокова Р. Я. и др., 1993]. На фоне клеточного иммунодефицита вирусы герпеса получают возможность активно реплицироваться с дальнейшим угнетением регуляторных и эффекторных механизмов иммунного ответа [Almeida G. et al., 1994].

С. А. Дракина и соавт. (1995) при анализе 17 случаев генерализованной инфекции вирусом простого герпеса с летальным исходом отмечают, что 4 пациента, непосредственно перед заболеванием перенесли массивные оперативные вмешательства, а одна больная страдала хроническим лимфолейкозом. Возможной причиной генерализованной герпетической инфекции может быть вирусемия вследствие трансфузии инфицированной крови.

Вирусы герпеса человека VIII типа [Chang Y. et al., 1994] ассоциированы с саркомой Капоши и некоторыми другими опухолями, а возможно, и множественной миеломой. Поскольку этот вирус определяется в 100 % биоптатов саркомы Капоши, весьма вероятно его этиологическая роль. Распространенность вируса герпеса человека VIII типа у здоровых лиц невелика: серопозитивны 0–5 % доноров, тогда как среди больных саркомой Капоши, доля серопозитивных составляет 81–100 %, среди мужчин-гомосексуалистов — 12–30 %, среди больных мочеполювыми инфекциями — до 6 %.

Еще одним претендентом на вступление в «клуб гемотрансмиссивных инфекций» стал ретровирус, ассоциированный с рассеянным склерозом (РАРС) [Pergon H. et al., 1997]. Полагают, что этот вирус может присутствовать в периферической крови и инфицировать В-лимфоциты.

2.2.5.1. Вирус гепатита G

Около 80–90 % посттрансфузионных гепатитов «ни А, ни В» связаны с ВГС, но 10–20 % остаются серологически негативными [Gitnick G., 1992]. В Японии более чем у 2 % реципиентов анти-ВГС-отрицательной крови развивается посттрансфузионный гепатит [Blood donor screening..., 1992]. Соответственно, родилась формулировка «гепатит ни А, ни Е», и поиск новых вирусов гепатита продолжился.

Базисом для открытия вируса гепатита G (ВГГ, HGV) послужили новые генно-инженерные технологии, которые позволяют избирательно размножить (амплифицировать) определенные нуклеотидные последовательности ДНК или РНК с последующим клонированием в бактериальных или эукариотических клетках. Это позволяет синтезировать рекомбинантные антигены и геномные зонды, которые можно использовать для диагностики вирусной инфекции, не имея самого вируса. Иными словами, открытие начинается не с вириона, а с его геномной молекулы, на основе которой искусственно воссоздаются элементы фенотипа. Эта парадоксальная стратегия была впервые использована при изучении вируса гепатита С [Бурков А. Н. и др., 1997] и явилась базой для открытия HGV.

РНК ВГГ была клонирована одновременно в двух лабораториях, поэтому первоначально вирус получил разные наименования: GB вирус типа С — назван по инициалам пациента (GB) и вирус гепатита G (поскольку гипотеза о существовании вируса гепатита F уже была сформулирована) [Simons J. N. et al., 1995; Хазанов А. И., 1996]. В состав ВГГ, отдаленно напоминающего ВГС, входят около 2900 аминокислот, составляющих структурные белки сердцевины и оболочки и неструктурные элементы (хеликаза, протеиназа, ДНК-зависимая РНК-полимераза) [Kao J.-H. et al., 1996].

Несмотря на выделение ВГГ от больных гепатитом, значимость его в развитии заболевания, по-видимому, невелика. ВГГ не влияет на течение ВГС-инфекции [Tan D. et al., 1999].

РНК ВГГ обнаруживается у 1–4,5 % доноров, значительно чаще чем ВГВ и ВГС. Несмотря на присутствие ВГГ почти во всех неинaktivированных концентратах факторов свертывания, только 14 % больных гемофилией, получающих эти факторы, инфицированы, что свидетельствует о малой инфекциозности вируса [Jarvis L. M. et al., 1996]. Аналогична ситуация среди реципиентов неинaktivированных иммуноглобулинов [Lefrere J. J. et al., 1997]. Следует согласиться с мнением Као J.-H. et al. (1997) об отсутствии необходимости скрининга ВГГ у доноров. Основания для такого заключения: нет данных о том, что ВГГ вызывает посттрансфузионный гепатит; роль ВГГ в патологии печени неизвестна; нет метода диагностики ВГГ-инфекции (констатируется только вирусемия); введение скрининга приведет к клинически необоснованной потере гемокомпонентов.

Этот тезис подтверждается и результатами первых работ российских ученых, посвященных ВГГ. Так, О. Е. Попова и соавт. (1999) зарегистрировали частоту выявления Е2 анти-ВГГ среди первичных доноров крови, проживающих в различных регионах от 4,7 до 9,6 %. При этом частота выявления анти-ВГГ в регионе с высоким уровнем распространения гемотрансмиссивных гепатитов (Республика Саха) оказалась минимальной.

2.2.5.2. Прионы — новый класс гемотрансмиссивных инфекций

Открытие новых патологических агентов ведет к расширению перечня гемотрансмиссивных инфекций (в последние 15 лет — вирусы иммунодефицита человека, гепатита С и другие) и обуславливает изменения в деятельности службы крови.

Уникальными особенностями характеризуются этиологические агенты трансмиссивных губчатых энцефалопатий (ТГЭ) — прионы — новый класс гемотрансмиссивных инфекций (табл. 2-22). Понятие «прион», предложенное Stanley Prusiner в 1982 г. по аналогии со словом «вирион», обозначает белковоподобную инфекционную частицу очень маленького размера [Prusiner S. B., Scott M. R., 1997; Prusiner S. B., 1998].

В отличие от известных ранее возбудителей инфекционных заболеваний — бактерий, вирусов, грибов — прионы лишены нуклеиновых кислот и состоят из прионового протеина (PrP), существующего в двух идентичных по аминокислотной последовательности изоформах: PrP^C — обнаруженной у всех здоровых млекопитающих и PrP^{Sc} — этиологического агента ТГЭ [Семенов Б. Ф., Зуев В. А., 1997].

PrP имеет молекулярную массу около 33–35 кД и состоит из 250–260 аминокислот, включая 22-членный N-терминальный сигнальный пептид. Гомология аминокислотной последовательности PrP человека с другими видами млекопитающих составляет порядка 90 %. С изменениями гена PrP, локализующегося на коротком плече 20-й хромосомы (мутации, дополнительные повторы), связывают семейные случаи ТГЭ, а также длительность инкубационного периода и степень видовой восприимчивости [Prusiner S. B., 1998]. Главным компонентом инфекционного приона является его дериват PrP 27–30, образующийся из PrP^{Sc} при расщеплении протеиназой К.

Структурные и функциональные отличия изоформ прионного белка (трансмембранного сialogликопротеина — участника межклеточного взаимодействия), кодирующегося геном хозяина, связывают с участием в посттрансляционной модификации (альфа-цепь трансформируется в бета-лист) специфических неор-

ганических молекул. При этом, в отличие от нормальной изоформы PrP^C, аномальная изоформа PrP^{Sc} способна образовывать агрегаты нескольких молекул — амилоидные фибриллы. Дальнейшее накопление амилоидных фибрилл *in situ* по типу кристаллообразования ведет к образованию амилоидных бляшек, сопровождающемуся дегенерацией нейронов и пролиферацией астроцитов, вследствие чего серое вещество приобретает губкообразную структуру (губчатый энцефалит) [Prusiner S. B., Scott M. R., 1997; O'Rourke K. I. et al., 1998].

Таблица 2-22

Фундаментальные различия вирусов и прионов
[Воробьев А. А., Макаров В. В., 1997]

Вирусы	Прионы
Малые размеры, способность к размножению, инфекционность, патогенность	
Сложные, мультимолекулярные комплексы от нуклеопротеинов до липидосодержащих оболочечных структур. Обладают первичными свойствами живой материи	Простой белок — модифицированная изоформа нормального белка организма-хозяина
Имеют собственный геном, кодирующий вирусное потомство, включая структурные белки	Не содержат генетического материала; белок приона кодируется генами организма-хозяина
Чувствительны к денатурирующим и модифицирующим факторам (нагревание, детергенты, облучение, алкилирование, органические растворители)	Чрезвычайно устойчивы к обычным процедурам дезинфекции (в том числе к высоким температурам, факторам, разрушающим генетический материал)
Вирусные белки-антигены вовлекаются в иммунный ответ организма-хозяина	Иммунного ответа на прионный белок нет

Таким образом, структура патологической формы прионного белка обуславливает два важных обстоятельства для трансфузионной медицины: 1) отсутствие гуморального ответа на собственный белок организма (следовательно, отсутствие специфических антител в сыворотке — традиционного маркера гемотрансмиссивных инфекций); 2) отсутствие размножения или репродукции патологического агента (входящие в состав амилоидных фибрилл комплексы PrP^{Sc} чрезвычайно устойчивы к традиционным дезинфицирующим и стерилизующим воздействиям, разрушающим нуклеиновые кислоты).

Принципиальное значение для службы крови имеет и то обстоятельство, что после орального или парентерального инфицирования возбудителем ТГЭ происходит фаза *прионемии* с накоплением прионов в мононуклеарных фагоцитах и лимфоцитах и распространением инфекции в циркулирующей крови. При этом инфекционность крови формируется до появления клинических признаков заболевания [Brown P., 1995]. Передача прионов с компонентами крови, преимущественно взвесью лейкоцитов и тромбоцитов (*buffy coat*), показана в эксперименте на животных [Yar P. L. et al, 1998] и даже при инокуляции *buffy coat* инфицированной морской свинки интактному животному [Manuelidis E. E. et al, 1978].

Болезни, объединенные в группу ТГЭ, характеризуются инкубационным периодом (от 1 года до 30 лет и более), медленно прогрессирующим течением, пато-

логическими изменениями опустошительного характера исключительно в нервной ткани, отсутствием при этом признаков инфекционного воспаления и иммунного ответа, неизбежным летальным исходом.

К ТГЭ человека относят куру (болезнь людоедов, употреблявших в пищу головной мозг), болезнь Крейтцфельда—Якоба (БКЯ), синдром Гершманна—Штраусслера—Шейнкера, семейную фатальную бессонницу, амиотрофический лейкоспонгиоз и синдром Альперса [Макаров В. В. и др., 1999].

С донорской кровью и продуктами ее переработки могут быть связаны три вида БКЯ: спорадические или семейные формы; ятрогенные формы; «новый вариант» БКЯ (нвБКЯ), связанный с возбудителем губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭ КРС) [Stewart G. E., Ironside J. W., 1998].

Следует подчеркнуть, что ключевую роль в процессе нейроинвазии прионов играют В-лимфоциты [Raebler A. J. et al., 1998].

Впервые диагностированная в 1986 г. в Великобритании ТГЭ крупного рогатого скота в июне 1988 г. была объявлена особо опасной болезнью животных. Эпизоотия ГЭ КРС, представляющая собой переход возбудителя скрепи овец на новый вид, обусловлена техногенным фактором, а именно отменой процедур экстракции жира органическими растворителями в процессе производства мясо-костной муки. Ассоциированные с липидами биоструктур прионы не «разводились» во всем объеме продукта, а оставались сконцентрированными, вследствие чего создавались условия попадания в организм КРС критической заражающей дозы возбудителя [Воробьев А. А., Макаров В. В., 1997].

Возбудитель ГЭ КРС у человека вызывает нвБКЯ, поражающую лиц молодого и среднего возраста [Stewart G. E., Ironside J. W., 1998].

Полагают, что около 80 000 человек в Великобритании могут быть инфицированы возбудителем нвБКЯ, с инкубационным периодом порядка 25 лет. Соответственно, инфицированным может быть один из 250 доноров крови. Поскольку в среднем один пациент получает две дозы гемокомпонентов от разных доноров, то можно предположить риск инфицирования одного из 125 реципиентов.

С абсолютной достоверностью доказать случай заражения прионами с гемокомпонентами весьма затруднительно (значительный инкубационный период, сложность диагностики). Точный диагноз можно поставить лишь при гистологическом исследовании препаратов головного мозга или гликопротеинировании PrP методом вестерн-блота с использованием образцов лимфоидной ткани [Hill A. F. et al., 1997]. Весьма показательны исследования *in vivo* с внесением тестируемого материала внутричерепально, однако не ясно, насколько восприимчив мозг животных к человеческим формам заболевания.

Тем не менее большинство специалистов констатируют риск посттрансфузионной БКЯ [Ricketts M. N. et al., 1997], хотя частота как доноров, так и реципиентов крови среди пациентов с БКЯ не отличается от популяционной [Esmonde T. F. et al., 1993].

Не обнаружено признаков БКЯ у 2000 пациентов, получивших компоненты и препараты крови доноров, впоследствии умерших от БКЯ [Brown P., 1995]. van Duijn C. M. и соавт. (1998) по результатам контролируемого исследования факторов риска БКЯ в шести странах Европы сделали вывод о значимости генетических (но не только мутации PrP) факторов, а также о том, что в популяционном исследовании не выявляется значимость применения гемотрансфузий и хирургических методов лечения, также как и потребления различных продуктов, контакта с животными.

В то же время случаев ятрогенной БКЯ известно достаточно много. В первую очередь, они связаны с применением гормона роста или гонадотропина человека, нейрохирургическими вмешательствами (пересадка твердой мозговой оболочки, другие операции), пересадкой роговицы. При загрязнении нейрохирургических инструментов материалом, содержащим прионы, отмечается наименьший период инкубации БКЯ.

Существует мнение о целесообразности исключения из донорского контингента лиц старше 50 лет, как наиболее опасных в плане передачи БКЯ. Однако группа экспертов Национального института сердца, легких и крови США полагает, что наряду с сокращением донорского контингента, подобное решение приведет к увеличению риска инфицирования реципиентов: ВИЧ — на 12 %, ВГС — на 21 % и ВГВ — на 22 %, вследствие большей распространенности этих патогенов среди потенциальных доноров молодого возраста [Busch M. P. et al., 1997]. Тем более что одной из причин БКЯ как патологии, выявляемой в пожилом возрасте, полагают гиподиагностику [De Silva R. et al., 1997].

При анализе отечественной литературы и персональном общении с коллегами не удалось обнаружить сведений о случаях нвБКЯ в России. В связи с этим уместно привести сведения о первичных диагнозах 94 пациентов с БКЯ:

Инсульт	18
Депрессия	13
Деменция	10
БКЯ	8
Нет диагноза (врач не знал)	6
Болезнь Альцгеймера	5
Болезнь Паркинсона	5
Стресс	4
Множественный склероз	3
Инфекция внутреннего уха	2
Реактивное состояние	2
Артрит	1
Астения	1
Атаксия	1
Васкулит ЦНС	1
Вирусный энцефалит (вирус простого герпеса)	1
Гипогликемия	1
Грипп	1
Дегенеративное поражение головного мозга	1
Заболевание сердца	1
Затвердение артерий головного мозга	1
Нейродегенеративное расстройство	1
Очаговые поражения головного мозга	1
Первичная доброкачественная опухоль	1
Приобретенная эпилепсия	1
Прионное заболевание	1
Припадки	1
Сенсорная нейропатия	1
Синдром Жильена—Барре	1

Опубликовано два сообщения о посттрансфузионной болезни Крейтцфельдта—Якоба вследствие передачи прионов с препаратами альбумина [Creange A. et al., 1996; Patry D. et al., 1998], однако в обоих случаях приведены сведения о параллельном развитии заболеваний у донора и реципиента, что не исключает случайного совпадения и значимости других механизмов инфицирования. В феврале 1998 г. под давлением общественности министр здравоохранения Великобритании принял решение о закупках за рубежом донорской плазмы для производства альбумина, а 30 апреля 1998 г. Комитет по безопасности в медицине постановил временно запретить использование плазмы, заготовленной в Великобритании, для производства препаратов крови из-за теоретического риска передачи прионов. В настоящее время плазма для переработки на английских предприятиях импортируется из Северной Америки [Barbara J., 1999].

Концепцию инфекционной безопасности гемокомпонентной терапии расширяют современные представления о БКЯ. Очевидно, перечень противопоказаний должен быть дополнен:

- наличием родственников, страдающих БКЯ;
- пересадкой твердой мозговой оболочки или роговицы в анамнезе [Жибурт Е. Б. и др., 1999].

Дополнительного изучения требует оценка безопасности использования отечественных органопрепаратов из головного мозга КРС [Воробьев А. А., Макаров В. В., 1997]. Пулы плазмы, содержащие образцы пациентов с БКЯ, подлежат уничтожению.

Существует потенциальная возможность скрининга прионов с использованием моноклональных антител к PrP^{Sc}, которые в настоящее время применяются для исследования гистологических препаратов [Korth C. et al., 1997; O'Rourke K. I. et al., 1998].

Включение прионов в перечень гемотрансмиссивных инфекций не требует радикального пересмотра перечня организационных и технологических мероприятий, направленных на предупреждение контаминации реципиента [Жибурт Е. Б., 1998]. Учитывая, что в фазе прионемии патогены содержатся внутри лейкоцитов, очевидна профилактическая эффективность удаления лейкоцитов из трансфузионной среды с использованием современных модификаций специальных фильтров, задерживающих лейкоциты при заготовке крови, трансфузиях концентратов эритроцитов и тромбоцитов (см. раздел 4.5).

2.2.5.3. Вирус ТТ

В 1997 г. Т. Nishizawa и соавт. объявили о выделении нового вируса клона № 22, который был обнаружен методом репрезентативной дифференциальной амплификации в сыворотке пациента с инициалами Т. Т., страдавшего гепатитом неизвестной этиологии. По инициалам пациента (Т. Т.) предложено название — вирус ТТ (ВТТ), т. е. неверно интерпретировать ТТ как английскую аббревиатуру от «transfusion-transmitted» [Naoumov N. V. et al., 1999].

Установлено, что безоболочечный ВТТ содержит одонитевую спиральную круговую ДНК (около 3800 нуклеотидов) и, по-видимому, является членом нового семейства вирусов гепатита — Circinoviridae [Hushahwar I. K. et al., 1999]. Так как и в дальнейшем вирус был обнаружен у больных с острыми и хроническими

заболеваниями печени и ассоциировался с высоким уровнем АЛТ, была определена возможная связь между гепатитом «ни А, ни G», а также передача вируса гемотрансмиссивным путем.

Данные о распространенности ВТТ весьма разноречивы. Среди 1000 доноров Великобритании ВТТ обнаружен в 1,9 % случаев, преимущественно в старшей возрастной группе (средний возраст 53 года) с тенденцией к учащению с возрастом [Simmonds P. et al., 1998]. Аналогичные данные получены в США, где ВТТ встречается у 1 % доноров и 4 % пациентов, получавших трансфузии [Charlton M. et al., 1998]. В Германии при обследовании доноров также выявлен 1 % ВТТ-позитивных доноров [Viazov S. et al., 1998]. В Италии, как указывают D. Prati и соавт. (1999), до 22 % обследованных доноров имеют последовательности ВТТ в сыворотке крови, а в Бразилии — до 62 % доноров [Niel L. et al., 1999]. По данным японских авторов, 12 % доноров являются носителями ВТТ [Kanda Y. et al., 1999; Tsuda F. et al., 1999]. ТТ-вирусемия характерна для 37 % больных, страдающих талассемией [Allain P. et al., 1999], 19 % больных с талассемией в Таиланде [Rooworawan Y. et al., 1998]. У больных гемофилией, получающих в качестве заместительной терапии VIII фактор, ВТТ выявляется в 44,4 % [Takayama S. et al., 1999], что соответствует данным, полученным при обследовании препаратов крови, в частности, факторов VIII и IX, когда обнаружили высокий процент контаминации вирусом [Simmonds P. et al., 1998].

Проведены обширные исследования по выявлению ВТТ у пациентов с заболеваниями печени, особенно неизвестной этиологии. Выяснено, что ТТ-виремия встречается при фульминантной форме гепатита, хроническом активном гепатите и циррозе неизвестной этиологии [Ikeda H. et al., 1999]. В 15 % случаев криптогенного цирроза печени, 27 % случаев идиопатической фульминантной печеночной недостаточности [Naoumov N. B. et al., 1998] у 19 % пациентов, ожидающих ортотопической трансплантации печени, также находят ВТТ [Hohne M. et al., 1998]. Разноречивы данные о связи ВТТ с гепатоцеллюлярной карциномой [Tanaka H. et al., 1998]. Т. Yamamoto и соавт. (1998) выявили ВТТ у 20 неинфицированных вирусами гепатита В и С пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой, однако отсутствие интеграции ДНК вируса и ДНК гепатоцита авторы считают доказательством неканцерогенности ВТТ. Больные гемофилией, постоянно получающие заместительную терапию, имеют высокий риск инфицирования ВТТ, который является причиной криптогенного гепатита и цирроза [Takayama S. et al., 1999]. По данным S. M. Desai и соавт. (1999), среди больных гепатитом «ни А, ни G» ВТТ выявлен в 2 % случаев. Однако, по мнению Т. Nakano и соавт. (1999), ВТТ — не главная причина криптогенного гепатита, так как, по данным проведенного им исследования, превалирования ВТТ инфекции в группе риска не выявлено.

Вирус ТТ широко распространен в популяции Южной Америки, Центральной Африки, Папуа Новой Гвинеи. Исследования F. Davidson и соавт. (1999) обнаружили интересную деталь: у 43 % ВТТ-позитивных новорожденных матери были ВТТ-негативными.

Обследование категорий населения, относящихся к группам риска (наркоманы, проститутки, гомосексуалисты), не выявило превалирования инфицированности (4,5—13 %) по сравнению с общепопуляционной. Хотя в эксперименте при внутривенном введении ВТТ (шимпанзе) развивается вирусемия, полагают, что распространение вируса половым путем и при внутривенном введении наркотиков не является преобладающим [Nakano T. et al., 1999; MacDonald D. M. et al., 1999].

ДНК ВТТ выявляют с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР). Разработан метод определения антител к ВТТ (анти-ВТТ) в реакции иммунопреципитации. Интересно, что анти-ВТТ обнаружены у одного из шести (17 %) здоровых доноров с ДНК ВТТ в крови и у 11 из 38 (29 %) без ТТ-вирусемии. У двух пациентов с посттрансфузионным «ни-А, ни-С» гепатитов анти-ВТТ появились в сыворотке крови после исчезновения из нее вируса [Tsuda F. et al., 1999]. Помимо циркулирующей в плазме крови, ДНК ВТТ обнаружена также и в лейкоцитах [Okamoto K. et al., 1999]. Т. Kanda и соавт. (1999) обнаружили, что 60 % лиц, перенесших трансплантацию костного мозга, инфицированы ВТТ, тогда как среди доноров костного мозга ВТТ-позитивны лишь 10 %. Полагают, что ВТТ реплицируется в основном в гемопоэтических клетках и не является причиной повреждения гепатоцитов. Даже при высоком уровне трансаминаз крови не всегда удается обнаружить повреждения ткани печени при моно-ВТТ-инфекции [Naoumov N. B. et al., 1998].

Выделено 6 генотипов (G1-6) вируса ТТ, при этом не определено каких-либо географических различий между распространенностью генотипов вируса [Takayama S. et al., 1999]. Наиболее распространенные — G1-3 [Okamoto H. et al., 1999]. Генотип 1a и 2a чаще встречается при заболеваниях печени [Pinho Y. R. et al., 1998]. О наличии персистирующей инфекции можно узнать, производя тестирование через 5–6 мес после трансфузии крови, ее компонентов и препаратов [Biajini P. et al., 1999; Mushahwar I. K. et al., 1999]. В то же время развитие фульминантного поражения печени возможно уже через месяц после предполагаемого инфицирования [Naoumov N. B. et al., 1998]. Необходимы дальнейшие исследования и данные, на основании которых можно более детально прояснить этиопатогенетическую роль вируса ТТ [Desai M., et al., 1999].

Первоначально вирус был определен как гемотрансмиссивный. Однако выявление широкого бессимптомного носительства у здоровых людей, никогда не получавших трансфузий крови, и среди детей поставило под сомнение исключительность парентерального пути передачи инфекции [Hsieh Y. et al., 1999]. Установлено, что вирус экскретируется желчью, выделяется из желудочно-кишечного тракта [Ukito M. et al., 1999] и передается фекально-оральным путем [Okamoto H. et al., 1998]. Относительно низкий процент встречаемости ВТТ-инфекции в группах риска свидетельствует о том, что половой и инъекционный пути передачи не являются основными [McDonald D. M. et al., 1999].

В связи с тем что ВТТ-вирус относится к безоболочечным, возникает проблема его элиминации из препаратов крови. При скрининговом контроле препаратов факторов VIII и IX ДНК ВТТ обнаружена в 56 % исследуемых образцов. По предварительным данным, разрушение ВТТ происходит при пастеризации в течение 10 ч при 60 °C [Simmonds P. et al., 1999]. Y. Cossart (1999) сообщает, что ВТТ обнаруживается лишь у 0,5 % больных гемофилией, получающих только термически обработанные концентраты факторов свертывания. Предстоит уточнить, насколько эффективны методы обеззараживания гемокомпонентов (см. подробнее раздел 2.1.5.5) в отношении ВТТ.

Таким образом, в настоящее время нет четкой информации о патогенности ВТТ, способах диагностики и скрининга этой инфекции. Нестандартность ПЦР-диагностики (использование различных праймеров разными учеными) позволяет усомниться в истинности ряда публикуемых данных о распространенности ВТТ. Более того, S. M. Desai и соавт. (1999), применив для обследования одного контингента два праймера, использованные в предшествующих исследованиях

Т. Nishizawa и P. Simmonds (1998), установили, что большинство образцов реагируют только с одним из праймеров.

Для трансфузионной медицины значимы особенности ВТТ — множественность путей передачи и отсутствие оболочки. Однако имеющейся информации недостаточно для радикального изменения порядка заготовки и переливания крови.

2.3. Полимеразная цепная реакция в диагностике гемотрансмиссивных инфекций

В настоящее время наиболее совершенным диагностическим методом, позволяющим выявить нуклеиновые кислоты возбудителей инфекционных заболеваний, является ПЦР. Она позволяет за счет быстрого многократного увеличения количества копий тестируемых специфических последовательностей нуклеиновых кислот обнаруживать патогенные вирусы даже в тех случаях, когда другими способами их выявить невозможно (подробнее о методе ПЦР см. раздел 1.10.1). Это преимущество достигается за счет высокой чувствительности ПЦР-систем, которая составляет около 10 клеток или вирусных частиц, в то время как для других методов необходимо 10^3 – 10^6 . ПЦР-диагностикумы, в отличие от иммунологических тест-систем, позволяют избежать проблем перекрестной реактивности, обеспечивая высокую специфичность. ПЦР находит применение для контроля эффективности методов инаktivации в препаратах крови и для лабораторной апробации донорской крови, ее компонентов и препаратов в качестве метода арбитражного анализа.

Микробная контаминация продуктов крови при заготовке и хранении компонентов в банках крови является одной из наиболее серьезных задач, встречающихся в учреждениях службы крови. Вирусологическое исследование крови в практических учреждениях службы крови основывается на определении антивирусных антител или белков вируса с помощью иммуноферментного анализа, иммуноблоттинга, а их основным недостатком является сложность определения гемотрансмиссивных вирусов в начальный/серонегативный период инфекции. Известно, что длительность серонегативного периода и остаточный риск посттрансфузионных вирусных инфекций связаны между собой (табл. 2-23).

Таблица 2-23

Остаточный риск посттрансфузионных вирусных инфекций в США [Lee H. H., Allain J.-P., 1998]

Вирус	Распространенность	Продолжительность серонегативного периода, нед	Рассчитанный риск на 1000 000 донаций
ВГВ	0,18	8	6,9 (1—41)
ВГС	0,65	12	15,0 (0,6—37)
ВИЧ	0,1	3	0,6 (0—1,3)

Для создания надежной технологии ПЦР-тестирования плазмы доноров были получены данные о реальной концентрации вирусов гепатита В, С и ВИЧ в серонегативный период [Rogers P. et al., 1997].

Они составили:

- ВГВ — 10^3 геном-эквивалент / мл;
- ВИЧ — 10^7 » ;
- ВГС — 10^8 » .

Широкий спектр существующих гемотрансмиссивных агентов требует использования разнообразных молекулярных методов в различных клинических ситуациях. Так, стратегия исследования в значительной степени определяется составом вирусного генома, например ВИЧ — ретровирус с геномом, представленным двунитевой РНК, которая не может быть прямо амплифицирована с помощью ПЦР. Однако ВИЧ-инфицированные лимфоциты содержат провирусную ДНК, и определение этой ДНК как мишени позволяет определять ВИЧ-инфекцию. Совершенно другая стратегия используется для детекции вируса гепатита С (ВГС), так как для последнего определены, как минимум, двенадцать субтипов. Геном ВГС, представляющий собой линейную (молекулу) РНК, не интегрируется стабильно в геном клетки, хотя он присутствует в виде клеточноассоциированной РНК в инфицированных гепатоцитах. Этот факт определяет необходимость различной скрининговой стратегии: РНК ВГС определяется при выполнении модифицированной РТ-ПЦР (РТ — от *reverse transcription*; обратная транскрипция) путем получения промежуточной ДНК на матрице РНК ВГС, выделенной из плазмы крови. Другой тип анализа (ПДРФ) амплифицированной РНК осуществляется для определения субтипов ЦМВ. Вероятно, детекция вирусов с помощью ПЦР будет особенно перспективна в тех случаях, когда необходимо проведение множественной ПЦР для определения ДНК/кДНК различных вирусов, так как этот множественный тест может быть выполнен в одной реакции, что значительно повышает экономическую эффективность исследования.

Диагностика гепатита В

Вирус гепатита В относится к семейству гепаднавирусов. Принято считать, что «полные» частицы Дейна, с первоначальным названием — австралийский антиген, которые представлены двойной оболочкой, ядром с двунитчатой вирусспецифической циркулярной ДНК и ДНК-полимеразой, являются полноценным вирусом гепатита В (HBV). Традиционным методом обнаружения текущей инфекции является детекция поверхностного антигена вируса — HBsAg, сердцевинного антигена — HBcAg и антител класса IgM к антигену HBc иммуноферментным методом.

Применение метода ПЦР с использованием праймеров, специфичных для вирусной ДНК при скрининге донорской крови, позволяет выявить хронических носителей вируса гепатита В и лиц с первичной инфекцией до развития клинических симптомов. Выявление вирусных частиц у больных гепатитом наравне с определением спектра антител позволяет установить фазу и активность инфекционного процесса и проводить контроль эффективности лечения. Кроме того, иногда использование результатов ПЦР-анализа позволяет исключить диагноз гепатита В при клинических симптомах неясной этиологии.

Результаты исследований А. В. Сычева и соавт. (1999) убедительно свидетельствуют о том, что в службе крови метод ПЦР на ДНК ВГВ пока не может рассматриваться как альтернатива методу ИФА для обнаружения HBsAg — только у одной трети доноров с наличием HBsAg в крови выявлена ДНК ВГВ. Вместе с тем не вызывает сомнения высокая диагностическая значимость ПЦР на ДНК ВГВ для

расшифровки этиологии, верификации диагноза и диагностического мониторинга лечения.

Диагностика гепатита С

Вирус гепатита С относится к семейству флавивирусов и представлен одной цепочкой РНК в липидорастворимой оболочке. Гепатит С является самым распространенным видом посттрансфузионного гепатита. Так как при циклическом течении гепатита С антитела выявляются редко, а обнаруживаются более стабильно при переходе болезни в хроническую стадию, диагностика гепатита С методом ПЦР приобретает особую актуальность. Более того, большинство современных диагностикумов рассчитаны в лучшем случае на выявление антител к смеси антигенных детерминант белков вируса, что не позволяет установить время и форму развития инфекционного процесса, а также провести адекватное лечение при его необходимости. И если в случае гепатита В ПЦР хорошо проводить в качестве референс-метода при установлении диагноза и для оценки антивирусной терапии, то выявление вируса гепатита С методом ПЦР является ключевым доказательством активного течения вирусного процесса или его хронизации.

Проблемы контроля качества ПЦР

Недостатки метода ПЦР, мешающие его широкому внедрению в практику обследования доноров, являются продолжением его достоинств. Чрезвычайно серьезна проблема контаминации. Любое нарушение прецизионности лабораторной технологии может с легкостью привести к попаданию микрочастиц материала, содержащего нуклеиновые кислоты возбудителей, в интактные образцы с последующим ложноположительным результатом исследования. Также не исключено и резкое снижение чувствительности определения, связанное с неправильным отбором, хранением и подготовкой биологического материала, погрешностями проведения реакции и принципиальным несоответствием праймера молекулярной структуре генома возбудителя, что в конечном итоге обуславливает ложноотрицательный результат исследования.

Аналогично программам контроля качества для иммуноферментного анализа (см. раздел 2.2.2) для оценки чувствительности и специфичности ПЦР-диагностикумов созданы специальные панели контроля качества применяемых наборов.

На сегодняшний день наиболее презентабельной, с точки зрения разнообразия и качества предлагаемых панелей, является международная программа по контролю качества вирусных инфекций VQC. В частности, в программе контроля исследования ДНК ВГВ в 1997 г. участвовали 60 лабораторий, в том числе ПЦР-лаборатория Медицинского Центра «Авиценна» (Москва), использующая в работе отечественный набор («Авиценна-HBV скрин™ ПЦР-тест» ТУ 9398-407-00899696-96). Обобщенные результаты, по данным 47 лабораторий, выглядят следующим образом:

- правильно определены положительные образцы — 100 %;
- » отрицательные образцы — 88 %;
- » VQC разведения — 100 %;
- » EUROHER разведения — 76 %;
- » все образцы — 63 %.

Такие результаты позволяют констатировать лишь возможную перспективу внедрения ПЦР в рутинную практику обследования доноров гемокомпонентов. Тем не менее, приятно отметить, что результаты ПЦР-лаборатории МЦ «Авиценна» с использованием отечественных наборов были выше среднестатистических [Беглова С. М. и др., 1999]. Обращают на себя внимание 100 % совпадение результатов при идентификации отрицательных образцов и значительное повышение информативности наборов при идентификации положительных разведений: минимальное идентифицируемое разведение составило 437 геном-эквивалент в 1 мл, что вдвое меньше реальной концентрации вирусов гепатита В в серонегативный период [Rogers P. et al., 1997].

2.4. Распространенность маркеров гемотрансмиссивных инфекций у доноров

Обязательное обследование доноров гемокомпонентов включает исследование в донорской крови четырех специфических маркеров гемотрансмиссивных инфекций (анти-ВИЧ-1, 2, HBsAg, анти-ВГС, анти-БТ) и одного суррогатного — активности сывороточной АЛТ. С 1993 г. обследовали 80 030 потенциальных доноров гемокомпонентов, более 80 % из которых составили мужчины в возрасте 18—23 лет. Для исследований в основном использовали наиболее чувствительные диагностические тест-системы для иммуноферментного анализа, упомянутые в настоящей главе.

Распространенность маркеров гемотрансмиссивных инфекций у обследованных доноров представлена в табл. 2-24 и 2-25 и в целом несколько ниже данных популяционных исследований в северо-западных и центральных районах России. Подобная закономерность характерна для донорского контингента, проходящего предварительный врачебный отбор. Распространенность маркеров гемотрансмиссивных инфекций среди лиц с противопоказаниями к донорству существенно ниже, поэтому пользоваться донорским контингентом в качестве контрольного следует с известными оговорками. В течение указанного периода в Военно-медицинской академии не выявлено случаев посттрансфузионных инфекционных осложнений, что также свидетельствует об адекватности и эффективности проведенного обследования доноров крови и ее компонентов. На фоне стабильности и тенденции к сокращению инфицированности ВГВ обращает на себя внимание увеличение доли анти-ВГС-позитивных лиц — признак роста распространенности скрытых форм этой инфекции.

Увеличение контингента иммунокомпрометированных реципиентов гемокомпонентов требует обратить особое внимание на профилактику более широкого спектра инфекций, в первую очередь — цитомегаловирусной. Поскольку в широкой практике отечественной трансфузиологии не применяются лейкоцитарные фильтры, актуальной становится задача профилактики гемотрансмиссивного токсоплазмоза (токсоплазма — облигатный внутрилейкоцитарный паразит). С использованием иммуноферментной тест-системы «ImmunoComb» (Франция) оценили распространенность антител класса IgG к цитомегаловирусу и токсоплазме у доноров различных групп крови (рис. 2-3 и 2-4). Впервые выявлены различия инфицированности в зависимости от групповой принадлежности донора. Антитела к цитомегаловирусу у доноров гемокомпонентов встречаются (80,2 %) в два раза чаще, чем антитела к токсоплазме (37,2 %). Установлены существенные

различия доли серопозитивных доноров в зависимости от фенотипа АВ0. Среди доноров групп крови А(II) и В(III) число лиц с антителами к обоим исследуемым патогенам практически соответствуют популяционному распределению. Иная ситуация среди доноров 0(I) и АВ(IV) групп крови. Доля серопозитивных к цитомегаловирусу доноров группы крови 0(I) двукратно превышает этот показатель среди лиц с фенотипом АВ(IV). Обратная закономерность характерна для распространенности антител к токсоплазме: доля серопозитивных лиц АВ(IV) группы крови вдвое выше, чем в группе с фенотипом 0(I). Различия в распределении серопозитивных лиц в зависимости от наличия или отсутствия антигена D эритроцитов (резус-фактор) не выявлено [Жибурт Е. Б. и др., 1997].

Таблица 2-24

Распространенность маркеров гемотрансмиссивных инфекций у доноров

Маркер	Встречаемость у доноров, n = 80 030	
	m	%
HBsAg	885	1,10
Анти-ВГС	893	1,15
Повышение АЛТ	2152	2,68
Анти-БТ при скрининге	109	0,13
Анти-БТ, подтвержденные	89	0,11
Анти-ВИЧ	96	0,12
Анти-ВИЧ, подтвержденные	0	0

Достоверность связи особенностей распределения доли лиц, серопозитивных к цитомегаловирусу и токсоплазме, среди доноров различных групп крови (табл. 2-26) сомнений не вызывает, однако клиническая трактовка полученных результатов достаточно затруднена. Напряженность гуморального иммунитета наиболее вероятно свидетельствует о персистирующей инфекции, соответственно, кровь серопозитивных доноров нельзя использовать при лечении серонегативных иммунокомпрометированных пациентов [Mollison P. et al., 1987].

Известно, что у лиц группы 0(I) снижена противовирусная резистентность, в частности, к вирусам гриппа А₁ и А₂, полиомислита, кори, паротита, Коксаки А₂₁, а также представителям семейства Herpesviridae — вирусам варицелла-зостер и Эпштейна—Барр [Mourant A. et al., 1978]. Полученные результаты позволяют добавить к вышеперечисленным вирусам и цитомегаловирус (вирус герпеса человека V типа). Подтверждением полученных нами данных является зарегистрированный [Mourant A. et al., 1978] феномен связи группы крови 0(I) с повышенной частотой спонтанных аборт, внутриутробной гибели плода и новорожденного, что вписывается в клиническую картину цитомегаловирусной болезни.

Одним из возможных механизмов преимущественной чувствительности лиц группы крови 0(I) к некоторым инфекционным агентам является отсутствие групповых эритроцитарных антигенов А и В, входящих в состав секрета экзо-

кринных желез. Отсутствие на мембране клеток альвеолярного эпителия других типов клеточных рецепторов, например, HLA-антигенов II класса ассоциируют с развитием цитомегаловирусной инфекции (пневмонии) [Ng-Bautista C., Sedmak D., 1995].

Таблица 2-25

Распространенность маркеров гемотрансмиссивных инфекций у доноров (1993—1999 гг.)

Маркер	1993 n = 12 573		1994 n = 12 029		1995 n = 12 332		1996 n = 13 236		1997 n = 12 437		1998 n = 11 472		1999* n = 5951	
HBsAg	228	1,81	108	0,9	157	1,27	251	1,19	98	1,09	98	0,85	50	0,84
Анти-ВГС	101	0,80	160	1,33	150	1,22	191	1,45	206	1,66	216	1,88	129	2,8
Повышение АЛТ	207	1,65	253	2,12	319	2,59	443	3,35	474	3,81	279	2,43	180	3,02
Анти-БТ	3	0,02	11	0,09	20	0,16	19	0,14	30	0,24	23	0,20	9	0,15
Анти-БТ, подтвержденные	1	0,01	6	0,05	18	0,15	16	0,12	22	0,18	19	0,16	8	0,13
Анти-ВИЧ	26	0,21	8	0,07	7	0,06	12	0,09	25	0,20	12	0,17	6	0,10
Анти-ВИЧ, подтвержденные	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Примечание:

* Данные за 6 мес 1999 г.

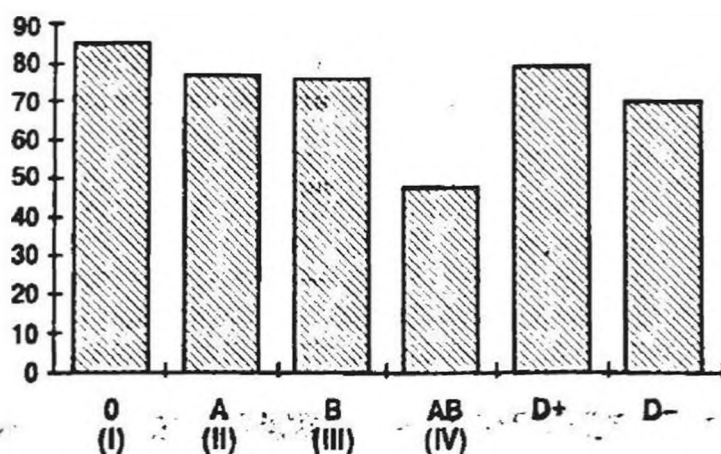


Рис. 2-3. Распространенность антител к цитомегаловирусу у доноров различных групп крови.

Доля серопозитивных к токсоплазме лиц с группой крови АВ(IV) двукратно превышает таковую среди доноров группы крови 0(I). Литературные данные по

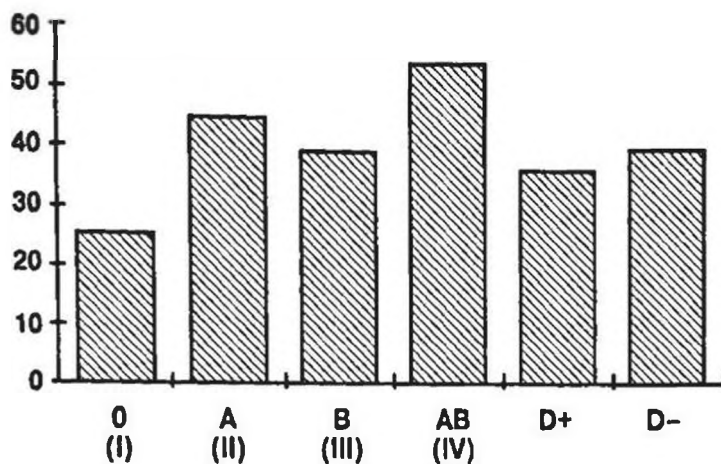


Рис. 2-4. Распространенность антител к токсоплазме у доноров различных групп крови.

этому поводу противоречивы. Наряду с указаниями о связи группового антигена А со снижением антипротозойной резистентности [Шкарин В. В., 1973; Mourant A. E. et al., 1978], у лиц с группой крови АВ(IV) зафиксирована наименьшая частота положительных результатов внутрикожной пробы [Шкарин В. В., 1973]. По-видимому, значительное (в несколько раз) расхождение частоты положительных результатов внутрикожной пробы и реакции связывания компонента [Шкарин В. В., 1973] является признаком различия механизмов иммунного ответа к токсоплазме с преимущественным напряжением гуморального иммунитета (циркулирующие антитела) у лиц АВ(IV) группы крови. Интактность иммунокомпетентных клеток — эффекторов гиперчувствительности замедленного типа — ведет к отрицательному результату внутрикожной пробы.

Таблица 2-26

Коэффициенты ассоциации эритроцитарных антигенов (ABO) с носительством антител

Патоген	Цитомегаловирус	Токсоплазма
О/А	1,78	0,41
О/В	1,83	0,51
О/АВ	6,44	0,27

Примечание:

$p < 0,05$ во всех случаях.

Установленную связь антивирусной и антипротозойной резистентности с групповыми антигенами эритроцитов следует учитывать в клинической и профилактической медицине [Жибурт Е. Б. и др., 1997]. Распространенность серологических маркеров ВЭБ-инфекции среди кадровых доноров Санкт-Петербурга приведена в разделе 2.2.4.

Поскольку в случае серонегативности иммунокомпрометированного реципиента необходим обязательный подбор серонегативного донора, то целесообразно внедрить в практику обязательное исследование антител класса IgG к цитомегаловирусу и токсоплазме у кадровых доноров с занесением полученных результатов в донорскую карту. Кроме того, перед заготовкой концентратов лейкоцитов и тромбоцитов следует предусмотреть возможность исследования специфических антител класса IgM (маркер острой инфекции).

У серопозитивных реципиентов и/или реципиентов гемокомпонентов от серопозитивных доноров необходимо проводить мониторинг инфекционных маркеров для своевременного начала адекватной терапии.

Совершенствование системы организации донорства и лабораторных технологий в трансфузионной медицине позволяет минимизировать риск передачи вирусов с кровью. Например, в настоящее время в США при переливании крови добровольных доноров, неоднократно безвозмездно сдающих кровь, риск инфицирования составляет: ВИЧ-1, 2 — 1 на 676 000; ВГВ — 1 на 66 000; ВГС — 1 на 125 000; HTLV-I, II — 1 на 641 000 гемотрансфузий. Таким образом, кумулятивный риск составляет 1 на 38 500 гемотрансфузий, а фактор безопасности — 99,997 % [Holland P. V., 1999].

2.5. Заключение к главе 2

Следует иметь в виду, что, несмотря на совершенствование инфекционной безопасности гемокомпонентной терапии, невозможно полностью исключить риск передачи инфекционных агентов с компонентами и препаратами крови [Morgenthaler J. J., 1999].

Причины риска инфекционной контаминации реципиентов крови указаны в табл. 2-27. В отношении каждого вновь открываемого инфекционного агента необходимо как можно быстрее выяснить:

- возможность передачи при гемотрансфузии;
- степень патогенности;
- возможность персистенции;
- распространенность;
- диагностические исследования, пригодные для скрининга [Allain J.-P., 1999].

Улучшение экономической ситуации и оздоровление нравственного климата в обществе сопряжено с ростом контингента безвозмездных доноров, а следовательно, с уменьшением риска участия в донорстве больных инфекционными болезнями [Huestis D., Taswell H., 1994].

В то же время развитие методов молекулярной биологии, таких как иммуноскрининг библиотек нуклеиновых кислот, репрезентативная дифференциальная амплификация и др., привели в упрощению идентификации новых (emerging) вирусов. На смену культивированию вирусов в чувствительных клетках пришла расшифровка генетической последовательности и получение *in vitro* соответствующих рекомбинантных белков. Новый методический подход образно назван Н. J. Alter — «телега впереди лошади». Первый представитель этого своеобразного «нового поколения» вирусов — ВГС, не культивирован до сих пор. За последние несколько лет перечень вирусов, которые находятся в крови, и, возможно, значи-

мы для трансфузионной медицины, пополнился вирусом герпеса человека VIII типа, ВГГ, ВТТ и РАРС. И точка, по-видимому, не поставлена.

Таблица 2-27

Причины риска инфекционной контаминации реципиентов крови

1. Социально-демографические

- 1.1. Тождественность гемотрансмиссивных инфекций и болезней, передающихся половым путем
- 1.2. Пандемия ретровирусных инфекций, рост заболеваемости вирусными гепатитами
- 1.3. Участие в платном донорстве лиц девиантных групп
- 1.4. «Экологический» иммунодефицит

2. Медико-технологические

- 2.1. Ограниченность системы обязательного обследования доноров
- 2.2. Ограниченность чувствительности и специфичности диагностических методов обследования доноров
- 2.3. Ограниченность знаний о гемотрансмиссивных инфекциях
- 2.4. Ограниченность методов элиминации и инактивации инфекционных агентов
- 2.5. Использование «открытых» и «полузакрытых» методов приготовления гемокомпонентов
- 2.6. Отсутствие декретированной системы углубленного обследования и лечения лиц, у которых при скрининге выявлены маркеры гемотрансмиссивных инфекций
- 2.7. Отсутствие критериев возврата в донорский контингент
- 2.8. Эволюция микроорганизмов

Трансформация окружающей среды под влиянием техногенного вмешательства человека, изменение экологической ситуации приводят к развитию состояний, связанных с нарушением иммунитета и неспецифической, в том числе противовирусной, резистентности («экологический» иммунодефицит, болезни нарушенной адаптации, синдром эколого-профессионального напряжения и т. д.) [Казначев В. П., 1980; Медведев В. И., 1983; Яковлев Г. М. и др., 1990].

Перспективным представляется изменение принципов взаимодействия службы крови и системы здравоохранения в условиях страховой медицины. Центры крови имеют возможность врачебной консультации и лабораторного обследования крови донора во время каждого посещения. Выявление многих бессимптомных инфекционных и других заболеваний позволяет своевременно провести адекватные лечебно-профилактические мероприятия и минимизировать социальные и экономические последствия болезней. При этом возрастает вклад донорской популяции в улучшение здоровья населения и увеличиваются возможности оптимального использования здоровых человеческих ресурсов [Аграненко В. А., Кавешникова Б. Ф., 1994].

Система скрининга маркеров гемотрансмиссивных инфекций у доноров нуждается в качественном и количественном совершенствовании. HBs-антиген явля-

ется наиболее информативным показателем вирусемии из специфических маркеров гепатита В [Mosley J. et al., 1993], необходимо обеспечить практическое использование высокочувствительных тест-систем и контроль качества исследований. Например, в Великобритании существует национальная система контроля качества тестирования HBs-антигена в банках крови [Barbara J., 1993]. Референс-панель сывороток крови человека с концентрацией HBs-антигена от 8 нг/мл до 0,3 нг/мл представлена для утверждения в Государственный НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича [Канев А. Н. и др., 1999].

Практика использования для скрининга анти-ВГС-антител тест-систем второго и третьего поколения показала их достаточно высокую эффективность, тем не менее при сравнительных исследованиях выявляются существенные расхождения показателей чувствительности и специфичности современных тест-систем [Kolho E. et al., 1994]. Целесообразно создание региональных центров крови, располагающих диагностическими методами молекулярной гибридизации для подтверждения результатов скрининга [Watanabe J. et al., 1993].

Ограниченные возможности скрининга специфических маркеров вирусных гепатитов у доноров обуславливают необходимость исследования суррогатного маркера — АЛТ. Считают, что повышение активности АЛТ может быть маркером потенциально существующего гепатита «ни А, ни В, ни С, ни D, ни Е» и в ряде случаев свидетельствует о вирусном поражении печени до сероконверсии инфицированного донора [Prowse C. et al., 1993]. АЛТ остается маркером виремии ВГА и ВГЕ в инкубационный период и при безжелтушной форме этих заболеваний [Shapiro C., 1994].

Особое значение приобретают вопросы инфекционной безопасности гемотрансфузий в условиях экстремальной медицины. Необходимость тщательного обследования донорской крови является одним из стимулов разработки и совершенствования методов длительного хранения гемокомпонентов, их доставки и применения в полевых условиях [Webster N., Ward M., 1994].

Положительный результат скрининга маркеров гемотрансмиссивных инфекций следует рассматривать не как диагноз, а как показание к углубленному клинико-лабораторному обследованию с установлением окончательного диагноза и реализацией соответствующих лечебно-профилактических мероприятий. Необходимо разработать критерии возврата в донорский контингент лиц с ложноположительными результатами скрининга [Sayers M., Gretch D., 1993; Busch M. et al., 1994]. В ряде случаев позитивный результат скрининга является признаком неинфекционных заболеваний. Таким примером может служить диагностика первичного (или вторичного) антифосфолипидного синдрома при углубленном обследовании лиц с ложноположительными реакциями на сифилис, обусловленными аутоантителами к фосфолипидам [Насонова В. А. и др., 1994].

При подборе доноров гемокомпонентов для иммунокомпрометированных пациентов необходимы особые меры инфекционной безопасности с дополнительным включением в спектр тестируемых инфекционных маркеров патогенов, упомянутых в табл. 2-1.

Коррекция нарушений иммунитета и противовирусной резистентности, обусловленных основным заболеванием у реципиентов гемокомпонентов, ингибирует возможность проявлений вирусной инфекции. При лечении иммунокомпрометированных пациентов вопросы инфекционной и иммунологической безопасности гемокомпонентной терапии весьма сопряжены. Дополнительная антигенная

нагрузка при трансфузии аллогенной ткани может привести к углублению иммунодефицита и активации вялотекущей или персистирующей инфекции. Тщательный подбор гистосовместимых доноров, близкородственное донорство или использование аутологичных гемокомпонентов являются мерами профилактики нарушений иммунного статуса и инфекционных осложнений.

Увеличивают безопасность гемокомпонентной терапии такие манипуляции, как заготовка тромбоцитов и лейкоцитов методом цитафереза, отмывание эритроцитов, использование лейкоцитарных фильтров, замораживание плазмы, криоконсервирование клеток крови, пастеризация препаратов крови. Очевидны преимущества аутодонорства и направленного донорства (один донор — один реципиент) [Жибурт Е. Б. и др., 1997].

Для профилактики гемотрансмиссивных инфекций у реципиентов необходимо:

- переливание крови и компонентов применять по строжайшим показаниям, обоснованным в истории болезни;
- гемотрансфузии проводить с использованием одноразовых устройств;
- соблюдать требования асептики при подготовке и проведении гемотрансфузий, исключая возможность заражения реципиента через инструменты или руки персонала;
- по жизненным показаниям осуществлять трансфузии крови, взятой от заблаговременно обследованных (до 7 сут) доноров; в крайних случаях по решению консилиума допускается переливание крови от доноров экстренного резерва — лиц, обследованных и допускаявшихся к донорству в течение 1 года, без противопоказаний к донации;
- кровь и гемокомпоненты, заготовленные от одного донора, направлять только в одно лечебное учреждение;
- кровь (компоненты) из одного гемоконтейнера переливать только одному больному;
- четко документировать результаты обследования доноров, распределение заготовленной крови (компонентов) по заявкам лечебных учреждений с учетом паспортных данных на этикетке;
- активно использовать технологии, альтернативные переливанию гемокомпонентов: аутодонорство, интраоперационная гемодилюция, реинфузии, стимуляторы гемопоэза, кровезаменители с газотранспортной функцией;
- использовать препараты, полученные из плазмы одного донора или малых пулов плазмы;
- использованные трансфузиологические устройства однократного применения перед уничтожением автоклавировать под давлением 2 атм при температуре 132 °С в течение 60 мин.

Таким образом, переливание крови, ее компонентов и препаратов несет в себе потенциальный риск инфекционной контаминации реципиента. Своевременно проведенные врачом адекватные профилактические мероприятия повышают инфекционную безопасность гемотрансфузионной терапии. В целом проблема инфекционной безопасности является одной из важнейших проблем современной трансфузиологии и требует комплексной научно-практической разработки.

**Основные руководящие документы для работы по профилактике
гемотрансмиссивных инфекций**

1. Закон РФ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения», 1991 г.
2. Закон РФ «О донорстве крови и ее компонентов», 1993 г.
3. Приказ МЗ СССР № 408 от 12.07.89 «О мерах по снижению заболеваемости вирусными гепатитами в стране».
4. Приказ МЗ и МП РФ и ГКСЭН № 226/79 от 03.06.96 «О введении профилактических прививок против гепатита В».
5. ОСТ 42-21-2-85 «Стерилизация и дезинфекция изделий медицинского назначения. Методы, средства и режимы».

Глава 3. ОПТИМИЗАЦИЯ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ГЕМОКОМПОНЕНТОВ

3.1. Гемокомпонентная терапия в профилактике и коррекции вторичного иммунодефицита

3.1.1. Афферентная гемокомпонентная терапия в профилактике и коррекции иммунодефицитного синдрома

Назначение иммунокорригирующих лечебных мероприятий необходимо проводить по иммунологическим показаниям и при проведении иммунодиагностического мониторинга. Вряд ли можно согласиться с точкой зрения, что требованиям «неспецифической стимуляции организма» при лечении тяжелых (септических) хирургических инфекций отвечают переливания свежей донорской крови (до 3 сут хранения) в объеме 250–500 мл с интервалом в 1–2 дня [Рожков А. С., 1994] или 3–5 сут (4–5 гемотрансфузий на курс). Наряду с неадекватностью собственно задачи «стимуляции» (при наличии активного инфекционного процесса), многократные трансфузии цельной крови приведут у пациентов с гнойно-септическими заболеваниями к аллосенсибилизации и дальнейшему угнетению противоинфекционного иммунитета.

Эритроцитная масса с гематокритом 75–80 % содержит вдвое большее количество эритроцитов, чем цельная кровь такого же объема. Это позволяет применять эритроцитную массу пациентам, у которых имеется опасность циркуляторных перегрузок малого круга кровообращения. В эритроцитной массе в 4–6 раз меньше, чем в цельной крови, цитрата натрия, калия, аммония, серотонина, гистамина и других вазоактивных веществ, меньше иммунологически активных субстанций плазмы, а также иммунокомпетентных клеток — все это снижает опасность развития синдрома массивных трансфузий, синдрома аллогенной крови.

Большое значение в хирургическом лечении ИЭ придается saniрующему эффекту искусственного кровообращения. Оно не только позволяет выполнить основной этап этой операции, но и обладает лечебным воздействием.

Основы этой концепции были изложены Ю. Л. Шевченко (1986) и нашли дальнейшее развитие в работе А. Д. Кучеренко (1987). В основе концепции лежит мысль о том, что воздействуя только на местный очаг инфекции в сердце, нельзя рассчитывать на полную санацию организма от инфекции, так как без воздействия остаются септические очаги во внутренних органах. Такими очагами являются регионы микроциркуляторного русла, выключенные из активного кровообращения в результате блокады капилляров агрегатами эритроцитов и тромбоцитов, мик-

робными агрегатами, детритом тканей на фоне инфекционно-токсического спазма периферических сосудов. Воспалительный отек и инфильтрация тканей мешают проникновению сюда антибиотиков, миграции фагоцитов. Поэтому эти очаги являются источником тяжелой интоксикации.

Гемодинамически эффективная искусственная перфузия, проводимая в условиях медикаментозного ганглионарного блока и оптимизации реологических свойств в условиях гепаринизации и гемодилюции, способствует восстановлению микроциркуляции и вымыванию бактерий, токсинов, микроагрегатов, которые отфильтровываются системой фильтров АИК. Н. Н. Самсонова (1998) показала, что даже длительное искусственное кровообращение при соблюдении принципов рациональной трансфузионной терапии не вызывает у кардиохирургических больных значимых гематологических изменений.

Методом выбора трансфузиологического обеспечения оперативных вмешательств является использование собственных компонентов крови пациентов [Организация аутодонорства..., 1992; Von Bormann B., Aulich S., 1993; Malfitano G. et al., 1992; Городецкий В. М., 1993; Schleinzner W. et al., 1994].

Благодаря аутодонорству, к 1987 г. в США потребность в аллогенных гемотрансфузиях была снижена на 50–67,5 %. По причинам, в первую очередь, технологического характера в России аутодонорство до сих пор не получило должного распространения [Городецкий В. М., 1993; Онуфриевич А. Д. и др., 1994].

При возмещении интраоперационной кровопотери у больных раком легкого аутокровью послеоперационные осложнения встречаются в 1,7 раза реже, чем у получавших трансфузию аллогенной крови (соответственно 23,3 и 40 %), а послеоперационная пневмония развивается в 3 раза реже (соответственно 6,6 и 19,6 %) [Бирюков Ю. В. и др., 1994].

Предоперационная заготовка 400–1600 мл аутокрови у кардиохирургических пациентов позволяет избежать интраоперационных трансфузий аллогенной крови в 80 % случаев операций на сердце [Tanemoto K. et al., 1994].

На большом количестве примеров показана эффективность применения аутологичной свежемороженой плазмы (СЗП) и криоконсервированных эритроцитов [Данильченко В. В. и др., 1994; Онуфриевич А. Д. и др., 1994].

Важной тенденцией последних лет является сокращение показаний к гемотрансфузиям. Например, G. Gozetti и соавт. (1995) при операциях на печени не рекомендуют выполнять гемотрансфузии у пациентов с гематокритом более 25 %. Исход лечения у пациентов (особенно с циррозом печени), не получавших гемотрансфузий, значительно лучше: отмечается меньшая частота послеоперационных осложнений, летальность, рецидивирование рака печени, повышается долговременная выживаемость.

Проанализировав результаты лечения 277 пострадавших с тяжелой травмой, С. В. Гаврилин и соавт. (1999) основным направлением уменьшения полипрагматии считают отказ от гемотрансфузий при содержании эритроцитов более $3,0 \times 10^{12}/л$ и гемоглобина более 100 г/л, а при отсутствии крайней тяжести состояния – при содержании эритроцитов более $2,6 \times 10^{12}/л$ и гемоглобина более 79 г/л. При благоприятном течении травматической болезни к 5–6-м суткам обычно происходит улучшение показателей красной крови без дополнительных гемотрансфузий. Убедительно показано, что именно необоснованные, так называемые «опережающие» гемотрансфузии существенно ухудшали микроциркуляцию в легких, увеличивали риск развития их острого повреждения.

J. R. Hess (1999) отмечает, что среди раненых — реципиентов 10 доз и более эритроцитов, проживших 24 ч, у 85 % развивалась тромбоцитопения, у 85 % протромбиновое время было увеличено в 1,5 раза и более, а у 50 % было увеличено активированное частичное тромбопластиновое время.

При сравнении 3 вариантов трансфузионного обеспечения операций АКШ: с использованием донорской крови, с применением интраоперационной аутогемотрансфузии, без использования гемотрансфузий — показана возможность и целесообразность применения метода интраоперационной аутогемотрансфузии [Шаноян С. А. и др., 1994].

С целью иммунопрофилактики инфекционных осложнений каждому нейрохирургическому больному рекомендуют создание в организме пула защитных факторов путем переливания одогруппной свежезамороженной плазмы (СЗП) в дозе 250 мл за 3 дня до операции, во время оперативного вмешательства и введение не менее 800 мл СЗП в первые трое суток послеоперационного периода, с предварительным введением 10 000 ЕД гепарина внутривенно [Старченко А. А., 1994].

Применение аутоплазмы в качестве основы перфузата при искусственном кровообращении и с целью восполнения операционной кровопотери в сочетании с трансфузией аутотромбоцитов по завершении экстракорпорального кровообращения (ЭКК) снижает опасность послеоперационных кровотечений и значительно сокращает расход донорских трансфузионных сред [Матвеев С. А., 1988].

Практика показывает эффективность применения лейкоцитарной массы не только у пациентов с лейкопенией, но и при малоэффективном лечении тяжелого инфекционно-септического процесса [Жогов В. А., 1994].

Антиоксидантная активность альбумина обнаружена в эксперименте и клинически подтверждена при лечении больных сепсисом [Синичкин А. А. и др., 1993].

Удаление лейкоцитов из гемокомпонента обеспечивает профилактику при остаточном содержании клеток: менее 5×10^6 лейкоцитов — профилактика первичной HLA иммунизации; менее 1×10^7 лейкоцитов — профилактика передачи цитомегаловируса; менее 2×10^8 лейкоцитов — профилактика формирования макроагрегатов эритроцитов, которые могут вызвать острый респираторный дистресс-синдром [Brand A., 1994].

Доказательством роли цитокинов в посттрансфузионных фебрильных реакциях служат данные W. Irving и соавт. (1993), показавших, что супернатант концентрата тромбоцитов вызывает пирогенные реакции в 31 % случаев, тогда как собственно клетки — лишь в 9 %. Авторы рекомендуют перед переливанием удалять плазму из тромбоцитоконцентрата.

Удаление лейкоцитов из тромбоцитоконцентрата сразу после приготовления последнего позволяет избежать повышения концентрации цитокинов (ФНО, интерлейкина-6) в гемоконтейнере [Muylle L., Peetermans M., 1994].

3.1.2. Оценка эффективности трансфузий цельной крови у кардиохирургических пациентов

При проведении операций с использованием аппарата искусственного кровообращения (АИК) гемотрансфузионная терапия направлена на профилактику и коррекцию анемического, иммунодефицитного и тромбогеморрагического синд-

ромов. Представляет интерес анализ эффективности различных режимов гемотрансфузионной терапии у кардиохирургических пациентов.

Первой из известных гемотрансфузионных сред в клинической практике была использована цельная кровь (консервированная или стабилизированная). Задачей настоящего исследования является изучение клинической эффективности и влияния на организм реципиентов трансфузионных программ, предусматривающих использование исключительно цельной донорской крови.

С этой целью было обследовано 32 кардиохирургических пациента с пороками сердца, которым выполнялись операции с использованием АИК. Группу составили 24 мужчины и 8 женщин в возрасте от 16 до 52 лет.

Шести пациентам в разные сроки до поступления были выполнены закрытые операции на митральном клапане.

Для заполнения аппарата искусственного кровообращения использовали цельную донорскую кровь 1–2-дневного срока хранения, консервированную на растворе ЦО.ПНПК 76.

Все перфузии проводились на АИК (Американская оптическая компания, США) с первичным объемом заполнения 5500 мл в условиях управляемой гемодилюции и гипотермии 26–24,7 °С.

Средняя длительность искусственного кровообращения была $115 \pm 5,5$ мин. Гемодилюция составила в среднем $28 \pm 0,75$ %. Объемные скорости перфузии колебались от 2 до 2,6 л/(м²•мин).

Кровопотерю во время операции и в послеоперационном периоде у 11 пациентов восполняли только консервированной кровью. У 21 больного гемотрансфузионная терапия включала также переливания стабилизированной крови. Общий объем использованной донорской крови колебался от 2900 мл до 11 350 мл (в среднем 7145 ± 2150 мл).

После окончания перфузии под контролем центрального венозного давления и выделительной функции почек перфузат постепенно вводили больному.

Послеоперационные осложнения развились у 27 человек, в том числе:

1. Инфекционные осложнения — у 23 пациентов (нагноение раны — 6; сепсис — 9; пневмония — 5; тромбофлебит — 2; медиастинит — 1).
2. Психоневрологические расстройства — у 16 пациентов (судорожный синдром — 7; психоз, психомоторное возбуждение — 5; нарушения мозгового кровообращения — 3; астенический синдром — 1).
3. Кровотечения — у 10 пациентов (в плевральную полость в послеоперационном периоде — 4; массивная кровопотеря на столе — 2; кишечное кровотечение — 2; эрозивное кровотечение — 1; ДВС — 1).
4. Печеночно-почечная недостаточность — у 8 пациентов.
5. Пульмонологические осложнения — у 9 пациентов (дисковидные ателектазы — 1; гиповентиляция/постперфузионный легочный синдром — 3; пневмония — 5).
6. Острая сердечная недостаточность — у 9 пациентов.
7. Реторакотомия — 3 (у одного больного дважды).

Как правило, осложнения имели сочетанный характер (2–4 и более).

В раннем послеоперационном периоде погибло 9 пациентов, в том числе основной причиной смерти явились: кровотечение, пневмония — по 2; эрозивное кровотечение, параклапанная недостаточность, ОПН, отек мозга, сепсис — по 1.

Проводили диагностический мониторинг показателей общеклинического исследования крови и некоторых показателей функционального состояния печени. Результаты исследования представлены в табл. 3-1 и 3-2. Кардиохирургическая операция сочетает в себе комплекс мощных факторов (хирургическая травма, кровопотеря, действие анестетиков и АИК и т. д.), приводящих к развитию (или усугублению) глубокого послеоперационного стресса у пациентов. Обращают на себя внимание различие величин и динамики изменений клинико-лабораторных показателей в группах пациентов с благоприятным и летальным исходом (рис. 3-1—3-4).

Значительная кровопотеря, следствием которой является необходимость массивной гемотрансфузионной терапии, ухудшает клинический прогноз. Благоприятное течение послеоперационного периода характеризуется восстановлением показателей красной крови и количества тромбоцитов. В группе лиц с летальным исходом отмечается сохранение лейкоцитоза со сдвигом влево, относительное снижение содержания эозинофилов, базофилов, моноцитов и лимфоцитов, что квалифицируют как признаки неполноценности адаптационных реакций организма [Гаркави Л. Х. и др., 1990] (рис. 3-1 и 3-2).

Для неблагоприятного течения послеоперационного периода характерно нарушение функции печени, о чем свидетельствует повышение активности в сыворотке крови индикаторов цитолиза гепатоцитов — АЛТ и аспартатаминотрансферазы (АСТ) (рис. 3-3 и 3-4).

Для более подробного выяснения взаимосвязи клинического течения заболевания и показателей функционального состояния организма был применен метод корреляционного анализа.

Негативное влияние на течение заболевания оказывают увеличение возраста пациентов и продолжительность искусственного кровообращения. Стрессорное значение кровопотери проявляется не только в развитии анемии, но и в угнетении грануломоноцитопоеза, нарушении синтеза белка и функции гепатоцитов.

Обнаружена тесная связь показателей системы крови и функционального состояния печени (табл. 3-1). Повышение уровня АЛТ и АСТ (в меньшей степени — ЛДГ) сочетается с лейкоцитозом, увеличением количества метамиелоцитов и палочкоядерных нейтрофилов. Особое внимание обращает на себя обратная корреляция уровня ферментов — индикаторов нарушения функции печени и содержания в крови моноцитов и лимфоцитов — двух ключевых популяций иммунокомпетентных клеток.

Напротив, содержание билирубина положительно коррелирует с количеством мононуклеаров периферической крови. Следует отметить, что, в отличие от АЛТ и АСТ, концентрация билирубина, несмотря на значительные изменения, сохраняется в пределах значений общепринятой нормы (1,7—20,5 мкмоль/л). В первый день после операции повышение активности АСТ (цитоллиз) сочетается со снижением уровня билирубина ($r = -0,50$; $p < 0,05$). В другие дни отмечается взаимосвязь уровня индикаторных ферментов.

Интересно выявление слабой корреляционной связи между продолжительностью стационарного лечения и видом трансфузионной среды, применяемой во время операции: использование стабилизированной крови ведет к сокращению срока лечения, а использование консервированной крови, напротив, — к увеличению.

Эффективность коррекции анемии при использовании стабилизированной крови подтверждается наличием прямой корреляции между показателями крас-

ной крови на 7—10-й день после операции, тогда как для консервированной крови такая связь отсутствует.

Снижение количества тромбоцитов (очевидно, за счет развития ДВС-синдрома) при неблагоприятном течении заболевания не корректируется, а, возможно, потенцируется увеличением объема перелитой консервированной крови.

Таблица 3-1

Корреляционная связь некоторых лабораторных показателей системы крови и функционального состояния печени у кардиохирургических пациентов — реципиентов цельной крови

Пара показателей		r
Лейкоциты в 1-й день п/о	АСТ в 1-й день п/о	0,43
Лейкоциты на 3-й день п/о	АЛТ при поступлении	0,83
Лейкоциты на 3-й день п/о	АЛТ на 3-й день п/о	0,81
Метамиелоциты на 3-й день п/о	АЛТ в 1-й день п/о	0,63
Метамиелоциты на 3-й день п/о	АСТ при поступлении	0,83
Нейтрофилы п/я в 1-й день п/о	АЛТ при поступлении	0,82
Нейтрофилы п/я на 3-й день п/о	ЛДГ на 5-й день п/о	0,58
Нейтрофилы п/я на 5-й день п/о	АСТ при поступлении	0,92
Нейтрофилы с/я при поступлении	АЛТ при поступлении	0,83
Нейтрофилы с/я на 3-й день п/о	АЛТ в 1-й день п/о	-0,44
Нейтрофилы с/я на 3-й день п/о	ЛДГ на 5-й день п/о	-0,59
Эозинофилы в 1-й день п/о	Общий билирубин в 1-й день п/о	0,59
Эозинофилы в 1-й день п/о	АЛТ на 7-й день п/о	-0,84
Эозинофилы в 1-й день п/о	ЛДГ при поступлении	0,40
Лимфоциты при поступлении	АСТ при поступлении	-0,76
Лимфоциты в 1-й день п/о	Общий билирубин в 1-й день п/о	0,72
Лимфоциты на 3-й день п/о	АЛТ на 3-й день п/о	-0,57
Лимфоциты на 3-й день п/о	АСТ на 3-й день п/о	-0,62
Лимфоциты на 3-й день п/о	ЛДГ на 3-й день п/о	-0,49
Моноциты в 1-й день п/о	АСТ в 1-й день п/о	-0,55
Моноциты на 5-й день п/о	Общий билирубин при поступлении	-0,60
Моноциты на 7-й день п/о	Общий билирубин на 7-й день п/о	0,80
Моноциты на 10-й день п/о	АЛТ на 7-й день п/о	-0,86

Примечание:

Здесь и в табл. 3-2, 3-4, 3-5: п/о — после операции; п/я — палочкоядерные; с/я — сегментоядерные.

**Корреляционная связь количества перелитой стабилизированной крови
с некоторыми клинико-лабораторными показателями у
кардиохирургических пациентов**

Показатели	Стабилизированная кровь во время операции	Стабилизированная кровь после операции
Число дней в стационаре	-0,36	
Консервированная кровь во время операции	-0,55	
Эритроциты на 10-й день п/о		0,46
Гемоглобин на 7-й день п/о		0,41
Гемоглобин на 10-й день п/о		0,52
Нейтрофилы с/я при поступлении		-0,37
Эозинофилы на 7-й день п/о		0,44
Лимфоциты на 5-й день п/о	0,42	0,47
Лимфоциты на 10-й день п/о	0,42	
АСТ на 7-й день п/о	0,96	
ЛДГ в 1-й день п/о	0,58	
ЛДГ на 7-й день п/о	0,98	

Стрессорные изменения содержания популяций лейкоцитов и функционального состояния гепатоцитов при тяжелом течении заболевания не корректируются трансфузиями консервированной крови. Увеличение количества (доли) стабилизированной крови во время операции имеет саногенный эффект, проявляющийся в восстановлении содержания лимфоцитов в периферической крови.

Таким образом, гемотрансфузионная терапия, наряду с видом и продолжительностью операции, состоянием организма пациента, кровопотерей и другими факторами, значимо влияет на эффективность лечения кардиохирургических пациентов.

Состояние системы крови, в частности эффективность гемо- и иммунопоза, количество и функциональное состояние иммунокомпетентных клеток, является фактором, определяющим характер течения заболевания и послеоперационного периода у кардиохирургических пациентов.

Для неблагоприятного течения послеоперационного периода характерно сочетание признаков гематологического стресса и нарушения функционального состояния печени. Возможная защитная функция билирубина требует дальнейшего изучения.

Использование стабилизированной крови предпочтительно использованию консервированной крови.

Совершенствование программ гемокомпонентной терапии оказывает положительное влияние на эффективность лечения кардиохирургических пациентов.

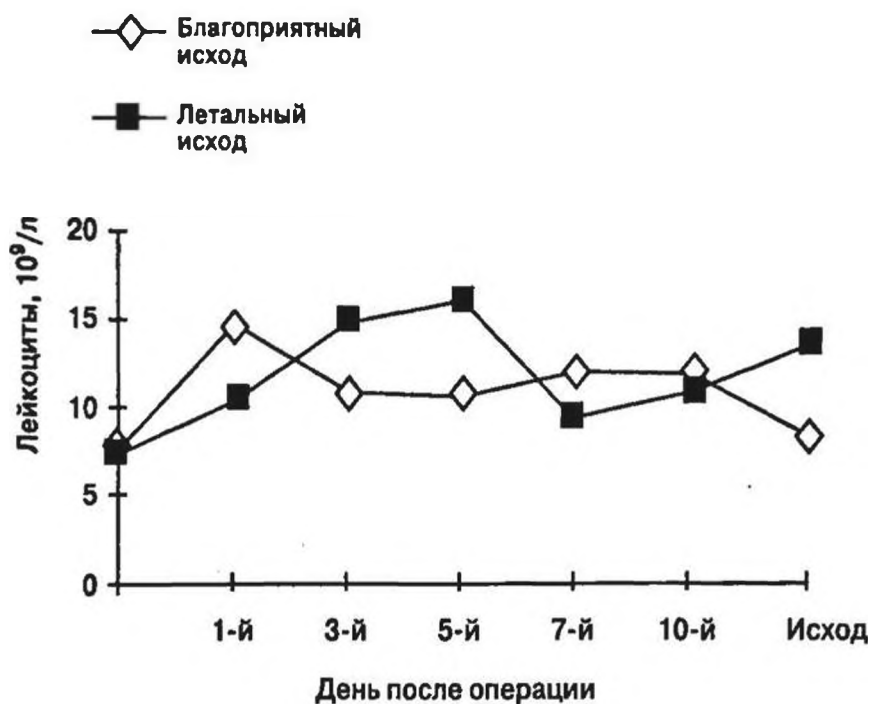


Рис. 3-1. Содержание лейкоцитов в крови ($10^9/\text{л}$) у кардиохирургических пациентов — реципиентов цельной крови.

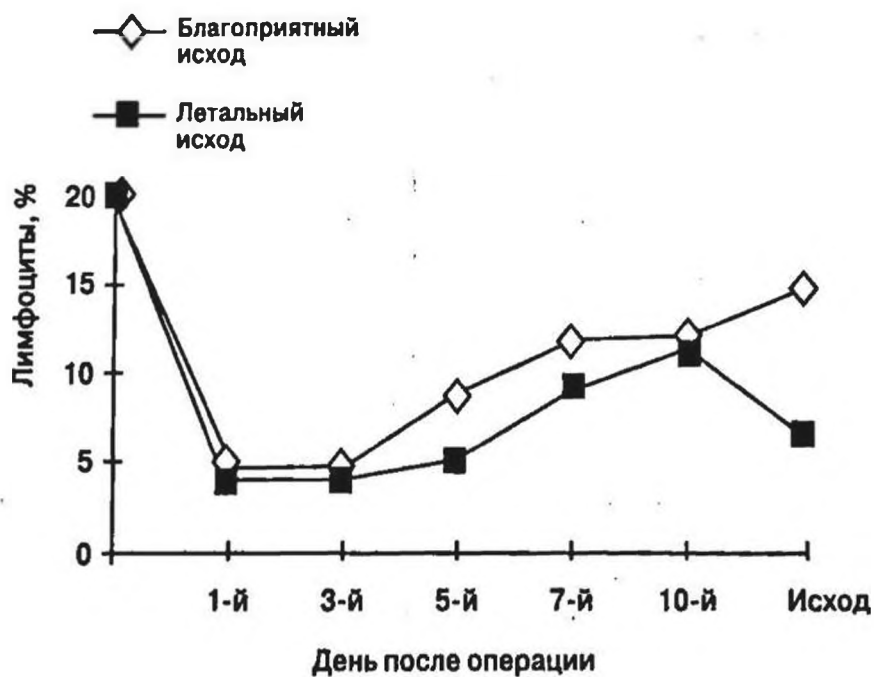


Рис. 3-2. Содержание лимфоцитов (%) в крови у кардиохирургических пациентов — реципиентов цельной крови.

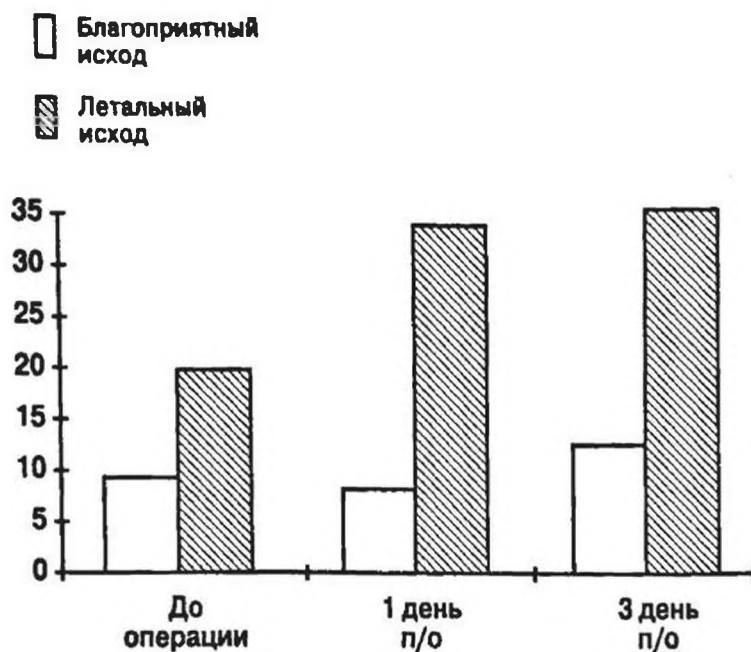


Рис. 3-3. Активность АЛТ в сыворотке кардиохирургических пациентов.

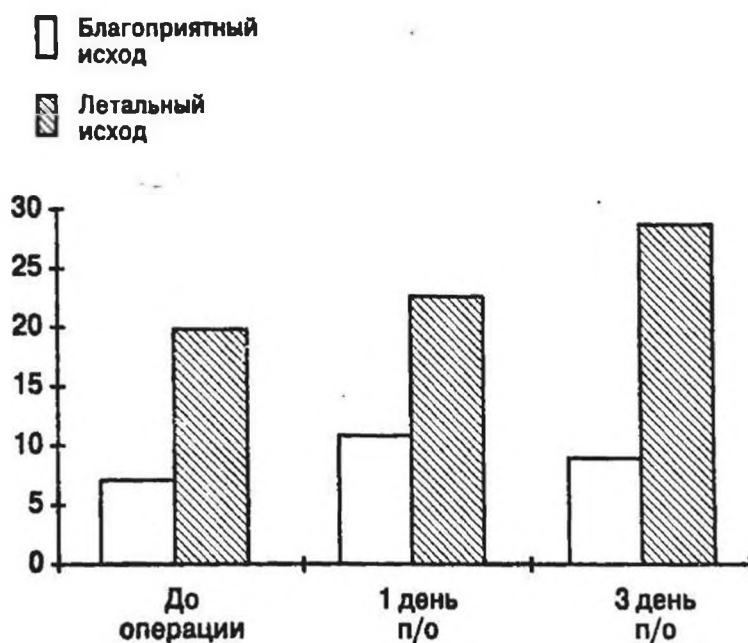


Рис. 3-4. Активность АСТ в сыворотке кардиохирургических пациентов.

3.1.3. Эритроцитоконцентрат как трансфузионная среда с уменьшенным содержанием иммунокомпетентных клеток

Так как целью трансфузий эритроцитсодержащих сред является коррекция анемического синдрома, иммунокомпетентные клетки и плазменные белки расце-

ниваются как «балласт» и могут служить причиной посттрансфузионных реакций и осложнений. Широкое использование криоконсервирования и отмывания эритроцитов имеет ряд технических и методических ограничений. Высокоэффективные лейкоцитарные фильтры отсутствуют в практике службы крови. Доступным и оптимальным способом является элиминация части лейкоцитов при фракционировании донорской крови. Методический подход к приготовлению эритроцитного концентрата разработан в НИЛ-Центре крови и тканей Военно-медицинской академии, однако в настоящее время эритроцитный концентрат не входит в Номенклатуру продукции, выпускаемой учреждениями службы крови из донорской крови (приложение 2 к приказу МЗ СССР № 155 от 12 апреля 1990 г. «О совершенствовании деятельности учреждений службы крови в условиях нового хозяйственного механизма»). Представляет интерес выбор оптимального режима получения эритроцитного концентрата с минимальным содержанием иммунокомпетентных клеток.

С использованием рефрижераторных центрифуг типа ЦР-3, ЦЛ-4000 отрабатывали 3 режима получения эритроцитного концентрата (табл. 3-3). Режим 1 — 7 мин при 3000 об/мин; режим 2 — 10 мин при 2200 об/мин; режим 3 — 10 мин при 2000 об/мин.

Таблица 3-3

Содержание клеток в эритроцитоконцентрате в зависимости от режима центрифугирования цельной крови

Режим	Содержание клеток					
	эритроциты		лейкоциты		тромбоциты	
	$\times 10^{12}$	% *	$\times 10^9$	% *	$\times 10^9$	% *
1	1,69 $\pm$ 0,16	93,8	1,94 $\pm$ 0,04	80,8	13,0 $\pm$ 1,5	13,0
2	1,49 $\pm$ 0,16	82,7	1,40 $\pm$ 0,12	58,3	14,1 $\pm$ 2,9	14,1
3	1,48 $\pm$ 0,50	82,2	1,87 $\pm$ 0,04	77,9	32,5 $\pm$ 2,1	35,2

Примечание:

* Процент от количества в 400 мл цельной крови.

Представляется оптимальным практическое использование режима 2, позволяющего удалить свыше 40 % лейкоцитов, свыше 85 % тромбоцитов. При этом следует иметь в виду, что среди остающихся в эритроцитоконцентрате лейкоцитов лимфоциты составляют не более 15—20 % (т. е. не более $7-8 \times 10^8$ клеток). Интересно сопоставить данные о развитии ПТБТПХ при переливании лимфоцитов в количестве, превышающем 10^7 клеток на килограмм массы тела, с нашим наблюдением результатов трансфузий свыше 25 000 эритроцитоконцентратов. Поскольку признаков посттрансфузионной БТПХ у реципиентов эритроцитоконцентрата (в основном группы повышенного риска ПТБТПХ) не зафиксировано, мы считаем обоснованным предположение о высоком профилактическом эффекте элиминации лейкоцитов из эритроцитной массы.

3.1.4. Клинико-лабораторная оценка эффективности трансфузий гемокомпонентов у кардиохирургических пациентов

Современный этап развития трансфузиологии предусматривает использование компонентов крови. Задачей настоящего исследования является изучение клинической эффективности и влияния на организм реципиентов трансфузионного обеспечения лечения кардиохирургических пациентов, предусматривающего использование донорских гемокомпонентов крови.

С этой целью обследовали 47 пациентов кардиохирургической клиники, которым выполнялись операции с использованием АИК. Группу составили 45 мужчин и 2 женщины в возрасте от 18 до 64 лет. Диагнозы: порок сердца — 27 человек (57,4 %); инфекционный эндокардит — 16 человек (34,0 %); ишемическая болезнь сердца — 4 человека (8,5 %). Характер оперативных вмешательств и перфузионного обеспечения был идентичен описанному в разделе 3.1.2.

Послеоперационные осложнения развились у 9 человек, в том числе: у 4 — послеоперационное кровотечение; у 4 — инфекционные осложнения; у 1 — полная атриовентрикулярная блокада.

В раннем послеоперационном периоде погибли 2 пациента. У одного основной причиной смерти явилась полиорганная недостаточность, у другого — инфаркт миокарда.

Выписаны из клиники в удовлетворительном состоянии 45 пациентов.

Гемотрансфузионная терапия включала подготовительное, интра- и послеоперационное пособие. Цельную донорскую кровь использовали в виде стабилизированной. Также применяли обедненный лейкоцитами концентрат эритроцитов, замороженную и свежезамороженную плазму, в том числе заготовленную от «иммунных» доноров. В отдельных случаях использовали аутологичную кровь, заготовленную до операции.

Гематологическими признаками стресса являются лейкоцитоз со сдвигом влево, лимфоцитопения, гипохолестеринемия и гипергликемия [Гаркави Л. Х. и др., 1990; Селье Г., 1960]. Благоприятное течение послеоперационного периода сопровождается нормализацией клинико-биохимических показателей крови.

Для более подробного выяснения взаимосвязи клинического течения заболевания и показателей функционального состояния организма был применен метод корреляционного анализа.

Негативное влияние на течение заболевания оказывают увеличение возраста пациентов и продолжительность операции (табл. 3-4). Особое внимание обращает на себя прямая корреляция величины гематокрита перед операцией и продолжительности стационарного лечения. Величина гематокрита при поступлении и перед операцией также прямо коррелирует с объемом послеоперационных трансфузий некоторых гемокомпонентов (табл. 3-5). Логично предположить, что более высокое содержание клеточных элементов крови ведет к большей потере последних при хирургической травме. Значительное изменение гематологических показателей после операции свидетельствует о серьезных нарушениях гомеостаза, требующих афферентной гемокоррекции. Отсутствие взаимозависимости уровня эозинофилов и количества трансфузий компонентов крови и сильная прямая корреляционная связь содержания эозинофилов и объема перелитой цельной крови позволяют констатировать алергизирующее действие последней. Как признак недостаточной эффективности трансфузий цельной крови можно расценить об-

ратную корреляционную связь между содержанием эритроцитов и гемоглобина при выписке, с одной стороны, и количеством цельной крови, перелитой после операции, — с другой.

Таблица 3-4

Корреляционная связь некоторых клинико-лабораторных показателей у кардиохирургических пациентов — реципиентов гемокомпонентов

Пара показателей		r
Возраст	Эритроциты в 1-й день п/о	-0,56
Возраст	СОЭ при выписке	0,68
Возраст	Нейтрофилы п/я при поступлении	0,66
Возраст	Нейтрофилы с/я перед операцией	0,51
Возраст	Лимфоциты при поступлении	-0,57
Возраст	Лимфоциты перед операцией	-0,75
Возраст	Лимфоциты в 1-й день п/о	-0,52
Возраст	Лимфоциты при выписке	-0,67
Возраст	Фибриноген при выписке	0,81
Возраст	Эритроцитоконцентрат во время операции	0,56
Возраст	Эритроцитоконцентрат после операции	0,59
Число дней в стационаре	Гематокрит при поступлении	0,81
Число дней в стационаре	Гематокрит перед операцией	0,83
Число дней в стационаре	Эозинофилы при выписке	0,63
Число дней в стационаре	Глюкоза на 3-й день п/о	0,86
Длительность операции	Нейтрофилы с/я в 1-й день п/о	-0,80
Длительность операции	Нейтрофилы с/я при выписке	-0,60
Длительность операции	Эритроцитоконцентрат после операции	0,64
Длительность операции	Свежезамороженная плазма после операции	0,58
Длительность ИВЛ	СОЭ при выписке	0,53
Длительность ИВЛ	Нейтрофилы п/я при выписке	-0,57
Длительность ИВЛ	Фибриноген в 1-й день п/о	0,71

Высокая информативность клинико-лабораторных показателей крови подтверждается наличием множественных корреляционных связей между ними, отражающих сбалансированное взаимодействие функциональных систем организма пациента в процессе адекватного лечения.

Для оценки влияния гемотрансфузионной терапии на состояние организма и эффективность лечения кардиохирургических пациентов проведен сравнительный анализ клинико-лабораторных показателей в группах с различными режима-

ми гемотрансфузий: группа 1 — реципиенты цельной крови, 32 человека (см. раздел 3.1.2); группа 2 — реципиенты компонентов крови, 47 человек (см. раздел 3.1.4). Приведенные в табл. 3-6 результаты анализа показывают, что при отсутствии различий в возрасте для пациентов группы 1 характерна значительно большая кровопотеря по дренажам и более высокие показатели красной крови после операции. Однако у этих пациентов после операции значимо снижается содержание тромбоцитов, а показатели лейкограммы свидетельствуют о развитии напряженной стрессорной реакции. При практически одинаковом сроке лечения у пациентов группы 2 содержание лимфоцитов к моменту выписки нормализовалось, тогда как у пациентов группы 1 этот показатель оставался на границе реакции мягкого стресса [Гаркави Л. Х. и др., 1990].

Таблица 3-5

**Корреляционная связь показателей системы крови
и гемотрансфузионной терапии у кардиохирургических
пациентов — реципиентов гемокомпонентов**

Пара показателей		r
Эритроциты в 1-й день п/о	Эритроцитоконцентрат после операции	-0,72
Гемоглобин перед операцией	Свежезамороженная плазма во время операции	0,64
Гематокрит при поступлении	Свежестабилизированная кровь после операции	0,78
Гематокрит при поступлении	Свежезамороженная плазма во время операции	0,77
Гематокрит перед операцией	Свежестабилизированная кровь после операции	0,84
СОЗ в 1-й день п/о	Замороженная плазма во время операции	0,70
Тромбоциты при поступлении	Свежезамороженная плазма после операции	-0,89
Тромбоциты в 1-й день п/о	Эритроцитоконцентрат во время операции	-0,71
Тромбоциты в 1-й день п/о	Свежезамороженная плазма после операции	-0,68
Лейкоциты в 1-й день п/о	Эритроцитоконцентрат во время операции	-0,52
Нейтрофилы п/я при поступлении	Эритроцитоконцентрат после операции	0,55
Эозинофилы перед операцией	Свежезамороженная плазма во время операции	0,52
Эозинофилы в 1-й день п/о	Свежестабилизированная кровь после операции	0,92
Холестерин при поступлении	Свежестабилизированная кровь после операции	-0,80
Холестерин при поступлении	Свежезамороженная плазма после операции	-0,81
Глюкоза при поступлении	Свежестабилизированная кровь во время операции	0,56

Различия клинико-лабораторных показателей у кардиохирургических пациентов с различными режимами гемотрансфузионной терапии

Показатели	Группа 1, n = 32	Группа 2, n = 47
Возраст	37,0±1,8	32,1±4,9
Кровопотеря по дренажам	764,9±134,1	166,7±135,1
Эритроциты в 1-й день п/о	4,25±0,08	3,26±0,10
Эритроциты при выписке	4,09±0,08	3,75±0,12
Гемоглобин при поступлении	140,0±2,2	135,7±4,9
Гемоглобин в 1-й день п/о	127,7±2,8	101,7±2,9
Гематокрит в 1-й день п/о	41,0±1,2	32,0±1,4
Тромбоциты в 1-й день п/о	130±13	151±16
Метамиелоциты в 1-й день п/о	3,0±1,0	0,5±0,1
Нейтрофилы с/я в 1-й день п/о	42,4±2,0	59,3±3,0
Эозинофилы в 1-й день п/о	0,5±0,3	1,7±0,5
Лимфоциты при выписке	20,4±1,7	33,3±3,2
Моноциты при поступлении	6,7±0,6	4,7±0,6
Моноциты в 1-й день п/о	3,1±0,4	5,3±1,0

Примечание:

Группа 1 — реципиенты цельной крови,
группа 2 — реципиенты компонентов крови.

Таким образом, при трансфузиях цельной крови развивается глубокая и длительная стрессорная реакция, менее выраженная при использовании компонентов крови. Умеренная анемия у кардиохирургических пациентов, по-видимому, не только не ведет к неадекватному снижению газотранспортной функции крови, но и обладает положительным лечебным эффектом за счет улучшения реологических свойств крови.

Следовательно, использование гемокомпонентов при лечении кардиохирургических пациентов является более эффективным по сравнению с использованием цельной крови.

В кардиохирургической клинике следует активнее использовать аутологичные гемокомпоненты, применяя методы заблаговременной заготовки и консервирования, периоперационной гемодилюции и реинфузии.

Уровень оптимального содержания клеток крови (в первую очередь — эритроцитов) у кардиохирургических пациентов нуждается в уточнении. По-видимому, показатели красной крови, являющиеся основаниями для переливания эритроцитсодержащих трансфузионных сред (гемоглобин — 110 г/л, гематокрит — 32–34 %) [Руководство по военной трансфузиологии / Под ред. Э. А. Нечаева, 1991], должны быть пересмотрены в меньшую сторону.

3.1.5. Иммунная плазма: получение и применение

Гуморальный иммунитет, в частности, содержание и активность специфических антител имеет важное значение в развитии и течении бактериальных инфекций. Направленная специфическая иммунизация доноров является трудоемким, дорогостоящим и не всегда эффективным мероприятием, в ряде случаев — небезвредным для организма донора. У ряда здоровых лиц, являющихся потенциальными донорами, в периферической крови циркулируют противомикробные антитела. В табл. 3-7 и 3-8 приведены данные за 1993 г. и 1994 г. соответственно о распространенности антител в лечебном титре среди доноров Центра крови и тканей Военно-медицинской академии. Встречаемость антител связана с временем года, полом, возрастом, родом занятий доноров. Максимальное количество иммунных к синегнойной палочке и особенно к стафилококку доноров выявлено в военно-строительных частях и других подразделениях, длительное время находящихся в полевых условиях. Определяющим моментом в заготовке иммунных гемокомпонентов является потребность лечебных отделений. В соответствии с этой потребностью служба крови создает оперативный резерв иммунной плазмы, планирует соответствующее лабораторное обследование заготовленной донорской крови и изготовление необходимых гемотерапевтических средств. Наличие противомикробных антител — дополнительное свойство при безусловном сохранении всех биологических характеристик, присущих свежемороженой или нативной плазме. Соответственно, иммунной плазме следует отдавать предпочтение при проведении гемокомпонентной терапии у пациентов с гнойно-септическими заболеваниями или высоким риском их развития. Специфическая иммунотерапия сепсиса является одним из главных направлений в лечении этого заболевания. Особенностью иммунного статуса в посттравматическом периоде и в разгар острого сепсиса является подавленность (или относительная недостаточность) иммунной системы. В связи с этим активная иммунизация при раневом сепсисе, как правило, не дает эффекта, и ведущим методом должна быть пассивная иммунизация [Рожков А. С., 1994]. Реализация изложенного выше подхода к заготовке достаточных количеств иммунной плазмы от тщательно обследованных доноров устраняет такие, существовавшие ранее, препятствия, как высокая стоимость, дефицитность, опасность развития тяжелых осложнений (гепатит, СПИД) [Рожков А. С., 1994].

Рациональный подход к получению и активному применению иммунной плазмы способствует повышению эффективности работы лечебных учреждений.

Развитие медицины раскрывает потенциальные возможности иммунной плазмы, в частности, в лечении «новых» вирусных инфекций, например, парвовируса В-19. Поскольку донорская плазма содержит существенное количество IgG — антител, повторные гемотрансфузии рассматривают в качестве не только симптоматической, но и этиологической терапии апластического криза при парвовирусной инфекции [Яворковский Л. И., 1995].

Наш опыт показывает эффективность применения иммунной плазмы в лечении пациентов с ИЭ. Так как наиболее частым возбудителем заболевания у наших больных был стафилококк, то чаще всего использовали антистафилококковую плазму. Она применялась из расчета 3—5 мл на 1 кг массы тела больного. Использовали 3—6 введений с частотой — через день или ежедневно.

**Распространенность антибактериальных антител
среди доноров гемокомпонентов в 1993 г.
(обследовано 5926 доноров)**

Титр антител	Вид иммунной плазмы							
	с антителами к зеленающему стафилококку, n = 4764		с антителами к синегнойной палочке, n = 4531		антиклебсиел- лезная, n = 316		антипротейная, n = 316	
	n	%	n	%	n	%	n	%
1:160			718	15,8	76	24,0	11	3,5
1:320	84	1,8	324	7,2	41	13,0	1	0,3
1:640	41	0,9	125	2,8	17	5,4		
1:1280	111	2,3						
1:2500	170	3,6						
1:5120	131	2,7						
1:10240	48	1,0						
Всего	585	12,3	1167	25,8	134	42,4	12	3,8

Таблица 3-8

**Распространенность антибактериальных антител
среди доноров гемокомпонентов в 1994 г.
(обследовано 4206 доноров)**

Титр антител	Вид иммунной плазмы									
	с антителами к эпидермальному стафилококку, n = 3009		с антителами к синегнойной палочке, n = 2845		антишве- рихиозная, n = 928		анти- клебсиел- лезная, n = 476		антипро- тейная, n = 1141	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1:160	12	0,4	259	9,1	55	5,9	16	3,4	78	6,8
1:320	185	6,1	345	12,1	139	15,0	104	21,8	91	8,0
1:640	380	12,6	153	5,4	121	13,0	38	8,0	24	2,1
1:1280	117	3,9	10	0,4						
1:2560	93	3,1	4	0,1						
1:5120	46	1,5	1	0,1						
1:10240	15	0,5	1	0,1						
Всего	848	29,8	773	25,7	315	33,9	158	33,2	193	16,9

3.2. Влияние гемотрансфузионной терапии на иммунный статус онкологических больных

Многофакторный анализ, проведенный в разнообразных группах онкологических больных, выявил связь ГТТ с продолжительностью жизни после удаления опухоли, частотой метастазирования и рецидивирования заболевания. Кроме того, результаты, полученные в экспериментах на животных или при изучении многотрансфузируемых больных, были экстраполированы на лиц с онкологической патологией, что создало представления о том, что гемотрансфузионный эффект опосредован иммунологическими нарушениями [Francis D., 1991].

Для доказательства связи неблагоприятных клинических исходов с иммунными нарушениями, вызванными гемотрансфузиями, необходимо сопоставление рандомизированных групп, в которых были бы проанализированы больные с одинаковой клинической формой заболевания, идентичной терапией, но с использованием или без ГТТ. Практически создание таких групп чрезвычайно затруднено, так как назначение гемотрансфузий проводится по клиническим показаниям и альтернативы этому виду терапии, как правило, нет. Поэтому очень часто в группы больных, получавших ГТТ, попадают лица с более тяжелыми формами заболевания, чем в группы сравнения. Эта закономерность существенно влияет на результаты сопоставления, и зачастую специфические изменения, связанные с развитием основного заболевания, относят за счет влияния ГТТ.

Чтобы минимизировать ошибочные заключения, связанные с невозможностью рандомизации, в настоящем исследовании были использованы следующие приемы.

1. При изучении связи ГТТ с иммунными нарушениями у больных неходжкинскими лимфомами предварительно был проведен анализ иммунного статуса больных с различными клиническими вариантами заболевания (степень злокачественности, стадия заболевания, проведение полихимиотерапии). Выявленные закономерности, подробно описанные Н. Б. Серебряной и соавт. (1995), позволили отделить изменения, связанные с особенностями заболевания, от таковых, обусловленных проведением гемотрансфузионной терапии.
2. При исследовании иммунных нарушений у больных с новообразованиями желудочно-кишечного тракта соотносили выявленные изменения с таковыми, наблюдаемыми в группах неонкологических хирургических больных, получавших сходные объемы гемотрансфузионного пособия.
3. Дополнительно проанализированы иммунологические характеристики больных светлоклеточным раком почки, как получавших ГТТ при резекции почки, так и оперированных без использования аллогенных гемокомпонентов.

3.2.1. Влияние гемотрансфузионной терапии на иммунный статус больных неходжкинскими лимфомами

Обследовано 33 больных неходжкинскими лимфомами (НЛ), из которых 17 получали ГТТ (группа 1) и 16 не получали аллогенных гемокомпонентов (группа 2). Назначение ГТТ проводилось по клиническим показаниям, главными из которых были цитопенический и геморрагический синдромы. Курс гемотрансфузий

включат: эритроцитоконцентрата — от 800 до 2400 мл (медиана — 1600 мл), тромбоцитоконцентрата — от 2 до 15 доз (медиана — 6), свежезамороженной плазмы — от 400 до 2400 мл (медиана — 1200 мл). Все больные, включенные в настоящее исследование, обследовались в одинаковые сроки (при постановке диагноза, после 1, 3 и 6 курсов полихимиотерапии), причем точка обследования после окончания курса полихимиотерапии у больных, получавших ГТТ, сдвигалась до окончания трансфузионной терапии. Клинически больные, составившие группу 1, значительно отличались от пациентов группы 2 (табл. 3-9).

Таблица 3-9

Некоторые клинические характеристики больных НЛ, получавших (группа 1) и не получавших (группа 2) гемотрансфузионной терапии

Показатели	Группа 1, %	Группа 2, %	p
Высокая степень злокачественности	78	48	< 0,03
IV стадия заболевания	88	38	< 0,001
В-симптомы	59	28	< 0,05
Экстранодальные поражения	76	18	< 0,001
Гепатомегалия	90	29	< 0,001
Индекс ВОЗ	1,25±0,2	0,3±0,07	< 0,005
Токсичность терапии (в баллах)	3,4±0,3	1,7±0,1	< 0,01

Представленные в таблице данные свидетельствуют, что назначение ГТТ осуществлялось лицам преимущественно с высокозлокачественным течением заболевания, находящимся в терминальной стадии, получавшим агрессивную полихимиотерапию, что позволяет сделать вывод, что группу 1 сформировали в целом более тяжелые больные, чем группу 2. Исходные иммунологические параметры, определяемые до начала терапии, у больных групп 1 и 2 представлены в табл. 3-10.

Полученные результаты свидетельствуют, что у больных группы 1 достоверно увеличено количество лимфоцитов с рецептором CD5, при этом количество CD4⁺, CD8⁺-клеток и естественная цитотоксичность лимфоцитов снижены (рис. 3-5). Проведенные нами ранее исследования связи иммунного статуса больных неходжкинскими лимфомами со стадией и степенью злокачественности заболевания продемонстрировали, что высокое содержание CD5⁺ встречалось у лиц с неблагоприятным исходом лечения, а количество CD4⁺ и CD8⁺-лимфоцитов снижалось по мере прогрессирования заболевания [Серебряная Н. Б. и др., 1995]. Значительные различия выявлены и по способности продуцировать цитокины в изучаемых группах: у больных группы 1 преобладает выработка ФНО-α, а у больных группы 2 — ИЛ-1β (рис. 3-6). Одновременно сывороточная концентрация ФНО-α значительно выше в группе 1, чем в группе 2 (табл. 3-10 и 3-11).

**Исходные иммунологические параметры больных НЛ,
леченных с применением ГТТ (группа 1) и без ГТТ (группа 2)**

Показатели	Группа 1	Группа 2	p
CD3 (%)	67,8±4,6	61,9±4,2	—
CD5 (%)	61,0±4,1	49,1±4,3	< 0,05
CD4 (%)	16,3±3,9	31,0±4,1	< 0,02
CD8 (%)	17,1±3,3	25,2±2,7	> 0,05
CD4/CD8	0,98±0,2	0,97±0,1	—
CD10 (%)	12,1±3,1	19,3±6,3	—
CD34 (%)	11,4±4,2	25,0±7,4	> 0,05
IC030 (%)	12,6±2,9	16,7±3,2	—
CD22 (%)	18,1±3,1	20,8±4,2	—
CD38 (%)	31,6±2,8	30,5±4,4	—
DR+ (%)	37,1±9,1	34,7±3,1	—
CD25 (%)	17,1±4,5	28,6±3,2	—
CD16 (%)	21,0±6,2	24,7±3,2	—
НК-активность (%)	43,1±4,2	66,8±5,1	< 0,001
ИЛ-1 (сыв.) пг/мл	15,0±4,0	12,0±2,5	—
ФНО-α (сыв.) пг/мл	1280,2±230,5	740,0±112,1	< 0,05
Ig M (г/л)	0,98±0,3	1,8±0,2	< 0,02
Ig G (г/л)	14,7±2,5	16,5±1,0	—
Ig A (г/л)	2,1±0,5	3,0±0,3	—
ЦИК (ед)	59,0±27,4	17,5±5,2	—

Таким образом, особенности распределения дифференцировочных антигенов мононуклеаров периферической крови, угнетение естественной цитотоксичности, повышение продукции и сывороточной концентрации ФНО-α при угнетении продукции ИЛ-1β, выявленные у больных группы 1, свидетельствуют о более выраженных количественных изменениях и нарушениях функциональных возможностей иммунокомпетентных клеток по сравнению с больными группы 2.

После проведения ГТТ иммунологические параметры изучаемых больных заметно изменялись (табл. 3-12). По окончании курса трансфузий у больных группы 1 отметили тенденцию к росту числа CD4+, CD8+, IC030+ и D38+ — лимфоцитов (рис. 3-7). Известно, что субпопуляция лимфоцитов IC030+ представляет

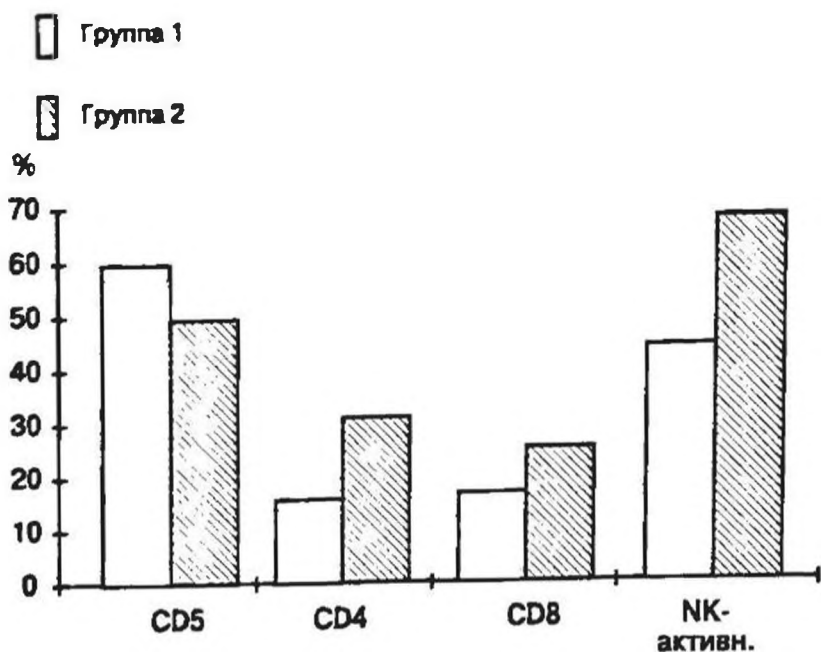


Рис. 3-5. Субпопуляции лимфоцитов и NK-активность у больных НЛ до начала лечения. Группа 1 — больные, получавшие ГТТ; группа 2 — больные, не получавшие ГТТ.

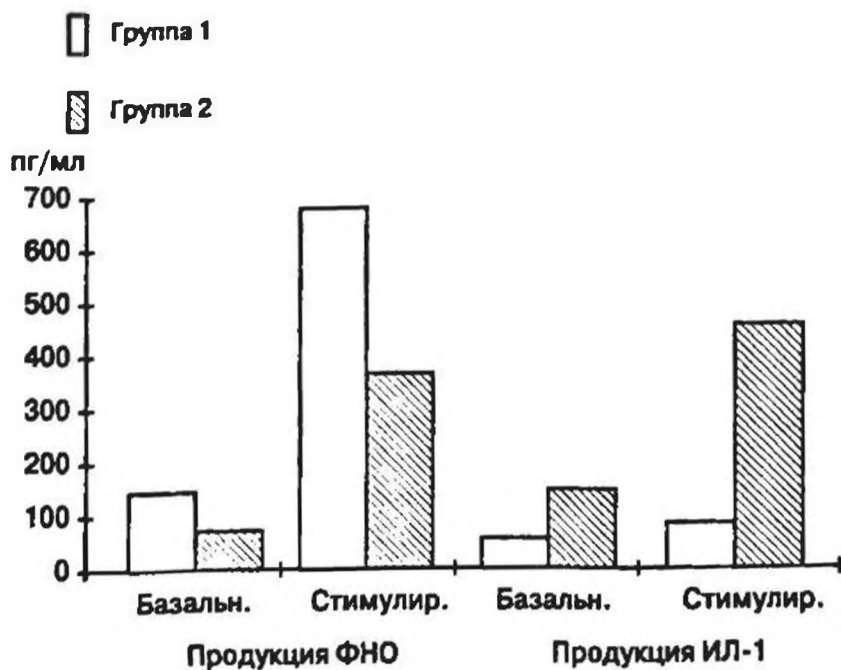


Рис. 3-6. Исходная продукция цитокинов у больных НЛ. Обозначения те же, что на рис. 3-5.

собой В-лимфоциты с мембранным рецептором μ -Ig M, а рецептор CD38+ представлен на плазматических клетках. На фоне наблюдаемого увеличения концентрации сывороточного Ig M (рис. 3-8), такие изменения субпопуляционного состава мононуклеаров периферической крови свидетельствуют о развитии ранней фазы гуморального иммунного ответа, возможно, к антигенам перелитых гемокомпонентов.

Таблица 3-11

**Исходная продукция цитокинов у больных НЛ,
леченных с применением ГТТ (группа 1) и без ГТТ (группа 2)**

Показатели	Продукция ФНО- α , пг/мл		Продукция ИЛ- β , пг/мл	
	базальная	стимулированная	базальная	стимулированная
Группа 1 (n = 17)	136,7 $\pm$ 25,8	664,2 $\pm$ 97,2	41,4 $\pm$ 9,3	72,5 $\pm$ 12,9
Группа 2 (n = 16)	69,5 $\pm$ 10,2	358,4 $\pm$ 88,7	141,3 $\pm$ 20,5	438,8 $\pm$ 110,3
p	< 0,02	< 0,05	< 0,001	< 0,02

Динамика показателей функциональной активности лимфоцитов свидетельствует, что после ГТТ естественная цитотоксичность лимфоцитов повысилась, возросла базальная и стимулированная продукция ИЛ-1 β , при этом значительных изменений продукции ФНО- α не выявлено, а сывороточная концентрация этого цитокина имела тенденцию к снижению (табл. 3-12 и 3-13, рис. 3-9).

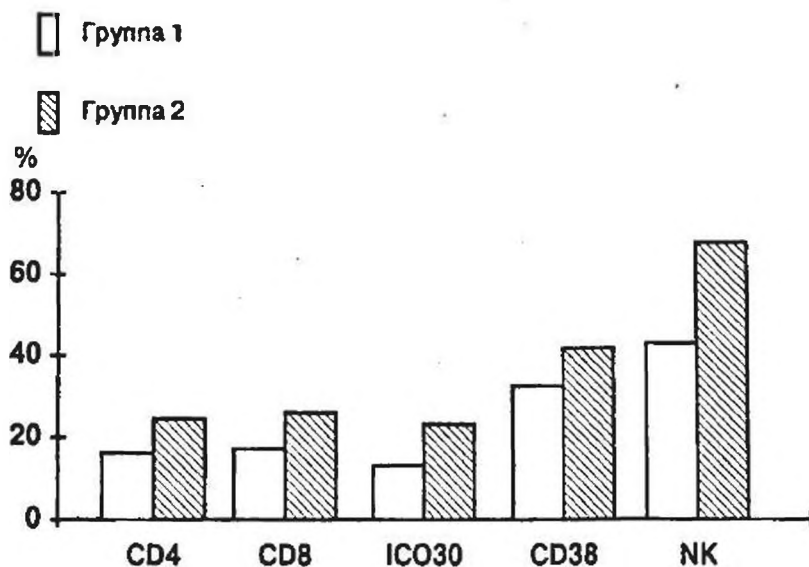


Рис. 3-7. Изменение субпопуляций лимфоцитов и NK-активности у больных НЛ, получавших ГТТ, в динамике терапии.

**Динамика иммунологических показателей у больных НЛ,
леченных с применением ГТТ**

Показатели	До лечения (n = 17)	После лечения (n = 17)	p
CD3 (%)	67,8±4,6	52,8±5,1	—
CD5 (%)	61,0±4,1	58,7±5,1	—
CD4 (%)	16,3±3,9	23,9±3,9	—
CD8 (%)	17,1±3,3	25,8±2,7	> 0,05
CD4/CD8	0,98±0,2	0,9±0,1	—
CD10 (%)	12,1±3,1	14,5±3,2	—
CD34 (%)	11,4±4,2	16,1±3,5	
ICO30 (%)	12,6±2,9	21,9±4,2	< 0,002
CD22 (%)	18,1±3,1	18,9±2,6	—
CD38 (%)	31,6±2,8	41,8±3,4	< 0,05
DR+ (%)	37,1±9,1	42,3±6,3	—
CD25 (%)	17,1±4,5	22,3±3,4	—
CD16 (%)	21,0±6,2	20,4±3,5	—
НК-активность (%)	43,1±4,2	67,0±5,7	< 0,01
ИЛ-1 (сыв.), пг/мл	15,0±4,0	15,7±3,5	—
ФНО-α (сыв.), пг/мл	1280,2±230,5	831,0±152,1	—
Ig M (г/л)	0,98±0,3	1,4±0,2	> 0,05
Ig G (г/л)	14,7±2,5	12,7±2,1	—
Ig A (г/л)	2,1±0,5	2,7±0,6	—
ЦИК (ед)	59,0±27,4	30,9±6,6	—

В группе больных, не получавших ГТТ в комплексном лечении, также выявлены изменения ряда иммунологических параметров в динамике терапии. Проведение ПХТ сопровождалось уменьшением числа DR+ и CD16+ -лимфоцитов (последние характеризуют количество НК-клеток). Естественная цитотоксичность МНПК при этом имела тенденцию к снижению (табл. 3-14, рис. 3-10). Функциональная активность лимфоцитов больных группы 2 не имела значительных изменений после проведения курсов ПХТ, достоверно снижалась только базальная продукция ИЛ-1β, приближаясь к нормальным значениям (табл. 3-15). Сывороточная концентрация ФНО-α также снижалась в результате лечения (рис. 3-11).

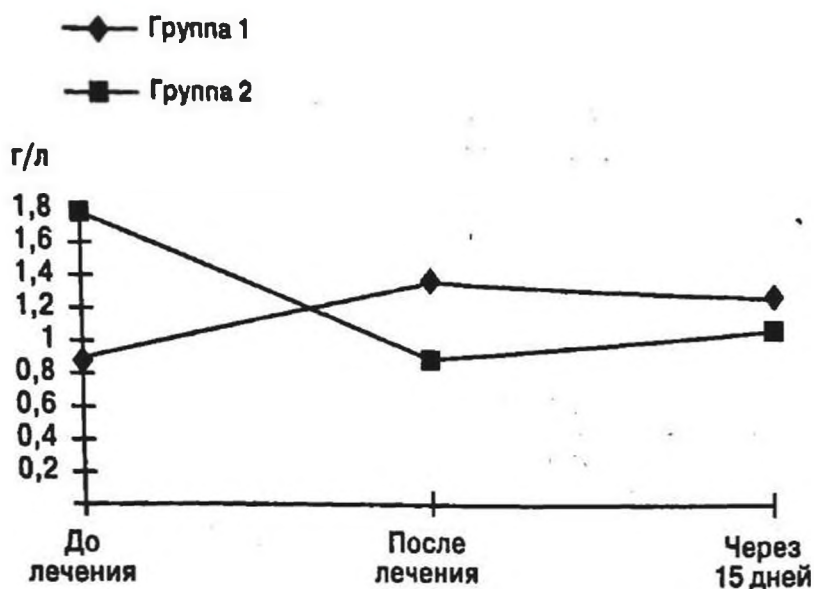


Рис. 3-8. Сывороточная концентрация IgM у больных НЛ в динамике терапии. Обозначения те же, что на рис. 3-5.

Таблица 3-13

**Изменение продукции цитокинов
у больных НЛ, леченных с применением ГТТ**

Показатели	Продукция ФНО- α , пг/мл		Продукция ИЛ- β , пг/мл	
	базальная	стимулированная	базальная	стимулированная
До лечения (n = 17)	136,7 $\pm$ 25,8	664,2 $\pm$ 97,2	41,4 $\pm$ 9,3	72,5 $\pm$ 12,9
После лечения (n = 17)	315,0 $\pm$ 98,2	812,4 $\pm$ 123,4	146,5 $\pm$ 25,6	438,8 $\pm$ 110,3
p	> 0,05	> 0,05	< 0,001	< 0,05

Результаты исследований, приведенные в данном разделе, свидетельствуют, что проведение ГТТ у больных НЛ ассоциировано с более тяжелыми формами заболевания, токсичной ПХТ. Изначально, больные, нуждающиеся в ГТТ, имели более выраженные нарушения иммунной системы, проявляющиеся в снижении численности иммуnoreгуляторных субпопуляций CD4⁺ и CD8⁺, угнетении NK-активности и нарушении баланса цитокиновой сети. Сопоставление иммунологических параметров у больных групп 1 и 2 после лечения продемонстрировало, что различия между ними по распределению субпопуляций лимфоцитов значительно уменьшились (табл. 3-16). Заметная разница выявлена в динамике NK-активности, которая повысилась после лечения у больных группы 1, но имела тенденцию к снижению в группе 2 (что согласуется со снижением числа CD16⁺ — лимфоцитов). Следовательно, описанное у многотрансфузируемых больных снижение NK-

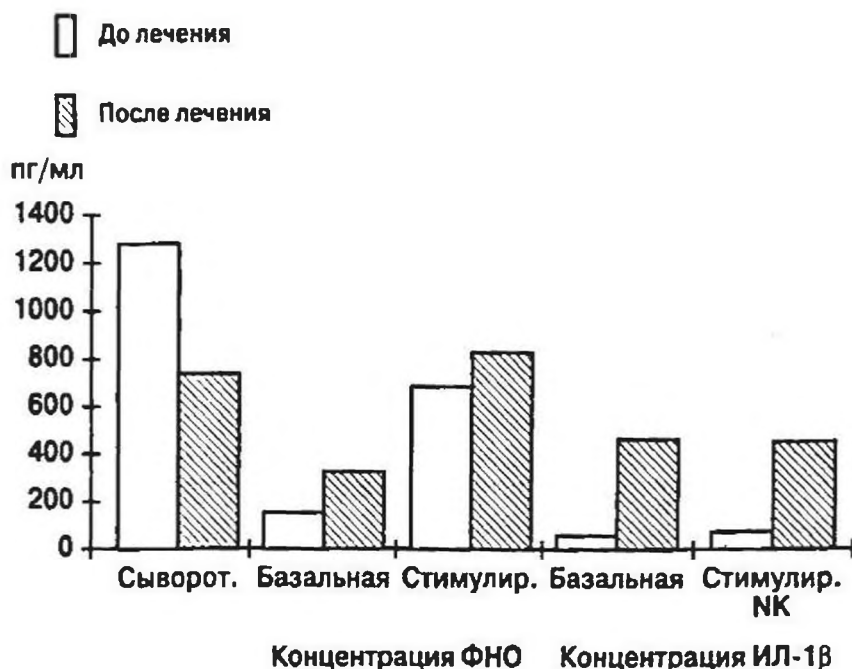


Рис. 3-9. Уровни цитокинов у больных НЛ, получавших ГТТ, в динамике терапии.

активности после трансфузий оказалось не характерно для больных лимфомами. Повышение базальной продукции обоих изучаемых цитокинов после проведения комплексной терапии у больных группы 1 можно связать с развитием иммунного ответа на аллоантигены (табл. 3-17), тогда как повышенная стимулированная способность продуцировать ФНО- α , по-видимому, в большей степени характеризует особенности трансформированных клеток.

Таблица 3-14

**Динамика иммунологических показателей
у больных НЛ, леченных без ГТТ**

Показатели	До лечения (n = 16)	После лечения (n = 16)	p
1	2	3	4
CD3 (%)	61,9 $\pm$ 4,2	62,3 $\pm$ 4,1	—
CD5 (%)	49,1 $\pm$ 4,3	49,5 $\pm$ 3,9	—
CD4 (%)	31,0 $\pm$ 4,1	22,5 $\pm$ 3,5	—
CD8 (%)	25,2 $\pm$ 2,7	19,6 $\pm$ 3,9	> 0,05
CD4/CD8	0,97 $\pm$ 0,1	1,4 $\pm$ 0,3	—
CD10 (%)	19,3 $\pm$ 6,3	9,1 $\pm$ 3,1	—

1	2	3	4
CD34 (%)	25,0±7,4	11,0±2,9	—
ЮС30 (%)	16,7±3,2	13,9±4,3	—
CD22 (%)	20,8±4,2	17,9±3,2	—
CD38 (%)	30,5±4,4	30,8±6,8	—
DR+ (%)	34,7±3,1	24,3±3,2	< 0,05
CD25 (%)	28,6±3,2	20,1±3,8	—
CD16 (%)	24,7±3,2	12,0±3,2	< 0,01
NK-активность (%)	66,8±5,1	55,9±4,2	—
ИЛ-1 (сыв.), пг/мл	12,0±2,5	14,4±6,5	—
ФНО-α (сыв.), пг/мл	740,0±112,1	358,0±89,5	< 0,02
Ig M (г/л)	1,8±0,2	1,3±0,1	—
Ig G (г/л)	16,5±1,0	12,9±3,1	—
Ig A (г/л)	3,0±0,3	2,8±0,4	—
ЦИК (ед)	17,5±5,2	25,8±7,9	—

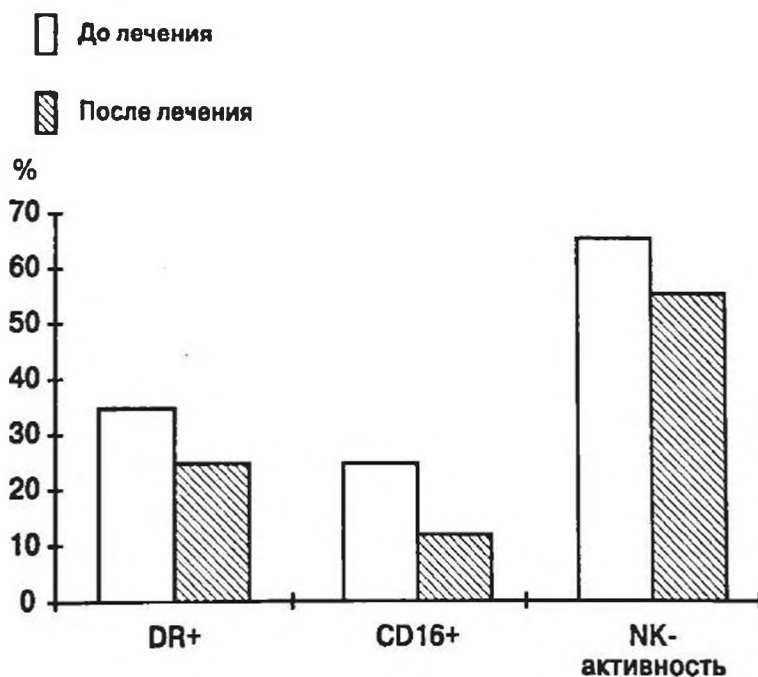


Рис. 3-10. Субпопуляции лимфоцитов и NK-активность у больных НЛ, не получавших ГТТ, в динамике терапии.

**Изменение продукции цитокинов
у больных НЛ, леченных без ГТТ**

Показатели	Продукция ФНО- α , пг/мл		Продукция ИЛ- β , пг/мл	
	базальная	стимулированная	базальная	стимулированная
До лечения (n = 16)	69,5 $\pm$ 10,2	358,4 $\pm$ 122,7	141,3 $\pm$ 20,4	438,8 $\pm$ 110,3
После лечения (n = 16)	76,3 $\pm$ 23,6	260,2 $\pm$ 104,5	59,4 $\pm$ 19,2	238,6 $\pm$ 81,4
p	—	—	< 0,01	—

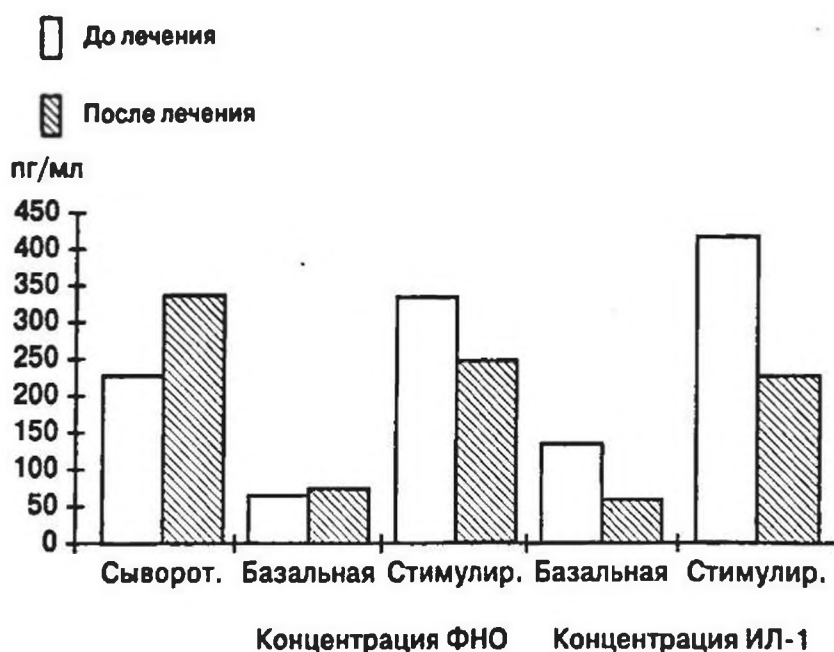


Рис. 3-11. Концентрация цитокинов у больных НЛ, не получавших ГТТ, в динамике терапии.

Таблица 3-16

**Иммунологические показатели больных НЛ, леченных с применением
ГТТ (группа 1) и без ГТТ (группа 2), после окончания терапии**

Показатели	Группа 1 (n = 17)	Группа 2 (n = 16)	p
1	2	3	4
CD3 (%)	52,8 $\pm$ 5,1	62,3 $\pm$ 4,1	н. д.

Продолжение табл. 3-16

1	2	3	4
CD5 (%)	58,7±5,1	49,5±3,9	н. д.
CD4 (%)	23,9±3,9	22,5±3,5	н. д.
CD8 (%)	25,8±2,7	19,6±3,9	н. д.
CD4/CD8	0,9±0,1	1,4±0,3	н. д.
CD10 (%)	14,5±3,2	9,1±3,1	н. д.
CD34 (%)	16,1±3,5	11,0±2,9	н. д.
IC030 (%)	21,9±4,2	13,9±4,3	н. д.
CD22 (%)	18,9±2,6	17,9±3,2	н. д.
CD38 (%)	41,8±3,4	30,8±6,8	н. д.
DR+ (%)	42,3±6,3	24,3±3,2	< 0,02
CD25 (%)	22,3±3,4	20,1±3,8	н. д.
CD16 (%)	20,4±3,5	12,0±3,2	н. д.
НК-активность (%)	67,0±5,7	55,9±4,2	н. д.
ИЛ-1 (сыв.), пг/мл	15,7±3,5	14,4±6,5	н. д.
ФНО-α (сыв.), пг/мл	831,0±152,1	358,0±89,5	< 0,01
Ig M (г/л)	1,4±0,2	1,3±0,1	н. д.
Ig G (г/л)	12,7±2,1	12,9±3,1	н. д.
Ig A (г/л)	2,7±0,6	2,8±0,4	н. д.
ЦИК (ед)	30,9±6,6	25,8±7,9	н. д.

Таблица 3-17

**Продукция цитокинов у больных НЛ,
леченных с применением ГТТ (группа 1)
и без ГТТ (группа 2), после окончания терапии**

Показатели	Продукция ФНО-α, пг/мл		Продукция ИЛ-β, пг/мл	
	базальная	стимулированная	базальная	стимулированная
Группа 1 (n = 17)	315,0±98,2	812,4±123,4	146,5±25,6	438,8±110,3
Группа 2 (n = 16)	76,3±23,6	260,2±104,5	59,4±19,2	238,6±81,4
p	< 0,05	< 0,001	< 0,01	н. д.

3.2.2. Влияние гемотрансфузионной терапии на иммунный статус некоторых групп хирургических больных

3.2.2.1. Влияние гемотрансфузионной терапии на иммунный статус больных злокачественными новообразованиями желудочно-кишечного тракта

Обследовано 15 пациентов со злокачественными новообразованиями желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), из них 5 больных аденокарциномой желудка, 9 — колоректальной аденокарциномой и 1 — аденокарциномой желчного пузыря. Все больные получали трансфузии гемокомпонентов во время и/или после операции (в периоперационный период). Назначение ГТТ проводилось по клиническим показаниям, главными из которых были анемический и геморрагический синдромы. Курс гемотрансфузий включал: эритроцитоконцентрата — 400–16 000 мл (медиана — 1200 мл), свежезамороженной плазмы — 400–1600 мл (медиана — 800 мл). Все больные, включенные в настоящее исследование, обследовались перед операцией, через 1–3 сут и через 7–10 сут после оперативного вмешательства. Динамика иммунологических показателей указанных больных приведена в табл. 3-18.

Таблица 3-18

Динамика иммунологических показателей у больных злокачественными новообразованиями ЖКТ, получавших хирургическое лечение с использованием ГТТ

Показатели	До операции (n = 15)	1–3-е сутки после операции (n = 15)	7–10-е сутки после операции (n = 15)	p1–2
CD3 (%)	58,1±2,6	61,5±2,9	53,2±3,4	н. д.
CD4 (%)	34,7±2,8	17,0±3,0	15,7±2,5	< 0,001
CD8 (%)	13,2±2,1	21,7±2,4	16,2±2,5	< 0,01
CD4/CD8	2,3±0,3	1,3±0,2	1,2±0,1	< 0,02
CD22 (%)	14,8±2,1	19,3±2,2	17,5±3,5	н. д.
DR+ (%)	19,5±2,0	21,3±3,2	20,4±2,8	н. д.
CD25 (%)	18,4±1,9	23,2±2,1	21,0±3,0	< 0,1
NK-активность (%)	50,9±3,9	55,9±4,5	52,6±6,5	< 0,02
ФНО-α (сыв.), пг/мл	352,4±171,2	1107,4±321,4	1005,6±327,4	< 0,05

Примечание:

p1–2 — достоверность различий между показателями до и через 1–3 сут после операции.

Полученные данные свидетельствуют, что после операции, проведенной с применением ГТТ, в группе больных со злокачественными новообразованиями ЖКТ наблюдалось уменьшение числа CD4+-моноклеаров (которое было исходно выше, чем в группе здоровых лиц) и увеличение числа CD8+ — лимфоцитов (ис-

ходно сниженных, по сравнению с контрольной группой), что приводило к снижению соотношения CD4/CD8. Одновременно увеличивалось количество активированных В-лимфоцитов, имеющих маркер CD25. Аналогичные изменения выявлены в разнообразных группах трансфузируемых больных, получавших ГТТ [Klatzmann D. et al., 1983; Biberfeld G. et al., 1984], и в целом отражают известную закономерность роста числа Т-супрессоров после алогенных трансфузий и развития антительного ответа к аллоантигенам [Gascon P. et al., 1984]. Выявленные изменения численности субпопуляций лимфоцитов были достаточно продолжительными и сохранялись к 7–10-му дню после операции, что отличает их от таковых, обусловленных хирургическим стрессом, которые, как правило, проходят к этому сроку [Мешалкин Е. Н. и др., 1981; Spanos P. K. et al., 1982].

В изучаемой группе зарегистрирован значительный подъем сывороточного уровня ФНО- α в послеоперационном периоде. В аналогичном исследовании L. Quaintiliani и соавт. (1991) не выявили достоверных различий по способности продуцировать ФНО- α между больными, получавшими и не получавшими ГТТ, однако базальная продукция ФНО- α у трансфузируемых больных была несколько выше, чем в группе сравнения во всех точках исследования, что и может приводить к повышению сывороточной концентрации этого цитокина. В цитируемом исследовании выявили достоверно более высокую способность продуцировать ИЛ-2 в группе больных, не получавших ГТТ, что согласовывалось с менее тяжелым клиническим статусом пациентов этой группы.

Естественная цитотоксичность мононуклеаров у лиц со злокачественными новообразованиями ЖКТ достоверно повысилась после оперативного лечения и периперативных гемотрансфузий, что отличает данную группу больных от много-трансфузируемых пациентов. Отсутствие угнетения НК-активности у больных колоректальным раком, получавших периперативные трансфузии эритроцитсодержащих гемокомпонентов, аналогичных отечественному концентрату эритроцитов, зарегистрировано и в работе О. Mathiesen и соавт. (1994). При исследовании естественной цитотоксичности и послеоперационных инфекций у больных колоректальным раком L. Jensen и соавт. (1992) определили, что у больных, получавших гемокомпоненты, обедненные лейкоцитами, естественная цитотоксичность не угнеталась, в отличие от больных, получавших цельную кровь. Характер применяемых в нашем исследовании гемокомпонентов, по-видимому, определил полученный нами результат, свидетельствующий о некотором повышении НК-активности в послеоперационном периоде.

Незначительность изменений в иммунном статусе больных со злокачественными новообразованиями ЖКТ, зарегистрированных в динамике ГТТ, заставляет согласиться с мнением А. J. Lawgense и соавт. (1990), что частые рецидивы колоректального рака не могут быть объяснены иммунологическим действием ГТТ.

3.2.2.2. Влияние гемотрансфузий на иммунный статус кардиохирургических пациентов

Обследовано 12 больных ишемической болезнью сердца (ИБС) после аортокоронарного шунтирования и 20 больных с ревматическими пороками сердца, оперированных на клапанах сердца с применением аппарата искусственного кровообращения (АИК). Назначение ГТТ проводилось по клиническим показаниям, главными из которых были анемический и ДВС-синдромы. Для заполнения АИК

использовали цельную донорскую кровь 1–2-дневного срока хранения, консервированную на глюгицире. Перфузии проводились на АИК (Американская оптическая компания, США) с первичным объемом заполнения 1600 мл в условиях управляемой гемодилюции и гипотермии 26,0–24,7 °С. Все больные получали трансфузии гемокомпонентов во время и/или после операции (периперативно). Курс гемотрансфузий включат: эритроцитоконцентрат — 1200–2400 мл (медиана — 1600 мл), свежзамороженную плазму — 400–2400 мл (медиана — 1200 мл). Лица, включенные в настоящее исследование, обследовались перед операцией, через 1–3 сут и через 7–10 сут после оперативного вмешательства. Динамика иммунологических показателей у обследованных больных приведена в таблицах 3-19 и 3-20.

Таблица 3-19

Динамика иммунологических показателей у больных ИБС, получавших хирургическое лечение с использованием ГТТ

Показатели	До операции (n = 12)	1–3-е сутки после операции (n = 12)	7–10-е сутки после операции (n = 12)	p _{1–2}
CD3 (%)	64,0±2,8	62,0±2,7	64,8±2,7	—
CD4 (%)	14,4±0,9	26,5±4,2	17,4±1,5	< 0,02
CD8 (%)	14,8±2,2	26,8±3,2	15,9±2,3	< 0,01
CD4/CD8	1,3±0,2	1,1±0,1	1,2±0,1	—
CD22 (%)	12,4±1,2	23,2±4,7	15,4±2,9	< 0,05
DR+ (%)	19,1±2,1	27,0±3,5	13,5±3,2	—
CD25 (%)	16,1±2,7	25,0±3,0	15,9±2,5	< 0,05
NK-активность (%)	61,2±2,7	45,1±4,2	61,6±3,1	< 0,01
ФНО-α (сыв.), пг/мл	813,6±198,6	860,4±123,2	776,5±118,6	—

Примечание:

p_{1–2} — достоверность различий между показателями до и через 1–3 сут после операции.

Полученные данные свидетельствуют, что у больных данных групп общим было снижение NK-активности и отсутствие достоверных изменений концентрации ФНО-α. В отличие от вышеперечисленных показателей, количественные изменения субпопуляций лимфоцитов были неодинаковыми. У больных ИБС в динамике лечения отметили возрастание числа Т-хелперов (изначально сниженных), Т-супрессоров, В-лимфоцитов (CD22+) и активированных В-лимфоцитов (CD25+). После протезирования клапанов сердца зарегистрировали только снижение общего числа Т-лимфоцитов (CD3+), без достоверного изменения численности субпопуляций CD4+ и CD8+. Изменение соотношения CD4/CD8 имело отчетливую тенденцию к повышению, что отличает эту группу больных от лиц с опухолями ЖКТ и ИБС. Сходные изменения выявлены и в исследовании К. Shimizu и S. Kitoh (1982), которые выявили увеличение числа иммуноглобулинсин-

тезирующих клеток у «иммунологически нормальных» лиц, которые получали ге-мокомпоненты во время операций на сердце. Не вызывает сомнения, что для больных ИБС характерны менее выраженные иммунные нарушения, чем для больных ревматическими пороками сердца. Увеличение числа лимфоцитов с дифференцировочными кластерами активированных В-лимфоцитов (CD22, CD25) предшествует и/или сопровождается увеличением числа иммуноглобулинсинтезирующих клеток в циркуляции.

Таблица 3-20

Динамика иммунологических показателей у больных ревматическими пороками сердца, получавших хирургическое лечение с использованием ГТТ

Показатели	До операции (n = 20)	1—3-е сутки после операции (n = 18)	7—10-е сутки после операции (n = 17)	p1-2
CD3 (%)	63,4±2,9	50,6±2,5	51,0±4,1	< 0,001
CD4 (%)	18,1±2,2	21,3±2,1	22,9±3,1	—
CD8 (%)	18,2±2,2	15,5±2,3	18,7±2,5	—
CD4/CD8	1,2±0,2	1,7±0,2	1,2±0,1	< 0,1
CD22 (%)	16,7±2,2	15,5±2,3	18,7±2,5	—
DR+ (%)	24,0±2,7	24,1±2,4	24,4±2,5	—
CD25 (%)	19,9±2,1	15,2±2,1	25,1±2,5	—
NK-активность (%)	65,4±3,5	54,9±3,9	66,6±5,0	< 0,05
ФНО-α (сыв.), пг/мл	834,6±123,5	795,4±311,6	684,7±210,0	—

Примечание:

p1-2 — достоверность различий между показателями до и через 1—3 сут после операции.

Динамика иммунологических показателей в обследованных группах хирургических больных продемонстрировала, что различные гемотрансфузионные программы и исходный иммунологический статус определяют значительное разнообразие посттрансфузионных изменений (рис. 3-12—3-15). Обращает внимание, что в группе больных злокачественными опухолями ЖКТ, как и у больных лимфомами, не отмечено снижения естественной цитотоксичности после лечения с применением ГТТ, при том, что исходно этот показатель значительно ниже, чем у здоровых лиц. Разнонаправленная динамика определена также для субпопуляций CD4+, CD8+, концентрации сывороточного ФНО-α после периперативных трансфузий, уровень которого существенно повышался у онкологических больных и не изменялся в группах сравнения.

Приведенные данные свидетельствуют о неоднородности посттрансфузионных изменений и их связи с объемом и особенностями трансфузионного пособия и характером патологического процесса.

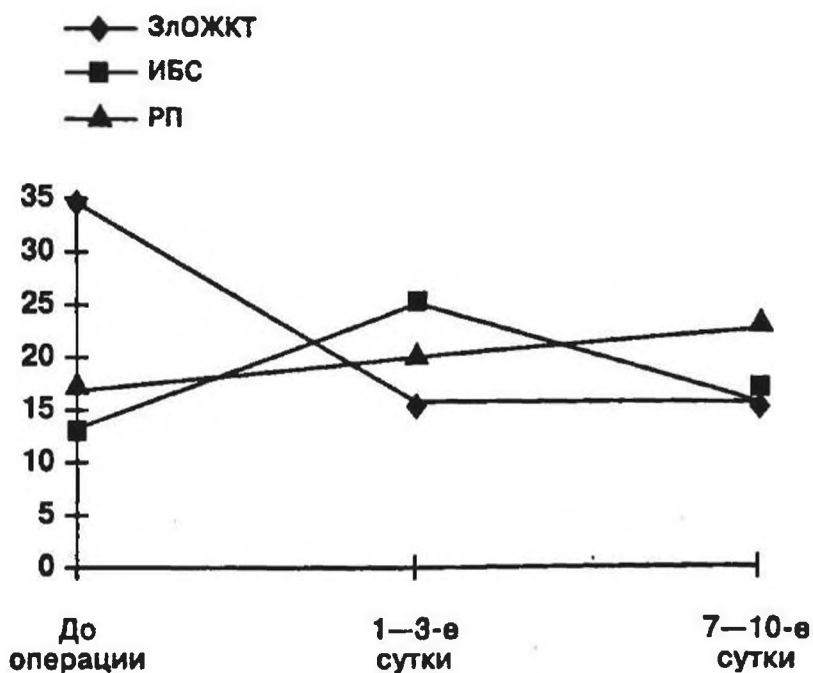


Рис. 3-12. Изменение числа Т-хелперов у хирургических больных в динамике лечения. ЗЛОЖКТ — больные злокачественными опухолями ЖКТ, ИБС — больные до и после аортокоронарного шунтирования, РП — больные до и после протезирования клапанов сердца.

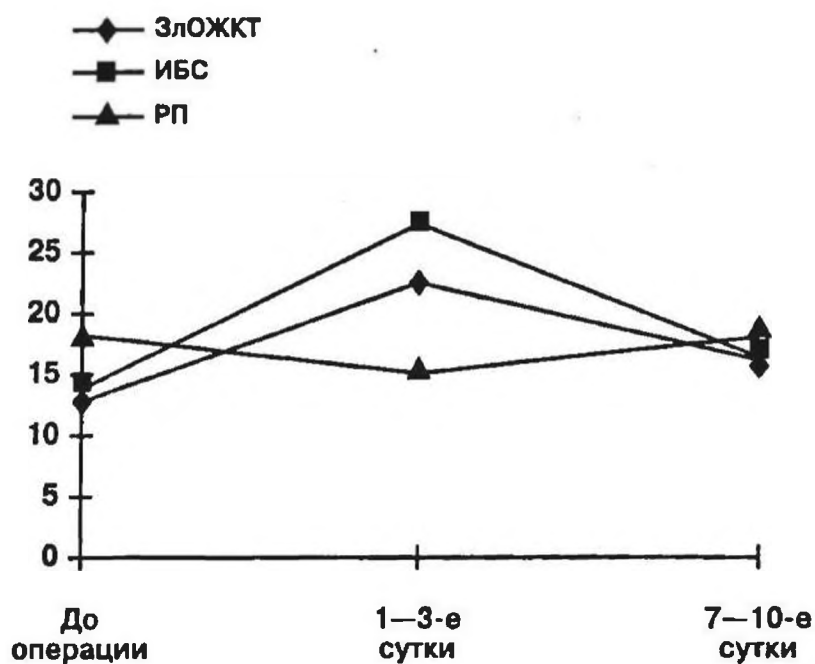


Рис. 3-13. Изменение числа Т-супрессоров у хирургических больных в динамике лечения. Обозначения те же, что на рис. 3-12.

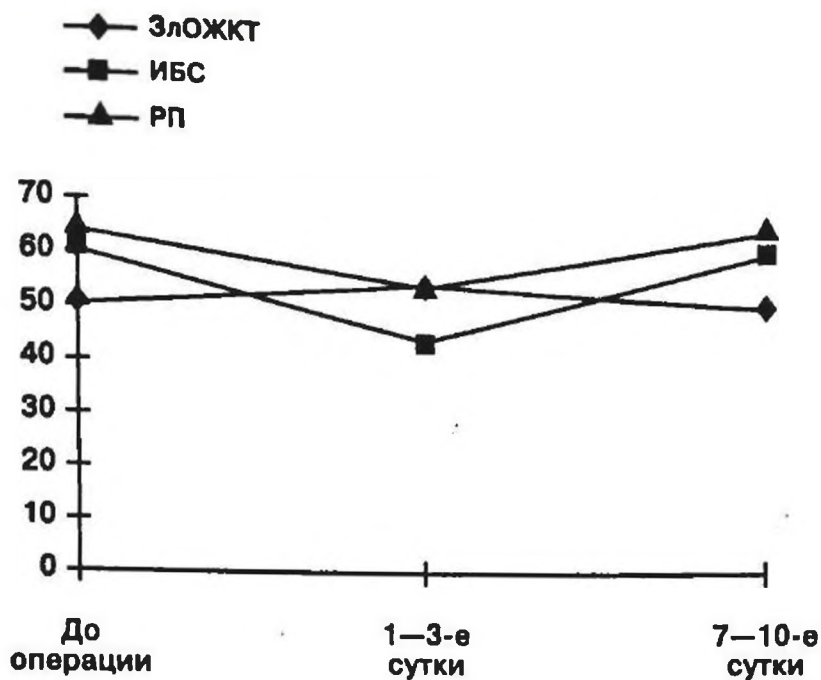


Рис. 3-14. Динамика NK-активности у хирургических больных в динамике лечения. Обозначения те же, что на рис. 3-12.

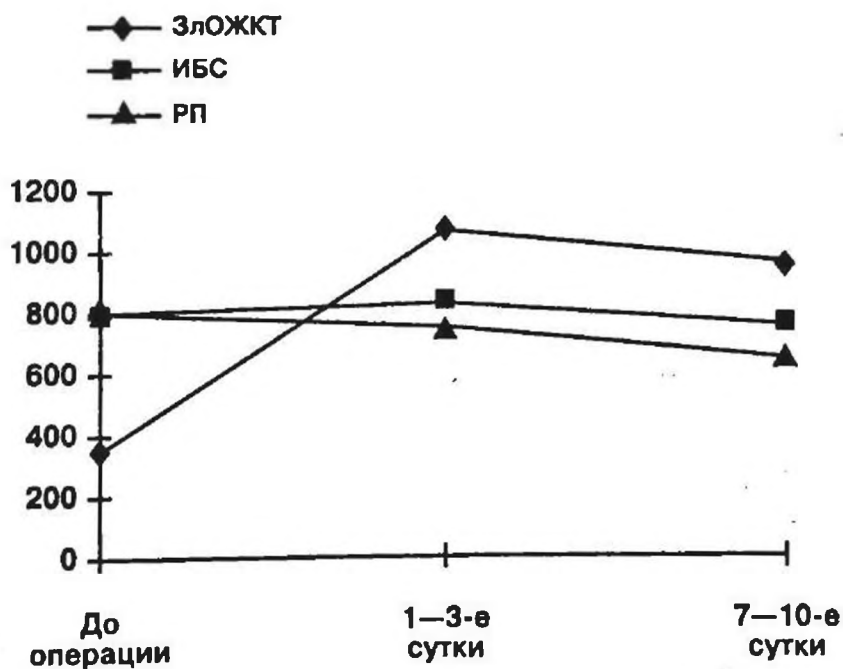


Рис. 3-15. Изменение концентрации ФНО-α в сыворотке крови хирургических больных в динамике лечения. Обозначения те же, что на рис. 3-12.

3.2.2.3. Влияние гемотрансфузий на иммунный статус больных светлоклеточным раком почки

Обследовано 20 больных светлоклеточным раком почки, из них 10 пациентов до оперативного лечения, не получавших ГТТ (группа 1), и 10 больных, у которых нефрэктомия проведена в среднем $7,6 \pm 0,8$ лет назад, получавших периоперативные гемотрансфузии (группа 2). Задачей изучения этих лиц было проследить возможные иммунологические нарушения, связанные с ГТТ, в отдаленные сроки после лечения. Курс гемотрансфузий включал: эритроцитарной массы — 400–2000 мл (медиана — 800 мл), свежезамороженной плазмы — 400–1600 мл (медиана — 800 мл).

Результаты исследования субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у больных раком почки до и в отдаленные сроки после нефрэктомии представлены в табл. 3-21. Не выявлено достоверных различий по числу Т-лимфоцитов (CD3+) у обследованных больных и здоровых лиц. Однако в группе больных с неудаленной опухолью двое пациентов имели снижение числа Т-лимфоцитов (37,5 % и 39,2 %). Средние значения числа Т-хелперов (CD4+), Т-супрессоров (CD8+) и их соотношения у больных раком почки также не отличались достоверно от показателей здоровых лиц. Однако снижение соотношения CD4+/CD8+-лимфоцитов ниже величины 1,2 выявлено у трех пациентов с неудаленной опухолью и только у одного больного в отдаленные сроки после нефрэктомии. Аналогичные изменения численности Т-лимфоцитов, хелперов, супрессоров и их соотношения отмечены и в работе G. Dadian и соавт. (1994).

Таблица 3-21

Субпопуляции лимфоцитов у больных раком почки до лечения (группа 1) и после лечения с применением ГТТ (группа 2)

Субпопуляции (%)	Контрольная группа, n = 18	Группа 1 (n = 10)	Группа 2 (n = 10)
CD3+–	64,3 $\pm$ 4,5	58,5 $\pm$ 5,6	68,8 $\pm$ 2,5
CD4+–	32,1 $\pm$ 2,9	33,8 $\pm$ 5,6	35,5 $\pm$ 4,9
CD8+–	18,0 $\pm$ 0,9	18,0 $\pm$ 2,7	18,6 $\pm$ 2,6
CD4+/CD8+	1,9 $\pm$ 0,4	1,7 $\pm$ 0,3	1,96 $\pm$ 0,3
CD22+–	17,1 $\pm$ 3,2	9,7 $\pm$ 1,5 **	12,5 $\pm$ 1,1
DR+	21,7 $\pm$ 1,6	16,1 $\pm$ 1,8 *	21,2 $\pm$ 1,7
CD25+–	13,1 $\pm$ 1,5	16,4 $\pm$ 1,5 *	18,8 $\pm$ 2,7 *

Примечание:

* $p < 0,05$;

** $p < 0,01$ между показателями больных и здоровых лиц.

Количество В-лимфоцитов (CD22+, DR+) было значительно снижено у неоперированных больных. Напротив, количество клеток с активационным маркером В-лимфоцитов (CD25+) было повышено у лиц, обследованных в отдаленные сроки после удаления почки с применением ГТТ. Интересно отметить, что подоб-

ное снижение числа В-лимфоцитов по маркерам CD20+ и DR+ обнаружено в группе больных колоректальным раком [Mathiesen O. et al., 1994], что свидетельствует о неслучайности данной находки.

Исследование активности натуральных киллеров (табл. 3-22) выявило достоверное снижение этого показателя в группах больных, более выраженное у лиц с неудаленной опухолью. Известно, что угнетение цитотоксичности и пролиферативной активности мононуклеаров периферической крови у больных раком почки обусловлено наличием растворимого иммуносупрессивного сывороточного фактора [Pummer K. et al., 1994].

Таблица 3-22

Функциональная активность иммунокомпетентных клеток у больных раком почки до лечения (группа 1) и после лечения с применением ГТТ (группа 2)

Параметры	Контрольная группа (n = 17)	Группа 1 (n = 10)	Группа 2 (n = 10)
Активность NK (%)	76,0±2,7	56,5±5,5 **	60,9±3,5 **
Продукция ФНО-α (пг/мл): базальная	25,0±11,5	14,0±9,0	28,0±5,0
стимулированная	695,4±215,2	952,3±380,7	870,1±270,4 *
Продукция ИЛ-1 (пг/мл): базальная	56,0±6,5	39,0±7,9	55,0±1,7
стимулированная	575,3±195,5	714,0±324,2	879,6±234,5

Примечание:

* $p < 0,05$ между показателями больных и здоровых лиц;

** $p < 0,01$.

Способность мононуклеаров продуцировать цитокины (ФНО-α и ИЛ-1β) у обследованных пациентов не отличалась значительно от таковой у здоровых лиц. В группе больных, обследованных до начала лечения, отмечено незначительное снижение базальной продукции цитокинов, однако нормальная стимулированная выработка ФНО-α и ИЛ-1β свидетельствует о сохранности функциональных резервов иммунокомпетентных клеток в этой группе больных.

Определение сывороточной концентрации цитокинов (ФНО-α и ИЛ-β) показало достоверное повышение уровня ФНО-α как до, так и после нефрэктомии (рис. 3-16). Такое повышение концентрации ФНО-α может быть связано со значительной разницей в возрасте между изучаемыми больными и донорами, составляющими контрольную группу. Известно, что уровень ФНО-α растет с возрастом у здоровых лиц [Effors R. et al., 1991]. О некотором повышении концентрации ФНО-α в сыворотке крови больных раком почки сообщается также в исследовании С. Dosquet и соавт. (1994).

ИЛ-6 в сыворотке крови не выявлен у 19 из 20 обследованных больных. Только у одного больного, оперированного по поводу рака почки в 1986 г. и не имевшего рецидивов опухолевого роста, концентрация ИЛ-6 была повышена до 8 ЕД/мл, что, вероятно, не связано с изучаемым заболеванием. Отсутствие ИЛ-6 в плазме

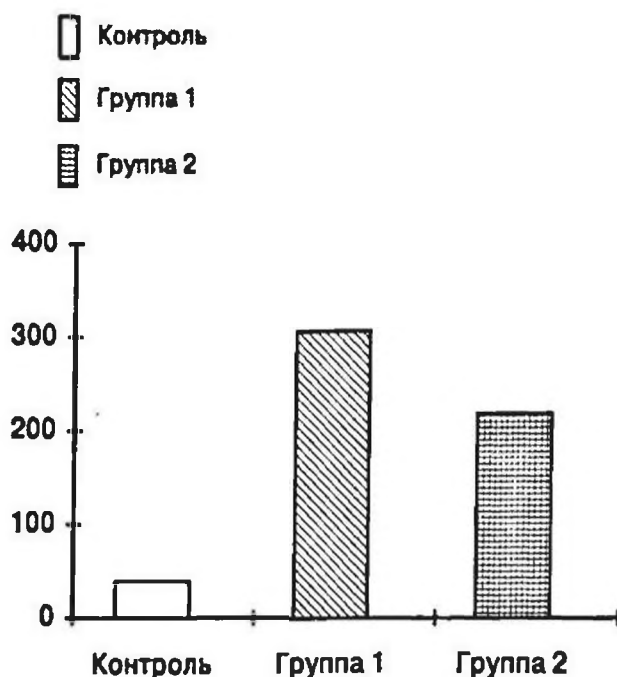


Рис. 3-16. Сывороточная концентрация ФНО у больных раком почки до лечения (группа 1) и в отдаленные сроки после лечения с использованием гемотрансфузий (группа 2).

крови исследуемых больных было неожиданным, так как в исследовании J.-Y. Blay и соавт. (1992), проведенном на 138 больных раком почки, повышение его уровня зарегистрировали в 48 % случаев, причем высокая концентрация ИЛ-6 была ассоциирована с метастазированием опухоли. Полученный нами результат, возможно, связан с тем, что никто из обследованных лиц не имел метастазов опухоли до или после нефрэктомии.

Таким образом, для исследования влияния ГТТ на иммунный статус онкологических больных проведен динамический мониторинг в группах пациентов с неходжкинскими лимфомами, аденокарциномой желудка, почки и колоректальным раком. Клинические параметры больных лимфомами свидетельствуют, что проведение ГТТ ассоциировано с более тяжелыми формами заболевания, токсичной полихимиотерапией. Такая же закономерность была определена для больных опухолями почки [Manyonda I. I. et al., 1986], колоректальным раком [Quaintiliani L. et al., 1991] и раком желудка [Yamaguchi K. et al., 1990]. Следовательно, можно согласиться с мнением D. Francis (1991), что «в значительном числе случаев само по себе проведение ГТТ у онкологических больных может быть только индикатором худших вариантов прогноза, которые не могут быть легко распознаны рутинными методами, и что нет необходимости объяснять прямым иммунологическим действием гемотрансфузий на противоопухолевый иммунитет худший прогноз для некоторых трансфузируемых пациентов».

Больные НЛ, нуждающиеся в ГТТ, имели изначально более выраженные нарушения иммунной системы, проявляющиеся в снижении численности иммунорегуляторных субпопуляций CD4⁺ и CD8⁺, угнетении NK-активности и нарушении баланса цитокиновой сети. Исследование влияния ГТТ на иммунный статус больных НЛ проведено на фоне комплексной терапии, включающей ПХТ. Такая

терапия приводила к угнетению НК-активности у больных, не получавших трансфузий гемокомпонентов. Однако естественная цитотоксичность мононуклеаров периферической крови повысилась после лечения пациентов, получавших ГТТ. Следовательно, описанное у многотрансфузируемых больных снижение НК-активности после трансфузий оказалось не характерно для больных лимфомами. Такая же закономерность обнаружена и у больных с солидными опухолями ЖКТ: в этой группе отмечено возрастание НК-активности после проведения оперативного лечения с использованием ГТТ, но у больных в группах сравнения (без онкологической патологии), получавших больший объем гемокомпонентов и другие трансфузионные среды (в частности, цельную кровь), естественная цитотоксичность кратковременно угнеталась, восстанавливаясь к 7–10-му дню после операции. Такая динамика активности натуральных киллеров резко отличает онкологических больных от групп многотрансфузируемых реципиентов (с хронической почечной недостаточностью, гемофилией и другими врожденными заболеваниями системы крови), для которых показано достоверное угнетение естественной цитотоксичности после трансфузий крови или ее компонентов [Fehrman I. et al., 1983; Gascon P. et al., 1984; Серебряная Н. Б. и др., 1995]. Развитие таких разнонаправленных реакций, как представляется, может быть связано с различием в исходном иммунном статусе реципиентов: так, прогрессирование онкологических заболеваний происходит на фоне сниженной НК-активности, что нехарактерно для многотрансфузируемых реципиентов. Значительное влияние могут оказывать и программы трансфузионной терапии: при повторных гемотрансфузиях аллогенные детерминанты донорских гемокомпонентов распознаются рецепторами иммунокомпетентных клеток и иммуноглобулиновыми молекулами, образуя иммунные комплексы, концентрация которых резко повышается после очередной трансфузии. Значительное повышение уровня ЦИК модулирует функциональное состояние клеток моноцитарно-макрофагального ряда и натуральных киллеров по механизму блокады Fc-рецептора (с одновременным изменением цитокиновой, антиидиотипической сети и т. д.). Для онкологических больных повышение концентрации ЦИК не характерно, и описанный механизм супрессии НК-клеток не запускается. Напротив, проведение лечебных мероприятий в комплексе с ГТТ приводит к повышению (или нормализации) естественной цитотоксичности, что и продемонстрировано в настоящем исследовании [Жибурт Е. Б., 1997].

Другим характерным симптомом иммунологического дисбаланса у многотрансфузируемых больных является снижение иммунорегуляторного индекса CD4⁺/CD8⁺ [Lederman M. et al., 1983]. В обследованных группах онкологических больных не выявили однозначного угнетения этого параметра. У больных с НЛ после курса трансфузий отметили тенденцию к росту числа CD4⁺, CD8⁺ — лимфоцитов, что является благоприятным прогностическим признаком, при этом соотношение CD4⁺/CD8⁺ не снижалось. Напротив, у больных со злокачественными новообразованиями ЖКТ, иммунорегуляторный индекс (CD4/CD8), исходно повышенный, снижался после лечения и не отличался достоверно от аналогичного показателя лиц без онкологической патологии (кардиохирургические пациенты).

Проведение гемокомпонентной терапии значительно влияло на состояние В-клеточного звена иммунной системы. По окончании курса трансфузий у больных лимфомами возрастало число IC030⁺ и D38⁺ — лимфоцитов (В-лимфоциты с мембранным рецептором μ -IgM и плазматические клетки). При одновременном

увеличении концентрации сывороточного IgM такие изменения субпопуляционного состава лимфоцитов были расценены как развитие ранней фазы гуморального иммунного ответа, возможно, к антигенам перелитых гемокомпонентов. У лиц со злокачественными опухолями ЖКТ после курса ГТТ отметили увеличение количества активированных В-лимфоцитов, имеющих маркер CD25, что предшествует пролиферации антигенстимулированных В-лимфоцитов [Waldman T. et al., 1987]. Интересно, что количество В-лимфоцитов с активационным маркером CD25+ было повышено и у лиц, обследованных в отдаленные сроки, после удаления почки с применением ГТТ. В группах сравнения количество антигенстимулированных и активированных В-лимфоцитов возрастало у лиц с сохранным иммунитетом (у больных ИБС) и не изменялось значительно у больных с иммунопатологическими заболеваниями (у больных ревматическими пороками), что подтверждает результаты других исследователей [Shimizu K., Kitoh S., 1982].

Неожиданной находкой стало выявленное нами исходное снижение числа В-лимфоцитов (CD22+, DR+) у больных раком почки. Подобное снижение числа В-лимфоцитов по маркерам CD20+ и DR+ обнаружено в группе больных колоректальным раком [Mathiesen O. et al., 1994]. Представляется, что такое изменение числа В-лимфоцитов у больных с солидными опухолями не случайный факт, а закономерность, подтверждающая участие некоторых субпопуляций В-лимфоцитов в противоопухолевом иммунитете. Установлено, что субпопуляция В-лимфоцитов В-1, выделяемая по маркеру CD5+, выполняет первую линию противоопухолевой защиты организма, наряду с естественными киллерами и моноцитами/макрофагами [Ковальчук Л. В., Чередеев А. Н., 1991; Morris D. L., Rothstein T. L., 1994].

Изучение уровней цитокинов в группах онкологических больных продемонстрировало повышение сывороточной концентрации ФНО- α . После проведения ГТТ уровень ФНО- α значительно повысился у больных со злокачественными новообразованиями ЖКТ, чего не наблюдалось в группах больных без онкологической патологии. Такое повышение уровня ФНО- α можно связать с активацией противоопухолевого иммунитета после удаления опухоли, повышением цитотоксического потенциала иммунной системы, тем более, что эти изменения проходили на фоне возрастания естественной цитотоксичности натуральных киллеров.

Участие цитокинов в патогенезе лимфопролиферативных заболеваний обусловило особенности изменения сывороточных уровней и продукции цитокинов у больных НЛ при проведении ГТТ. В группе трансфузируемых пациентов возросла базальная и стимулированная продукция ИЛ-1 β , при этом значительных изменений продукции ФНО- α не выявлено и сывороточная концентрация этого цитокина понизилась, приблизившись к нормальным значениям. Эти изменения в целом благоприятны для больных агрессивными лимфомами, так как для них характерна избыточная продукция ФНО- α , который является аутокринным фактором роста для некоторых злокачественно трансформированных клонов.

В последнее время значительно возрос интерес к участию цитокинов в развитии посттрансфузионной иммуносупрессии, в том числе к роли TGF- β . Было показано, что значительные количества этого фактора содержатся в препаратах плазмы и в консервированной крови, причем его концентрация возрастает по мере хранения (максимум на 28-е сутки). У больных колоректальным раком была выявлена связь между развитием печеночных метастазов и рецидивов опухоли с количеством крови, попадающим в брюшную полость. Определили, что усиление

опухолевого роста ассоциировано с повышением концентрации TGF- β в брюшной полости. М. Kotsopoulou и соавт. (1999) полагают, что определенную роль в иммуносупрессии и развитии послеоперационных инфекций у кардиохирургических пациентов может играть TGF- β , накапливающийся в концентратах донорских тромбоцитов. Исследование динамики содержания и продукции цитокинов остается одним из наиболее перспективных направлений в клинической иммунологии, в том числе и в трансфузионной медицине.

3.3. Эфферентная гемокомпонентная терапия в профилактике и коррекции иммунодефицитного синдрома

Методы эфферентной терапии, заключающиеся в выведении из организма тех или иных компонентов периферической крови, обладают комплексным воздействием, которое объясняют тремя группами эффектов: специфических, неспецифических и дополнительных [Гуревич К. Я., 1993]. Среди специфических эффектов основным видом воздействия, наряду с детоксикацией, реологической коррекцией, выделяют иммунокоррекцию. Иммунокорректирующий эффект эфферентной терапии реализуется несколькими механизмами. Механическое удаление из кровеносного русла антигенов, «разгружая» на некоторое время специфические механизмы их элиминации, обеспечивает повышение надежности функционирования иммунной системы. Элиминация плазменных факторов иммунитета патогенетически оправдана при лечении аутоиммунных заболеваний. Важным механизмом иммунокоррекции является активация системы мононуклеарных фагоцитов при изменении баланса процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты [Выговский Р. У. и др., 1990; Гуревич К. Я., 1993; Михайлович В. А. и др., 1994]. Предполагают, что при проведении эфферентной терапии изменяется продукция и содержание эндогенных иммуномедиаторов [Гуревич К. Я., 1993].

Среди неспецифических реакций особое место занимает транзиторная иммуносупрессия с последующей иммуностимуляцией как компонента стрессорной реакции технологического и психоэмоционального генеза [Гуревич К. Я., 1993; Попов А. А. и др., 1994].

Методы эфферентной терапии моделируют биологические процессы удаления токсических и чужеродных субстанций, сочетая в себе в разной степени их разведение и связывание, биотрансформацию и элиминацию [Гуревич К. Я., 1993]. При инфекционной патологии эфферентные методы лечения относятся к этиопатогенетической терапии [Шведов А. К. и др., 1993].

При лечении раненых и пострадавших с инфекционными осложнениями показана эффективность сочетания эфферентной терапии с трансфузиями и эндолимфатическим введением иммунной плазмы [Ерюхин И. А. и др., 1993].

Комбинированное применение эфферентных методов в терапии пациентов с острыми инфекционными деструкциями легких и плевры позволило снизить удельный вес гнойно-инфекционных, гемокоагуляционных и тромбоэмболических осложнений и уменьшить летальность с 10,2 до 7,6 % [Дурягин Д. С. и др., 1991; Бельских А. Н. и др., 1993].

Методам эфферентной терапии придают ведущее значение при лечении пациентов с ПОН [Беляков Н. А. и др., 1992; Hirasawa H. et al., 1991].

Показана эффективность различных методов эфферентной терапии в профилактике и коррекции посттравматической и послеоперационной печеночной недостаточности, при токсико-аллергическом гепатите [Костюченко А. Л., Воробьев А. А., 1993; Лебедев В. Ф., 1993; Николау А. В. и др., 1993].

Среди операций эфферентной терапии максимальным иммунокорригирующим эффектом обладают плазмаферез и лимфоцитаферез [Неймарк М. И., Рогачевский П. А., 1994; Sjolin J., 1993].

Методы эфферентной и квантовой терапии признаны наиболее эффективными методами детоксикации и иммунокоррекции. Актуальной задачей считают необходимость научных исследований по изучению биомеханизмов воздействия эфферентных методов и квантовой терапии на основные патогенетические звенья при различной патологии [Ситников В. А. и др., 1994].

Современный подход предусматривает комплексное применение методов экстракорпоральной гемокоррекции [Шойхет Я. Н. и др., 1991; Гуревич К. Я., Костюченко А. Л., 1993; Неймарк М. И., Рогачевский П. А., 1994]. В то же время серьезной проблемой остается поиск критериев выбора и оценки эффективности эфферентной терапии [Костюченко А. Л., Белоцерковский М. В., 1993; Неймарк М. И., Рогачевский П. А., 1994]. Клиницисты часто используют перфузионные методы по принципу *ex juvantibus* [Бельков А. В., Писаревский А. А., 1992]. Для отслеживания иммунокорригирующего эффекта недостаточно используется анализ динамики субпопуляций лимфоцитов и уровень эндогенных иммуномодуляторов.

3.3.1. Эфферентная терапия в лечении пациентов с инфекционным эндокардитом

Учитывая выраженный детоксицирующий эффект плазмафереза, использовали этот метод эфферентной терапии для коррекции эндотоксемии. Лечебный плазмаферез осуществлялся на отечественном аппарате ПФ-0,5.

Этот метод применен у 16 пациентов с ИЭ с изолированным поражением трикуспидального клапана в септической фазе заболевания. У 12 из них были легочные осложнения в виде локальных или воспалительных инфильтратов в легких. Основным показанием к применению плазмафереза у этих больных была нарастающая эндогенная интоксикация, не поддающаяся фармакологической коррекции.

В течение 1–1,5 ч в режиме непрерывного фракционирования проводили экстракцию $1200,7 \pm 170,0$ мл плазмы. Перед проведением плазмафереза, с целью выброса токсичных веществ из тканевых депо, проводили кратковременный курс реокорригирующей терапии, включавшей в себя реополиглюкин, трентал, дроперидол и другие препараты.

Уже на 2–3-и сутки после проведения плазмафереза отмечали положительный клинический эффект от проведенной операции. Снижалась температура тела, потливость, улучшался аппетит, настроение больного, повышалась его двигательная активность.

Изменения некоторых биохимических показателей после плазмафереза приведены в табл. 3-23.

**Изменение некоторых биохимических показателей
после плазмафереза у пациентов с ИЭ**

Показатели	Единицы измерения	До плазмафереза	На 2—3-и сутки после плазмафереза
АСТ	ЕД/л	55,8±5,3	41,1±4,2
АЛТ	ЕД/л	91,8±7,2	51,3±6,8 *
Билирубин	ммоль/л	26,2±4,3	18,3±3,8
Креатинин	мкмоль/л	169±24	71±20 *
Азот мочевины	мг %	36,6±2,1	17,3±2,4 *
Общий белок	г/л	69,4±3,2	58,9±3,4
Альбумин	%	42,9±4,1	53,2±4,5 *
Глобулины	%	57,1±5,2	46,8±5,1 *

Примечание:

* Достоверное отличие ($p < 0,05$).

Снижались повышенные до операции показатели билирубина, креатинина, мочевины, глобулинов. Практически нормализовались показатели трансаминаз.

Начиная с 3—4-х суток после плазмафереза, отмечалась положительная рентгенологическая динамика процесса в легких. Всего в этой группе у 10 пациентов из 12 удалось в течение двух недель ликвидировать воспалительно-инфильтративные изменения в легких, а у двух других больных — значительно их уменьшить. Улучшались и показатели, характеризующие состояние иммунной системы. Данные представлены в табл. 3-24.

Таблица 3-24

**Изменение некоторых иммунологических показателей
после плазмафереза у пациентов с ИЭ (n = 16)**

Показатели	Единицы измерения	До плазмафереза	На 2—3-и сутки после плазмафереза
1	2	3	4
Температура тела	°С	38,8±0,2	37,9±0,1 *
ЛИИ	Усл. ед.	4,27±0,38	2,56±0,41 *
ЦИК	Усл. ед.	120,0±5,3	72,1±4,8 *
IgM	г/л	2,35±0,10	2,10±0,14
IgG	г/л	27,7±2,8	21,3±2,6
IgA	г/л	3,58±0,27	2,53±0,34 *

1	2	3	4
Лейкоциты	$10^9/\text{л}$	$12,2 \pm 1,1$	$9,2 \pm 0,9^*$
Лимфоциты	%	$16,3 \pm 2,1$	$14,6 \pm 2,4$
CD3+клетки	%	$51,5 \pm 5,4$	$57,4 \pm 4,6$
CD4+-клетки	%	$24,9 \pm 2,7$	$28,6 \pm 3,0$
CD8+-клетки	%	$35,6 \pm 3,1$	$28,0 \pm 3,3^*$
CD22+-клетки	%	$12,1 \pm 1,6$	$14,1 \pm 1,9$
DR+-клетки	%	$17,3 \pm 2,4$	$21,0 \pm 2,5$
CD25+-клетки	%	$11,4 \pm 0,9$	$15,0 \pm 1,0^*$
CD4/CD8	Отн. ед.	$0,7 \pm 0,2$	$1,1 \pm 0,2^*$
CD3/CD22	Отн. ед.	$4,2 \pm 0,7$	$4,1 \pm 0,7$
Активность натуральных киллеров	%	$28,5 \pm 8,2$	$45,0 \pm 5,7^*$
ФНО	нг/л	$0,43 \pm 0,06$	$0,41 \pm 0,07$

Примечание:

* Достоверное отличие ($p < 0,05$).

Элиминировались циркулирующие иммунные комплексы, снижался ЛИИ, нормализовались показатели иммуноглобулинов, снижался лейкоцитоз и температура тела больных.

Таким образом, использование плазмафереза у пациентов с ИЭ, у которых имелись клиничко-лабораторные признаки эндогенной интоксикации, способствовало снижению их, улучшению состояния больных, а у 10 пациентов из 12 позволило добиться купирования легочных осложнений, даже до санации основного очага в сердце, подготавливая больных к хирургическому вмешательству, так как хирургическая санация правых камер сердца и коррекция порока на высоте развития клинической картины сепсиса гораздо опаснее, чем вмешательство на фоне купированного инфекционного процесса.

3.3.2. Новые возможности оценки эффективности экстракорпоральных методов гемокоррекции в лечении больных с острыми гнойно-деструктивными заболеваниями легких и плевры

Способы экстракорпоральной гемокоррекции занимают важное место в лечении гнойно-деструктивных заболеваний легких и плевры [Орлов С. В., 1989]. В большинстве случаев экстракорпоральные трансфузиологические операции рассматриваются как детоксицирующие лечебные мероприятия, позволяющие пережить кризис декомпенсации детоксицирующих систем и приблизиться к нормометаболическому пути функционирования организма.

Объективизация показаний и диагностический мониторинг экстракорпоральной гемокоррекции базируется на данных клинических и лабораторных исследований. При этом существует необходимость контролировать состояние реактивности и гармоничности работы подсистем организма, оценивать адаптационные резервы и уравновешенность различных видов метаболизма. Требованиями к диагностическим исследованиям в этом плане являются доступность, оперативность и высокая информативность. Наряду с расширением арсенала диагностических методов, следует оценить возможность получения дополнительной информации из результатов рутинных лабораторных исследований, в частности, общеклинического анализа периферической крови.

Представления об общем адаптационном синдроме и адаптационных реакциях организма [Гаркави Л. Х. и др., 1990] в значительной мере связаны с оценкой количественно-качественных изменений лейкоцитарной формулы периферической крови. При использовании математических интегральных показателей появляются дополнительные возможности оценки этих изменений.

По результатам общеклинического исследования крови оценивали интегральные показатели, учитывающие качественный состав клеточных элементов гемограмм:

- 1) лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) по Я. Я. Каль-Калифу (1941), отражающий уровень эндогенной интоксикации и тканевого распада:

$$\text{ЛИИ} = \frac{(4 \times \text{миел.} + 3 \times \text{метамиел.} + 2 \times \text{пал.} + 1 \times \text{сегм.}) \times (\text{пл. кл.} + 1)}{(\text{мон.} + \text{лимф.}) \times (\text{эоз.} + 1)}$$

где миел. — миелоциты; метамиел. — метамиелоциты; пал. — палочкоядерные; сегм. — сегментоядерные; пл. кл. — плазматические клетки; мон. — моноциты; лимф. — лимфоциты; эоз. — эозинофилы. Нормальные значения ЛИИ: 0,3–1,5 усл. ед.;

- 2) энтропия лейкоцитарной формулы крови (ЭЛФК) [21] — интегральный показатель качественного состава лейкоцитов периферической крови. Информация о лейкоцитах, содержащаяся в индивидуальной лейкоцитарной формуле крови, количественно определяется как энтропия этой формулы в соответствии с соотношением К. Э. Шеннона (1963):

$$H = - \sum_{i=1}^n \frac{a_i}{100} \log_2 \left(\frac{a_i}{100} \right),$$

где H — энтропия лейкоцитарной формулы крови (ЭЛФК) в отн. ед.; $i = 1, 2 \dots n$ — число популяций лейкоцитов в лейкограмме (нейтрофилы, палочкоядерные и сегментоядерные, лимфоциты, моноциты, эозинофилы, базофилы); a_i — процентное содержание i -й группы лейкоцитов в лейкограмме. Нормальной лейкоцитарной формуле соответствует диапазон ЭЛФК от 56 до 67 %. Эффективное использование ЭЛФК показано при диагностике предонкологических состояний [Тихончук В. С. и др., 1992];

- 3) число признаков напряженности, неполноценности адаптационной реакции (ЧПН) [Гаркави Л. Х. и др., 1990], которое отражает уровень реактивности организма. По гемограмме определяют 5 таких признаков: 1-й — количество лейкоцитов менее 4 млрд/мл и более 8 млрд/мл; 2-й — содержание моноцитов ме-

нее 4 % или более 7 %; 3-й — содержание эозинофилов менее 1 % или более 6 %; 4-й — сдвиг лейкоцитарной формулы влево; 5-й — базофилия.

Анализ изменений адаптационных реакций организма использовали при проведении экстракорпоральных способов гемокоррекции в лечении 19 больных с острыми инфекционными деструкциями легких и плевры (13 — острый абсцесс легкого, по 2 — гангрена легкого и эмпиема плевры, по 1 — двусторонняя абсцедирующая пневмония и гангренозный абсцесс легкого).

Проведение экстракорпоральных операций гемокоррекции заключалось в комбинации плазмообмена (60—80 % объема циркулирующей плазмы ОЦП), с плазмосорбцией (70—80 % ОЦП) на углеволокнистых сорбентах и гемоксигенацией в рамках единой экстракорпоральной операции у 14 больных на фоне перфузионной инфузионно-трансфузионной подготовки. У 5 пациентов экстракорпоральная детоксикация проводилась без предшествующей подготовки и заключалась в выполнении плазмафереза или плазмообмена.

В зависимости от исходов лечения больные были разделены на 2 группы: 1-я группа — 13 человек — клиническое улучшение и благоприятный исход; 2-я группа — 6 человек — неблагоприятный клинический исход (3 — летальный исход, 2 — удаление легкого, 1 — повышение эндотоксикоза после операции плазмафереза).

По результатам общеклинического исследования крови при поступлении в стационар, после первой перфузии и по завершении лечения оценивали интегральные показатели, учитывающие качественный состав клеточных элементов гемограмм.

Результаты исследований приведены в табл. 3-25. Улучшение общеклинического состояния и уменьшение проявлений эндотоксикоза у пациентов 1-й группы сопровождалось нормализацией ЛИИ, причем детоксицирующий эффект был очевиден уже после первой операции экстракорпоральной гемокоррекции. Увеличение ЛИИ у пациентов 2-й группы свидетельствовало как о росте интоксикации, напряженности, так и о неадекватности компенсаторных механизмов и могло рассматриваться как признак неэффективности экстракорпоральных методов лечения и плохого прогноза.

Для нормальной жизнедеятельности противопоказаны как максимальная определенность, так и максимальная неопределенность лейкоцитарного состава периферической крови. Положительная динамика ЭЛФК в 1-й группе отражала процессы оптимизации информации, содержащейся в лейкоцитарной формуле. Патологическое состояние гемопоэза у пациентов 2-й группы было устойчиво и не поддавалось коррекции.

О повышении реактивности организма свидетельствовало уменьшение признаков неполноценности адаптационных реакций в 1-й группе. Позитивные изменения ЭЛФК и ЧПН позволяют сделать вывод о саногенном влиянии экстракорпоральной детоксикации, направленном на повышение адаптационных резервов организма больных. В то же время исходно у более тяжелых по клиническому состоянию пациентов 2-й группы наблюдается тенденция к срыву механизмов адаптации и углублению нарушений гомеостаза.

Характерно, что у больных 1-й группы в качестве детоксицирующей перфузии применялись способы внеорганизменной обработки крови, направленные на сочетание процессов элиминации (плазмообмен), сорбции (плазмосорбция) и биотрансформации (гемоксигенация) токсинов, наряду с более расширенным воздействием на синдром эндотоксикоза: масштабный характер проведения перфузии и

предперфузионная подготовка, направленная на деблокирование системы микроциркуляции и вывод токсинов из зон редуцированного кровотока в сосудистое русло непосредственно перед перфузией. Очевидно, что у больных 1-й группы проведение комбинированных способов детоксикации оказывает более благоприятное воздействие на состояние реактивности и гармоничности работы подсистем организма и позволяет повысить и оптимизировать адаптационные резервы больного.

Таблица 3-25

**Интегральные показатели крови в процессе
эфферентной терапии у больных гнойно-деструктивными
заболеваниями легких и плевры ($\bar{x} \pm Sx$)**

Показатель, сроки исследования	1-я группа, n = 13	2-я группа, n = 6	Все пациенты, n = 19
ЛИИ:			
при поступлении	4,71 $\pm$ 1,72	6,51 $\pm$ 2,71	5,33 $\pm$ 1,3
1-й день п/операции	1,23 $\pm$ 0,21 *	25,78 $\pm$ 17,1	8,98 $\pm$ 6,16
при выписке	0,58 $\pm$ 0,14 **	9,72 $\pm$ 3,59 ***	3,46 $\pm$ 1,32
ЭЛФК:			
при поступлении	54,3 $\pm$ 1,9	52,6 $\pm$ 5,1	53,7 $\pm$ 1,8
1-й день п/операции	60,1 $\pm$ 2,4 *	53,5 $\pm$ 5,1	58,0 $\pm$ 2,2
при выписке	61,5 $\pm$ 1,4 **	53,0 $\pm$ 3,3	58,9 $\pm$ 1,5 **
ЧПН:			
при поступлении	2,46 $\pm$ 0,26	2,50 $\pm$ 0,71	2,48 $\pm$ 0,26
1-й день п/операции	2,38 $\pm$ 0,17	2,67 $\pm$ 0,53	2,48 $\pm$ 0,19
при выписке	1,23 $\pm$ 0,17 **	2,83 $\pm$ 0,35 ***	1,74 $\pm$ 0,26 **

Примечание:

p < 0,05 между показателями:

* при поступлении и в 1-й день после операции;

** при поступлении и по окончании лечения;

*** больные 1-й и 2-й групп.

Использование интегральных показателей крови в диагностическом мониторинге проведения экстракорпоральных способов гемокоррекции у больных гнойно-деструктивными заболеваниями легких и плевры позволяет повысить информативность традиционных диагностических тестов, улучшить оценку эффективности терапии, наметить пути прогнозирования исхода и индивидуализации лечения. Использование интегральных показателей крови перспективно при компьютерной оценке результатов лабораторных исследований и разработке экспертных диагностических систем.

3.4. Квантовая гемотерапия в профилактике и коррекции иммунодефицитного синдрома

Аутотрансфузия УФ-облученной крови (АУФОК), являющаяся наиболее распространенным видом квантовой гемотерапии, применялась при острых и хронических воспалительных процессах различной локализации, острых и хрониче-

ских бактериальных и вирусных инфекциях, нейроциркуляторной дистонии, ишемической болезни сердца, остром тромбофлебите и других заболеваниях вен, облитерирующем энтеритите и облитерирующем атеросклерозе, лимфостазе, трофических язвах, длительно не заживающих ранах, аутоиммунных заболеваниях, патологии эндокринной системы, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки и многих других заболеваниях, а также с целью предоперационной подготовки и профилактики послеоперационных осложнений [Дуткевич И. Г. и др., 1986; Механизмы влияния облученной..., 1986]. Столь широкий перечень различных заболеваний не позволяет конкретизировать механизм действия, специфический саногенный эффект и лечебные возможности АУФОК.

Выделяют 3 основные фазы действия АУФОК: 1-я — первичные фотоэффекты на молекулярно-клеточном уровне; 2-я — образование биологически активных веществ в крови; 3-я — активация нейрогуморальных систем организма [Поташов Л. В. и др., 1986]. Большинство авторов говорит об общеукрепляющем, десенсибилизирующем, стимулирующем, противовоспалительном и метаболическом действии АУФОК, в основе которого лежит улучшение кислородтранспортной функции крови, ее реологических свойств и микроциркуляции, стимуляция гемопоэза и процессов регенерации [Дуткевич И. Г. и др., 1986; Поташов Л. В. и др., 1986].

Имеющиеся в доступной литературе данные о том, что после АУФОК снижается агрегационная способность эритроцитов и показатели вязкости крови, повышается электрофоретическая подвижность эритроцитов и тромбоцитов, увеличивается осмотическая резистентность эритроцитов и кислородная емкость крови, уменьшается количество эритроцитов и тромбоцитов, возрастает активность фагоцитов, повышается содержание катехоламинов в крови, повышается титр антител и комплемента, активируется антиоксидантная система и т. д. [Вихриев Б. С. и др., 1986; Дуткевич И. Г. и др., 1986; Левин А. О. и др., 1986; Шабуневич Л. В. и др., 1986], достаточно критичны со следующих позиций: 1) в клинических исследованиях обычно сравнивают две группы пациентов: с применением АУФОК и без такового (контроль), соответственно невозможно оценить неспецифический эффект процедуры: венепункция, эксфузия крови, ее контакт с поверхностью устройства для облучения, реинфузия и др.; 2) как правило, для лабораторного исследования забирают кровь из вены (капилляра) пациента, что обосновано с клинических позиций, однако не позволяет оценить непосредственное влияние УФО на кровь, находящуюся в экстракорпоральном контуре (например, в стендовом опыте установлен стимулирующий эффект УФОК на агрегацию тромбоцитов [Оболенская К. Д. и др., 1986], что требует особого внимания при разработке программ реокоррекции); 3) многие фактические данные нуждаются в серьезной проверке с использованием современных методов исследований (например, появление резус-антигенной активности после УФО резус-отрицательных эритроцитов [Филатов А. Н., Косумов Г., 1937]); 4) безусловная эффективность проведенного лечения, практически отсутствующие противопоказания с одной стороны, а с другой — дозозависимость биологических эффектов УФО.

Недостаточно изучено влияние УФО на иммунокомпетентные клетки, иммунную систему и неспецифическую резистентность. Неясным остается механизм лечебного эффекта АУФОК при сепсисе.

Применение АУФОК при активном воспалительном процессе с аутоиммунным компонентом приводит к выраженному клиническому ухудшению, резкой

стимуляции гуморального иммунитета, повышению ЛИИ, возрастанию количества α_2 -глобулинов и сиаловой кислоты [Филькенштейн И. П. и др., 1986].

Представляется целесообразным более глубоко изучить механизм иммуномодифицирующего действия АУФОК при вялотекущих процессах на фоне иммунодефицита [Барановский А. Ю., 1986]. По сложившимся представлениям стимуляция клеточного иммунитета под действием УФО носит неспецифический характер: частичная фотохимическая деструкция мембран иммунокомпетентных клеток сопровождается выходом (десорбцией с клеточной поверхности) неких регуляторных биомолекул, способствующих активации созревания Т-лимфоцитов [Барановский А. Ю., 1986], моноцитопоза и активации клеток СМФ [Гаврилова А. Ф. и др., 1986]. При УФО лимфоцитов в дозе 1600 Дж/м^2 у Т-лимфоцитов повышается (с увеличением дозы — понижается) экспрессия рецепторов, участвующих в реакции розеткообразования, В-лимфоциты по этому критерию достаточно резистентны к УФО [Самойлова К. А., Дуткевич И. Г., 1986]. УФОК стимулирует поглотительную активность фагоцитов (тест с латексом) [Оболенская К. Д. и др., 1986]. Не установлено непосредственного влияния УФО на показатели ДНК-синтетической активности лимфоцитов периферической крови человека; авторы подчеркивают необходимость изучения регуляторных субпопуляций лимфоцитов при УФОК [Волгарева Е. В., Самойлова К. А., 1986]. Получены данные о стимуляции роста фибробластов под действием супернатанта УФ-облученных лейкоцитов, однако медиаторы ростстимулирующей активности не идентифицированы [Белишева Н. К. и др., 1986]. УФОК повышает активность антител и комплемента [Самойлова К. А. и др., 1986].

При хронических вялотекущих бактериальных инфекциях АУФОК приводит к повышению уровня специфических антител. Исследование активности эндогенных иммуномодуляторов позволит оценить правильность предположения о нормализации баланса активности хелперов и супрессоров при адекватном проведении АУФОК [Филькенштейн И. П. и др., 1986].

Кроме этого, следует выделить неспецифический стрессорный эффект АУФОК. Стресс — одна из реакций, обеспечивающих повышение адаптационных возможностей организма. Стрессорная реакция при действии стимулов любого рода характеризуется: 1) стандартными феноменами в реакциях определенных систем организма; 2) общими закономерностями развития ответа на стимул независимо от вида стрессора; 3) механизмами, обеспечивающими реализацию закономерностей развития стрессорного ответа, общими при действии любых стрессоров. При стрессе в крови увеличивается содержание кортикостероидных гормонов, катехоламинов, пролактина и снижается концентрация тиреотропного, соматотропного и половых гормонов. Снижение уровня трех последних гормонов при стрессе — пример торможения тех функций, которые не обеспечивают доминантной в условиях стресса задачи — адаптации к резко изменившимся условиям. Торможение ряда функциональных систем (в том числе иммунной) способствует надежному функционированию других систем и органов (в том числе коркового и мозгового вещества надпочечников), от которых зависят быстрые адаптационные изменения.

С этих позиций с учетом различного исходного состояния и адаптационных возможностей организма пациентов объяснимы разнонаправленные сдвиги содержания популяций лейкоцитов после АУФОК [Гаврилова А. Ф. и др., 1986; Дуткевич И. Г. и др., 1986].

Важной составляющей дезинтоксикационного и иммунокорригирующего действия УФО является активация антиоксидантных ферментов [Исаков В. А. и др., 1993]. В экспериментах на животных показана безопасность УФО всей циркулирующей крови [Карандашов В. И. и др., 1993].

Накопленный клинический опыт АУФОК позволяет оценить этот метод как эффективный и перспективный. Актуальными задачами является выяснение механизмов воздействия АУФОК на кровь, иммунную систему и организм в целом, объективизация показаний, оптимизация и индивидуализация параметров и режимов АУФОК, разработка критериев диагностического мониторинга [Гаврилова А. Ф. и др., 1986; Ганелина И. Е. и др., 1986; Дуткевич И. Г. и др., 1986].

Гелий-неоновое лазерное излучение рассматривают как индуктор интерферонобразования [Леонова Г. Н. и др., 1994]. Одним из важных свойств интерферонов (ИФ) является способность активировать популяцию естественных киллеров (ЕК), составляющих основу иммунологического надзора [Ломакин М. С., 1990]. Иницирующие дифференцировку предшественников ЕК, повышающие цитотоксический потенциал единичного киллера и ускоряющие рециклинг этих клеток, ИФ рассматриваются как факторы, играющие решающую физиологическую роль в функционировании ЕК. Нарушение баланса, характеризующего в норме функционирование компонентов системы взаимодействия ИФ с ЕК, является одним из ведущих звеньев развития иммунопатологических (в частности, аутоиммунных) процессов [Чекнев С. Б. и др., 1994]. Очевидно, что задачей и основным условием адекватной иммунокоррекции является восстановление и регуляция иммунного гомеостаза с сохранением физиологического баланса. Комплексное воздействие квантовой гемотерапии на регулирующие и эффекторные структуры создает возможность для более физиологичного иммунокорригирующего влияния.

Использование внутривенного лазерного облучения крови (ВЛОК) улучшает транспорт O_2 на уровне микроциркуляторного русла и корригирует ишемический и гипоксический типы гипоксии [Кожекин В. В. и др., 1995].

Следует учитывать, что применение ВЛОК у больных с выраженным истощением антиоксидантной системы может сопровождаться активацией свободнорадикальных процессов. Комбинированное применение антиоксидантов (токоферола-ацетата, аскорбиновой кислоты) и эндоваскулярного лазерного облучения стабилизирует процессы липопероксидации путем активации антиоксидантной системы и предотвращает возможное усиление свободнорадикального окисления липидов [Потапов А. Ф. и др., 1995].

В сочетании с 8-метоксипсораленом облучение ультрафиолетом А подавляет выделение ИЛ-1 β , 6, 8 и ФНО- α из мононуклеарных клеток здоровых людей и больных псориазом. Терапевтическая комбинация снижала содержание мРНК этих цитокинов в мононуклеарных клетках [Neuner P. et al., 1994]. R. Dael'Amico и соавт. (1995) использовали этот режим экстракорпоральной фотохимиотерапии в комплексе лечебных мероприятий при кризе отторжения пересаженного сердца.

Сочетание гипербарической оксигенации и УФОК является патогенетически обоснованным мероприятием в комплексной терапии воспалительных заболеваний предстательной железы, так как способствует улучшению микроциркуляции, купированию воспалительной инфильтрации и склеротического процесса в ткани простаты, иммунокоррекции, проникновению лекарственных веществ в ткань железы и восстановлению ее функциональной активности [Гончарук А. И. и др.,

1994]. Учитывая распространенность заболеваний предстательной железы у мужчин, особенно среднего и пожилого возраста, подобный эффект квантовой гемотерапии вносит существенный вклад в «неспецифическое стимулирующее» действие.

3.4.1. Ультрафиолетовая фотомодификация функционального состояния лейкоцитов

Среди методов квантовой гемотерапии, прочно вошедших в арсенал клинической медицины, одно из ведущих мест занимает УФОК и ее компоненты. Необходимость иммунокоррекции — одно из основных традиционных показаний для проведения УФОК [Самойлова К. А. и др., 1986; 1987; 1989]. В последнее время сложилось мнение, что в основе клинического эффекта УФОК лежит иммунорегуляторное действие. Несмотря на большое количество клинических данных, непосредственный эффект УФО на иммунокомпетентные клетки, различные аспекты их функционального состояния остается во многом неясным.

Поэтому оправдан интерес оценить влияние УФОК на функциональное состояние иммунокомпетентных клеток.

С этой целью в кювету аппарата для УФО крови «Изольда» помещали 5 мл верхнего слоя клеточной суспензии, получаемой при фракционировании донорской крови. Содержание эритроцитов составило $5,53 \pm 0,25 \times 10^{12}$ клеток/л; лейкоцитов $6,52 \pm 0,77 \times 10^9$ клеток/л. Один образец облучали в течение 1 мин, другой — 5 мин. Показатели интактной пробы использовали в качестве контрольных. Исследовали кровь 9 здоровых доноров 18–22 лет.

Результаты исследования после их статистической обработки с помощью t-критерия представлены в табл. 3-26. Из представленных данных следует, что изменений показателей фагоцитарной активности нейтрофилов, экспрессии CD3, CD5 и CD8-рецепторов лимфоцитов, соотношения Т-хелперы/Т-супрессоры под действием УФОК не выявлено. В то же время после 5-минутного УФОК снижается экспрессия таких маркеров активации лимфоцитов, как CD25 и DR-антиген.

Выявлена нелинейная зависимость от УФОК для экспрессии рецепторов CD4 и CD22: преимущественное уменьшение содержания рецепторов на мембране при 1-минутном облучении. Известно, что CD22 — молекула адгезии, опосредующая связь Т-, В-лимфоцитов и мононуклеарных фагоцитов. CD22 может облегчать распознавание иммобилизованных антигенов (аналогично CD2 на Т-клетках) и участвует в проведении сигнала антигенным рецептором. Фосфорилирование молекул адгезии снижает их аффинитет [Gold M., De Franko A., 1994]. Известно, что УФО индуцирует фосфорилирование рецепторов фактора роста эпидермиса [Warmuth I. et al., 1994]. Не исключено, что различные дозы УФОК угнетают либо стимулируют фосфорилирование и другие метаболические процессы в клетках крови.

По-видимому, большинство вышеописанных изменений связаны с активацией процессов свободнорадикального окисления. Активность СОД — одного из основных цитоплазматических антиоксидантов — отчетливо увеличивается в зависимости от дозы УФО, что свидетельствует о достаточно высоком функциональном резерве антиоксидантной системы лимфоцитов доноров и, по-видимому, является причиной относительной стабильности мембранных структур. Меньшей антиоксидантной защищенностью обладают компоненты клеточного ядра, что ве-

дет к повышению содержания ПДН с увеличением дозы УФОК. Наиболее выраженные изменения зарегистрированы в продукции эндогенных иммуномодуляторов — цитокинов. После УФОК в течение минуты увеличивается продукция ФНО, однако утрачивается способность клеток реагировать на химическую стимуляцию, так что базальная и стимулированная пирогеном продукция ФНО мононуклеарами периферической крови практически одинаковы. Подобное равенство сохраняется и после УФОК в течение 5 мин, однако уровень продукции ФНО при этом снижается в 2 раза, приближаясь к базальному уровню интактных клеток.

Таблица 3-26

Динамика показателей функционального состояния лейкоцитов при ультрафиолетовом облучении крови

Показатель	Исходное значение	Через 1 мин	Через 5 мин	p < 0,05 между пробами
ИАН: базальный, усл. ед. стимулированный, усл. ед.	0,04±0,01 0,27±0,03 *	0,02±0,01 0,34±0,11 *	0,02±0,01 0,23±0,02 *	
ФНО: базальный, нг/мл стимулированный, нг/мл	0,71±0,15 3,76±0,77 *	1,38±0,25 1,62±0,25	0,71±0,22 0,58±0,21	1—2, 2—3 1—2, 1—3, 2—3
ИЛ-1: базальный, пг/мл стимулированный, пг/мл	90±60 1896±716 *	1048±225 2026±500 *	2190±583 2275±471	1—2, 1—3, 2—3
CD25+клетки, %	15,3±1,3	13,0±2,8	9,6±1,5	1—3
DR+клетки, %	24,3±4,5	24,5±3,3	17,9±2,5	1—3
CD3+клетки, %	58,7±6,0	56,2±8,0	58,2±6,3	
CD5+клетки, %	59,9±3,8	56,5±6,5	48,0±7,8	
CD22+клетки, %	18,6±1,1	11,4±2,9	14,3±4,3	1—2
ПДН, усл. ед.	28,1±3,9	40,4±1,8	37,4±2,0	1—2, 1—3
СОД	0,69±0,01	0,75±0,02	0,82±0,02	1—2, 1—3, 2—3

Примечание:

Знаком * обозначено достоверное различие показателей в базальном и стимулированном состоянии.

Несколько иная ситуация с продукцией ИЛ-1. Под действием химической стимуляции продукция ИЛ-1 возрастает в 20 раз по сравнению с базальными условиями. После УФОК в течение минуты продукция ИЛ-1 также возрастает, однако клетки сохраняют способность только двукратного увеличения секреции этого цитокина. После 5-минутного УФОК и в базальных, и в стимулированных условиях клетки продуцируют ИЛ-1 на уровне функционального максимума (порядка 2000 пг/мл) [Жибурт Е. Б. и др., 1995].

Несмотря на столь высокие концентрации ИЛ-1 и ФНО, сохраняется стабильность фагоцитарной активности гранулоцитов. Это подтверждает данные [Потапов М. П., Печковский Д. В., 1994] о том, что бактерицидная активность нейтрофилов здоровых людей не изменяется в присутствии ИЛ-1, ФНО и интерферона при нормальном исходном уровне бактерицидности (и достоверно повышается при сниженном ее уровне).

Для объективизации иммуномодулирующего действия УФОК при эндотоксемии создана следующая модель. Верхний слой эритроцитной массы (около 50 мл), удаляемый при приготовлении эритроцитоконцентрата, делили на три порции по 10–15 мл: 1-я — интактная (контроль), во 2-ю и 3-ю вносили стафилококковый токсин (ВНИИ эпидемиологии и микробиологии им Н. Ф. Гамалеи, Москва; серия 28-1) в стандартной дозировке 50 мкл на 1 мл [Бриль Г. Е., 1986], инкубировали в течение 1 ч при 37 °С. 3-ю порцию облучали на аппарате «Изольда» в режиме 1 терапевтической дозы. Таким образом, для оценки функционального состояния иммунокомпетентных клеток получали три образца: 1 — контроль; 2 — + стафилококковый токсин; 3 — + стафилококковый токсин + УФОК.

Результаты исследования 7 проб крови здоровых доноров (содержание лейкоцитов $36,7 \pm 3,9 \times 10^9/\text{л}$) представлены в табл. 3-27.

При внесении токсина и последующем УФОК не выявлено изменений показателей активности фагоцитов и экспрессии дифференцировочных рецепторов лимфоцитов. Иммунодепрессивное действие стафилококкового токсина проявляется в угнетении способности иммунокомпетентных клеток продуцировать эндогенные иммуномодуляторы: ФНО и, особенно, ИЛ-1, а также в существенном угнетении активности натуральных киллеров. Кроме того, в мононуклеарах периферической крови возрастает содержание ПДН.

После УФО преинкубированной со стафилококковым токсином лейкозвеси значительно увеличивается экспрессия рецепторов CD3 (Т-лимфоциты) и CD4 (Т-хелперы). Восстанавливается способность мононуклеаров периферической крови продуцировать ФНО и ИЛ-1. Содержание ПДН несколько снижается.

Увеличение экспрессии Т-клеточных рецепторов может быть обусловлено как прямым действием квантов УФО на мембрану лимфоцитов, так и нормализацией продукции иммуномодуляторов. Некоторое снижение содержания ПДН может быть следствием (прямого или опосредованного) митогенного и/или возможного репаративного действия УФО.

Таким образом установлено, что основной иммунорегуляторный эффект УФОК связан с продукцией клетками крови эндогенных иммуномедиаторов, в частности, ИЛ-1 и ФНО. Увеличение секреции лимфокинов и монокинов небольшим количеством циркулирующих мононуклеаров, подвергающихся фотомодификации, инициирует системные реакции организма, приводящие к клиническому эффекту [Кетлинский С. А. и др., 1992]. Представляет интерес изучение продукции других цитокинов, а также исследование с помощью предложенной модели терапевтических режимов УФОК применительно к конкретной патологии. Особого внимания заслуживает исследование сигнального значения ПДН. Установленная нормализация сниженной активности натуральных киллеров после УФОК в условиях экспериментальной эндотоксемии позволяет рекомендовать использование этого параметра иммунного статуса при определении показаний и диагностическом мониторинге УФОК [Жибурт Е. Б. и др., 1997].

**Динамика показателей функционального состояния
лейкоцитов при ультрафиолетовом облучении крови
в условиях экспериментальной эндотоксемии**

Показатель	Исходное значение	С токсином	После УФОК	p < 0,05 между пробами
ИАН базальный, усл. ед. стимулированный, усл. ед.	0,11±0,02 0,45±0,03 *	0,09±0,01 0,35±0,05 *	0,07±0,02 0,35±0,06 *	
ФНО базальный, нг/мл стимулированный, нг/мл	0,92±0,23 4,09±0,82 *	0,80±0,29 1,32±0,70	1,05±0,25 2,81±0,94	1—2
ИЛ-1 базальный, пг/мл стимулированный, пг/мл	120±69 1745±688 *	88±60 354±133 *	95±65 2450±714 *	1—2, 2—3
Активность натуральных киллеров, %	64,1±2,5	45,6±3,5	67,2±2,2	1—2, 2—3
CD25+клетки, %	27,1±2,2	28,1±1,8	28,2±1,7	
DR+клетки, %	28,7±4,0	26,2±3,6	28,8±1,6	
CD3+клетки, %	61,7±3,2	72,5±5,4	71,2±4,0	1—3
CD22+клетки, %	20,6±3,9	16,9±3,6	20,7±2,9	
CD4+клетки, %	32,2±2,3	32,8±3,8	44,9±4,8	1—3, 2—3
CD8+клетки, %	20,4±2,3	20,9±3,4	21,2±2,4	
ПДН, усл. ед.	39,7±3,4	65,2±6,3	51,2±8,2	1—2

Примечание:

Знаком * обозначено достоверное различие показателей в базальном и стимулированном состоянии.

3.4.2. Фотомодификация крови с использованием гелий-неонового лазера

Используя методический подход, аналогичный описанному в предыдущем разделе, проводили фотомодификацию крови 8 здоровых доноров терапевтическим гелий-неоновым лазером (длина волны — 630 нм) в двух режимах 2 и 6 мВт. Наряду с показателями функционального состояния лейкоцитов, оценивали индекс деформируемости эритроцитов (ИДЭ), коэффициент вязкости эритроцитов (КВЭ) и параметры агрегационной способности эритроцитов [Грицюк А. И. и др., 1994]. Результаты исследования представлены в табл. 3-28. После воздействия гелий-неонового облучения крови в указанных режимах практически не изменяются исследованные показатели функционального состояния иммунокомпетентных

клеток, за исключением небольшого уменьшения реактивности фагоцитов при режиме 2 мВт и снижения экспрессии рецепторов CD4 при режиме 4 мВт. Значимо возрастает базальная продукция ИЛ-1 мононуклеарами периферической крови после облучения в режиме 4 мВт. При режиме 2 мВт достоверно возрастает ИДЭ и снижается КВЭ, тогда как при режиме 4 мВт эти изменения не выявляются. Модификация реологических свойств эритроцитов под действием гелий-неонового облучения крови может быть основанием для разработки реокорректирующих операций квантовой гемокомпонентной терапии. Выявленное увеличение продукции ИЛ-1 может вести к активации иммуногенеза и отчасти объясняет иммунокорректирующий эффект лазерного облучения крови [Жибурт Е. Б. и др., 1998]. Так как широкий спектр биологической активности достигается только при совместном действии ИЛ-1 с другими цитокинами, в перспективе целесообразно оценить изменение продукции, в первую очередь, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8 и др. в экспериментальных и клинических условиях при проведении квантовой гемотерапии.

Таблица 3-28

Динамика показателей функционального состояния лейкоцитов и эритроцитов при облучении крови гелий-неоновым лазером

Показатель	Исходное значение	2 мВт	6 мВт	p < 0,05 между пробами
1	2	3	4	5
ИАН: базальный, усл. ед. стимулированный, усл. ед.	0,03±0,01 0,30±0,08 *	0,02±0,01 0,25±0,11	0,04±0,01 0,25±0,10	
ФНО: базальный, нг/мл стимулированный, нг/мл	0,49±0,22 4,20±0,80 *	0,36±0,22 3,07±0,74 *	0,63±0,20 2,73±0,47 *	
ИЛ-1: базальный, пг/мл стимулированный, пг/мл	90±60 1896±716 *	190±67 1723±756 *	310±65 2210±620 *	1—3
CD25+клетки, %	20,4±4,2	17,9±3,9	18,4±1,9	
DR+клетки, %	26,0±3,8	20,7±3,3	23,6±7,2	
CD3+клетки, %	57,4±5,7	61,2±6,0	52,9±7,8	
CD22+клетки, %	18,6±3,4	15,5±5,1	14,2±6,5	
CD4+клетки, %	26,6±3,3	22,3±3,5	16,5±1,5	1—3
CD8+клетки, %	20,9±2,3	20,6±2,5	14,2±5,4	
CD4/CD8, усл. ед.	1,36±0,12	1,06±0,06	1,53±0,33	
Активность ЕК	67,1±3,4	64,0±11,4	63,1±9,6	
ПДН, усл. ед.	43,4±6,5	56,7±4,6	49,3±4,7	

1	2	3	4	5
ИДЭ, усл. ед.	1,53±0,06	1,75±0,08	1,66±0,07	1—2
КВЭ, усл. ед.	1,90±0,05	1,67±0,05	1,83±0,08	1—2
K1, опт. ед/мин×10 ⁻³	58,7±12,0	72,4±7,1	72,9±10,7	
K2, опт. ед/мин×10 ⁻³	29,9±1,2	48,2±13,0	41,8±11,5	

Примечание:

K1 — скорость образования малых, а K2 — больших агрегатов эритроцитов при индуцированной агрегации;

* достоверное различие показателей в базальном и стимулированном состоянии.

3.4.3. Использование методов экстракорпоральной гемокоррекции в лечении пациентов с облитерирующим атеросклерозом после реконструктивных операций на бедренно-подколенном сегменте

Несмотря на постоянное совершенствование техники реконструктивных сосудистых операций на бедренно-подколенном сегменте у пациентов с облитерирующим атеросклерозом, риск развития послеоперационных осложнений остается достаточно высоким. В настоящее время в различных областях хирургии успешно используются методы экстракорпоральной гемокоррекции, которые обладают достаточно большой широтой терапевтического действия и многофакторным лечебным механизмом.

Нами проведено изучение эффективности применения УФОК и лечебного плазмафереза в сочетании с ультрафиолетовым облучением реинфузируемой эритроцитной массы (УФОЭМ) у больных с атеросклерозом после операций на бедренно-подколенном сегменте.

Под наблюдением находился 71 пациент в возрасте от 42 до 70 лет с атеросклеротическими окклюзиями магистральных артерий ниже паховой связки и различной степенью исходной ишемии нижних конечностей, которым были выполнены реконструктивные сосудистые операции на бедренно-подколенном сегменте с использованием аутовены в качестве эксплантата. Выделили три группы пациентов:

1-я — контрольная группа — 53 пациента, получавших в послеоперационном периоде традиционную терапию;

2-я — 10 пациентов, которым, начиная с 3—5-го дня после операции в комплекс проводимой терапии включали УФОК по экстракорпоральному контуру;

3-я — 8 пациентов, которым начиная с 5—7-го дня после операции в комплекс проводимой терапии включали плазмаферез с УФОЭМ. 2—3 операции плазмафереза проводили с интервалом 2—4 дня, общий объем плазмоексфузий достигал 1,5 л. Плазмозамещение осуществляли кристаллоидными растворами, реополиглюкином и по показаниям (главным образом при гипопротеемии) — донорской плазмой.

Результаты клинического обследования представлены в табл. 3-29.

В механизме лечебного действия изолированной фотомодификации аутокрови у пациентов 2-й группы ведущим было ее стимулирующее действие на резис-

тентность организма и репаративные процессы. Сочетание лечебного плазмафереза с квантовой гемотерапией у пациентов 3-й группы приводило к улучшению реологических свойств крови, что подтверждалось снижением концентрации фибриногена, увеличением деформабельности и уменьшением вязкости эритроцитов, уменьшением агрегационной способности этих клеток.

Таким образом, применение методов экстракорпоральной гемокоррекции у пациентов с облитерирующим атеросклерозом после реконструктивных операций является эффективным для профилактики и лечения послеоперационных осложнений. Особенно показано их использование у пациентов с нарушением функционального состояния иммунной системы и выраженными реологическими нарушениями, рефрактерными к проводимой традиционной терапии.

Таблица 3-29

Клинические и лабораторные показатели эффективности использования методов экстракорпоральной гемокоррекции в лечении больных облитерирующим атеросклерозом после реконструктивных операций на бедренно-подколенном сегменте

Показатель	Единицы измерения	Группа 1 (контроль), n = 53	Группа 2 (УФОК), n = 12	Группа 3 (УФОЭМ), n = 9
1	2	3	4	5
Частота нарушений проходимости шунта	n (%)	14 (26 %)	3 (25 %)	1 (11 %)
Частота нагноений послеоперационной раны	n (%)	12 (23 %)	0	0
Длительность существования постреструктивных отеков стоп и голеней	сутки	42,3±2,7	27,9±3,1	23,7±2,4
Общий белок	г/л	68,3±2,1	63,1±3,7	60,1±4,1
Фибриноген	г/л	4,1±0,4	3,7±0,9	2,9±0,7
Гемоглобин	г/л	127,5±4,2	130,4±5,0	128,3±5,1
Эритроциты	10 ¹² /л	4,15±0,14	4,18±0,19	4,18±0,22
ИДЭ	усл. ед.	1,50±0,11	1,13±0,06	1,14±0,06
КВЭ	усл. ед.	1,77±0,08	2,07±0,06	1,85±0,05
Скорость агрегации эритроцитов	рад/мин	0,236±0,009	0,236±0,007	0,303±0,014
Процент агрегации эритроцитов	%	82,6±0,3	83,5±2,3	79,5±3,4
Время полной агрегации эритроцитов	с	290±50	284±28	235±39
Лейкоциты	10 ⁹ /л	8,0±0,4	8,1±1,0	7,6±1,1

1	2	3	4	5
Нейтрофилы с/я	%	57,6±4,0	54,2±6,6	53,5±6,0
Нейтрофилы п/я	%	12,3±0,6	9,4±0,7	8,9±0,4
Моноциты	%	4,1±1,0	6,1±1,3	6,8±1,3
Лимфоциты	%	21,3±1,3	29,4±2,1	30,6±2,0
Эозинофилы	%	1,3±0,4	1,7±0,5	1,6±0,6
Тромбоциты	10 ⁹ /л	267±24	251±45	243±48
Т-лимфоциты	%	54,3±2,1	62,8±1,9	56,3±2,3
Т-хелперы	%	21,6±3,1	25,3±4,0	23,1±2,7
Т-супрессоры	%	22,9±3,8	20,0±4,6	21,8±4,0
В-лимфоциты	%	18,7±3,6	15,1±3,8	14,7±5,1
Натуральные киллеры	%	40,3±3,1	58,7±4,4	49,2±3,0
Коэффициент Т-хелп./Т-супр.	отн. ед.	0,93±0,11	1,27±0,13	1,08±0,13
ИАН: базальные стимулированные	усл. ед.	0,03±0,01 0,45±0,09	0,06±0,02 0,68±0,10	0,05±0,02 0,57±0,11
ФНО	нг/мл	0,20±0,08	0,08±0,06	0,12±0,07

Глава 4. АЛЬТЕРНАТИВЫ ПЕРЕЛИВАНИЮ КРОВИ

4.1. Эритропоэтин

Важнейшей составной частью системы крови является эритрон — совокупность эритроидных клеток с высокоспециализированной функцией переноса кислорода из альвеолярного воздуха в ткани. Центральное место в регуляции эритропоэза занимает эритропоэтин (ЭП) — почечный гормон гликопротеиновой природы, контролирующий и регулирующий эритроидную дифференциацию [Павлов А. Д., Морщакова Е. Ф., 1987].

Наиболее вероятное место продукции ЭП — клетки капилляров клубочка. До 10 % ЭП у взрослого человека продуцируется клетками печени, что имеет важное значение при почечной патологии. Дефицит кислорода, возникающий при гипобарической, циркуляторной, гемической или тканевой гипоксии, приводит к высвобождению простагландинов и/или простагличина, активации аденилатциклазы, повышению уровня цАМФ в почках и усилению биосинтеза ЭП. По-видимому, гипоксия увеличивает проникновение в почечную клетку кальция, который активирует фосфолипазу A_2 , приводя к большей доступности арахидоновой кислоты — субстрата циклооксигеназной системы — и запуская тем самым простагландиновый каскад.

На 4-й международной конференции по патофизиологии и фармакологии эритропоэтина и других гемопоэтических ростовых факторов (Любек, 27—29.06.97) были представлены данные об экспрессии гена эритропоэтина в других органах. Установлено, что продуцируемый астроцитами ЭП играет нейротрофическую роль при гипоксических и ишемических поражениях головного мозга. Исследуется келлонная функция ЭП в женских репродуктивных органах.

Эритропоэз у здорового человека наряду с образованием необходимого числа эритроидных предшественников (общий эритропоэз) сопровождается разрушением части эритроидных клеток (неэффективный эритропоэз). Неэффективный эритропоэз (обычно не более 3—8 %) является одним из физиологических механизмов регуляции равновесия в системе эритрона при постоянно меняющейся потребности организма в эритроцитах. При различных анемиях неэффективный эритропоэз увеличивается до 50 %. Эритропоэтин индуцирует супрессию апоптоза эритроидных предшественников, соответственно, при малой концентрации эритропоэтина создаются условия обширной гибели эритроидных клеток на всех стадиях дифференцировки [Погорелов В. М., Козинец Г. И., 1995]. Конечный эффект действия ЭП состоит в повышении образования клеток эритрона.

Изоляция и клонирование гена ЭП в 1985 г. послужили предпосылкой для создания рекомбинантного человеческого ЭП [Jakobs K. et al., 1985]. На российском

рынке имеется несколько зарубежных препаратов ЭП, широкое использование которых проблематично по экономическим соображениям. В 1995 г. разрешен к медицинскому применению рекомбинантный человеческий ЭП отечественного производства (приказ МЗМН РФ № 212 от 20 июля 1995 г.).

Регуляция кроветворения осуществляется по принципу обратной связи, при этом показателем работы системы крови является кинетика процессов гемопоэза и разрушения клеток крови. Созревающие в течение 12 сут клетки эритрона у здорового человека претерпевают 11–12 делений. Срок жизни циркулирующих эритроцитов — 120 сут; ежедневно в организме взрослого человека нарабатывается и разрушается 2×10^{11} эритроцитов. В процессе старения изменение свойств мембраны эритроцита (снижение деформируемости, трансформация дискоцита в эхиноцит) сопровождается внутриклеточными изменениями (снижение активности ферментов, нарушение гликолиза, уменьшение энергетического потенциала, повышение сродства гемоглобина к кислороду), что в конечном итоге приводит к гибели клетки.

Теоретически при миелодепрессии для заместительной терапии и поддержания адекватного уровня гемоглобина достаточно переливать 1 дозу эритроцитов, содержащуюся в единице (400–450 мл) донорской крови. Однако следует иметь в виду, что в крови пациентов с трансфузионно-зависимыми состояниями создаются условия, способствующие усиленному разрушению донорских эритроцитов (эритролиз). К факторам, увеличивающим эритролитическую активность сыворотки крови, относят продукты перекисного окисления липидов, острофазовые белки, лизосомальные ферменты, полиамины, азотемические продукты и олигопептиды средней массы. Неблагоприятный эффект множественных трансфузий усугубляется аллосенсибилизацией, возрастанием риска гемолитических реакций и других осложнений.

Высокая потребность лечебных учреждений в компонентах и препаратах крови сочетается с возрастающей себестоимостью последних, дополнительные трудности создает сокращение донорского контингента [Данильченко В. В. и др., 1995].

Вышеизложенное обуславливает поиск альтернативных средств профилактики и лечения анемии. Одним из таких средств является рекомбинантный человеческий ЭП, внедренный в клиническую практику за рубежом в 1987 г.

Опыт использования лекарственных форм ЭП показал высокую эффективность этого препарата у различных категорий пациентов (табл. 4-1).

ЭП признан неотъемлемой составляющей длительной заместительной терапии больных с хронической почечной недостаточностью (ХПН), находящихся на программном гемодиализе [Николаев А. Ю. и др., 1995]. Число таких пациентов во многих странах мира превышает 200 на 1 млн населения (в Японии — 710) и ежегодно увеличивается (в США — на 11,2 %). На северо-западе России в 1994 г. количество больных, находящихся на лечении гемодиализом, — 47,7 на 1 млн населения [Рябов С. И. и др., 1995], при этом отмечается рост числа центров гемодиализа и трансплантации почек, и прогнозируется существенное расширение контингента пациентов.

У 95–98 % пациентов с ХПН, получающих гемодиализ, имеются показания для назначения препаратов ЭП (содержание гемоглобина около 80 г/л). Схемы назначения ЭП отработаны и совершенствуются. Показана эффективность комбинации ЭП с препаратами железа, витаминами, кальцитриолом [Николаев А. Ю.

и др., 1995]. Через неделю после начала терапии количество ретикулоцитов в крови возрастает в 2—3 раза, а через 2—3 нед увеличивается содержание гемоглобина.

Таблица 4-1

**Патологические состояния (лечебные мероприятия),
при которых применяется эритропоэтин**

-
- хроническая почечная недостаточность (диализные и преддиализные пациенты);
 - онкологические заболевания (цитостатическая терапия);
 - трансплантация органов и тканей;
 - СПИД (терапия ВИЧ-инфекции зидовудином);
 - аутодонорство;
 - пред- и послеоперационный период без аутодонорства;
 - анемия при хронических воспалительных заболеваниях;
 - анемия у ослабленных пациентов (пожилые люди, недоношенные дети, обожженные и т. д.);
 - отказ от трансфузий аллогенных гемокомпонентов.

Хирургические болезни часто сопровождаются анемией вследствие нарушенной продукции ЭП. Массивная хирургическая травма может еще более угнетать продукцию ЭП, особенно у женщин [Clemens J., Spivak J., 1994]. В плановой хирургии ЭП широко используется при заготовке аутологичных гемокомпонентов.

Использование той же технологии (аутогемотрансфузии плюс ЭП) позволяет избежать переливания аллогенной крови при 95 % реконструктивных ортопедических операций [Goodnough L. et al., 1993].

Для обеспечения донаций двух доз аутокрови перед ортопедическими операциями или операциями на сосудах оптимальным считают подкожное введение ЭП (250 ЕД/кг дважды в неделю в течение трех недель) [Biesma D. et al., 1994].

Перед протезированием суставов пациентам с ревматоидным артритом вводили 400—800 ЕД/кг ЭП подкожно один раз в неделю. Аутологичную кровь заготавливали после повышения содержания гемоглобина на 5 % и более. При таком режиме удается заготовить 1—3 дозы крови и в большинстве случаев отказаться от аллогенных трансфузий. Введение ЭП не влияет на проявления ревматоидного артрита [Saikawa I. et al., 1994].

Введение ЭП (300 ЕД/кг) в течение 14 дней периоперационного периода существенно снижает необходимость в гемотрансфузиях при протезировании тазобедренного сустава [Bailey W. et al., 1995].

Особое значение имеет применение ЭП при аутодонациях перед операциями на сердце и печени, когда необходимо заготовить 4—6 доз крови [Beris P. et al., 1993].

С момента начала использования ЭП он приобрел колоссальное значение для кардиохирургии [Helm R. et al., 1993].

Мультицентровый анализ гемотрансфузионного пособия при операциях аортокоронарного шунтирования (АКШ) показал, что 59 % пациентов получают гемотрансфузии только в день операции (75 % всей переливаемой крови). 95 % пациентов получают до 4 доз крови, что позволяет рекомендовать заготовку ауто-

логичных гемотрансфузионных сред перед операцией АКШ [Goodnough L. et al., 1993].

При необходимости кардиохирургических операций у пациентов с анемией (гемоглобин менее 100 г/л) апробировано введение 600–700 ЕД/кг ЭП в неделю в течение 2–12 нед, что приводит к повышению содержания гемоглобина (110–145 г/л), дает возможность заготовить 400–1200 мл аутокрови и ликвидировать потребность в аллогенных трансфузиях у 90 % пациентов [Konishi T. et al., 1993].

Показана также высокая эффективность сопровождения аутодонаций перед кардиохирургической операцией внутривенным введением ЭП в дозе 200 ЕД/кг 3 раза в неделю и приемом *per os* сульфата железа 210 мг/день [Hayashi J. et al., 1993].

При внутривенном введении ЭП дважды в неделю в течение 4 нед более эффективно использование 400–800 ЕД/кг в сочетании с препаратами железа. В качестве триггеров аутодонации рекомендуют считать содержание гемоглобина 130 г/л и уровень гематокрита 34 %. При этом аллогенные гемокомпоненты исключаются у 81 % пациентов [Schmoeckel M. et al., 1993].

В клинике термических поражений пересматриваются показания к гемотрансфузиям: критическая величина гематокрита для переливания эритроцитов снижается с 30 до 20 %. При этом использование ЭП позволяет существенно уменьшить или вообще исключить переливание крови [Poletes G. et al., 1994].

Использование ЭП позволяет усовершенствовать программу предоперационного резервирования аутокрови в клинике торакальной хирургии. При незлокачественных заболеваниях перед пневмонэктомиями, лобэктомиями и сегментэктомиями однократно забирают 1200–1600 мл крови с последующим введением 3000 ЕД ЭП внутривенно. При этом трансфузии аллогенной крови исключаются у 85 % пациентов [Watanabe M. et al., 1994].

Реализация программы трансплантации печени с отказом от использования аллогенной крови за счет включения в терапевтический комплекс ЭП не только повышает выживаемость пациентов, но и позволяет снизить расходы на лечение с 327 000 долларов (3,8 % из которых идет на гемотрансфузионные средства) до 170 000 долларов [Ramos H. et al., 1994].

При противопоказаниях к аутодонации рекомендуется вводить ЭП подкожно в течение 3–4 дней до и после операции в дозе 100 ЕД/кг в сочетании со 100 мг железа внутривенно [Mercuriali F. et al., 1999].

После аллогенной трансплантации костного мозга рекомендуется ежедневное внутривенное введение рекомбинантного человеческого ЭП в дозе 150 ЕД/кг до достижения гематокрита свыше 35 %. При этом происходит более быстрое восстановление эритропоэза и необходимость трансфузий эритроцитов снимается в среднем на 17-й день (на 7 дней раньше, чем без применения ЭП) [Link H. et al., 1993]. Использование ЭП позволяет избежать посттрансфузионной иммуносупрессии при отсроченном иммунном гемолизе у реципиентов аллогенного костного мозга от АВ0-несовместимых доноров [Lopez J. et al., 1994].

Важно, что при применении ЭП после трансплантации костного мозга быстрое восстановление эритропоэза происходит не в ущерб восстановлению других ростков кроветворения, т. е. «соревнование стволовых клеток» отсутствует, и содержание лейкоцитов и тромбоцитов своевременно восстанавливается [Locatelli F. et al., 1993].

Разработана методика краткосрочного культивирования костного мозга с ЭП и другими факторами роста перед трансплантацией костного мозга. При этом эффективность последней повышается [Johnsen H. et al., 1994].

Продукция и сывороточный уровень ЭП снижены при анемии у онкологических и инфекционных больных пожилого возраста [Joosten E. et al., 1993], соответственно использование ЭП у этой категории пациентов патогенетически оправдано и весьма эффективно [Murphy P. T., Hutchinson R. M., 1994]. Более того, использование ЭП позволяет заготавливать аутокровь у пациентов 65 лет и старше с анемиями различного генеза [Tasaki T. et al., 1994] и даже у пациентов старше 80 лет [Ihara H. et al., 1993].

Показана эффективность ЭП в коррекции анемии при синдроме приобретенного иммунодефицита [Phair J. et al., 1993], бронхолегочной дисплазии [Ohls R. et al., 1993], после трансплантации легких [End A. et al., 1994].

С использованием двойного слепого метода исследования показано, что применение ЭП снижает на 40 % потребность в гемотрансфузиях у недоношенных детей, способствует стимуляции эритропоэза [Emmerson A. et al., 1993].

Фармакологические препараты ЭП — мощный фактор повышения иммунологической и инфекционной безопасности гемокомпонентной терапии [AuBuchon J., 1994].

Побочным действием ЭП, на наш взгляд, является ответ функциональных систем организма, адаптированных к условиям анемии, на существенное и достаточно быстрое увеличение уровня гемоглобина. Так, гипертензия является вторичным следствием увеличения гематокрита при увеличенном сердечном выбросе и повышенной резистентности сосудов. Отмечающаяся в некоторых случаях тенденцию к микротромбозу связывают с увеличением гематокрита, повышением вязкости крови, агрегации и адгезии тромбоцитов, тромбоцитозом (редко), снижением содержания протеина С и протеина S [Шевченко Ю. Л. и др., 1996]. Повышение содержания натрия, фосфатов и креатинина в крови пациентов на хроническом гемодиализе, получающих ЭП, может быть обусловлено нарушением диеты или снижением клиренса при гемодиализе вследствие повышения гематокрита.

Использование моноклональных антител (радиоиммунный, иммуноферментный анализ) позволяет количественно определить уровень ЭП в крови, что имеет существенное диагностическое значение. Так, например, при анемии у пациентов с ревматоидным артритом базальный уровень сывороточного ЭП может быть как пониженным, так и нормальным и даже повышенным. Наиболее эффективно подкожное введение рекомбинантного ЭП при низком уровне сывороточного ЭП. Также уровень сывороточного ЭП используют как самостоятельный маркер тяжести нефропатии. В практической лабораторной диагностике хорошо себя зарекомендовали иммуноферментные наборы для определения содержания ЭП в крови («Протеиновый контур», Санкт-Петербург) [Жибурт Е. Б., Серебряная Н. Б., 1997].

Причины резистентности к ЭП:

- другие причины нарушения эритропоэза (дефицит железа, витамина В₁₂, фолиевой кислоты, гиперпаратиреозидизм, инфекции, опухоли и т. д.);
- продолжающееся кровотечение;
- гемолиз;
- образование антител к рекомбинантному ЭП [Zhiburt E. B. et al., 1999].

Побочное действие ЭП представляет собой ответ функциональных систем организма, адаптированных к условиям анемии, на существенное и достаточно быстрое увеличение уровня гемоглобина. Так, гипертензия является вторичным следствием увеличения гематокрита при увеличенном сердечном выбросе и повышенной резистентности сосудов. Отмечающуюся в некоторых случаях тенденцию к микротромбозу связывают с увеличением гематокрита, повышением вязкости крови, агрегации и адгезии тромбоцитов, тромбоцитозом (редко), снижением содержания протейна С и протейна S. Показана профилактическая эффективность в отношении гипертензии нестероидных противовоспалительных препаратов, назначаемых совместно с ЭП и блокирующих накопление кальция в тромбоцитах и их агрегацию. Повышение содержания натрия, фосфатов и креатинина в крови пациентов на хроническом гемодиализе, получающих ЭП, может быть обусловлено нарушением диеты или снижением клиренса на гемодиализе вследствие повышения гематокрита.

Внедрение препаратов ЭП повышает эффективность лечебных мероприятий по коррекции и профилактике анемий, сокращает геотрансфузионную нагрузку и улучшает качество жизни потенциальных реципиентов аллогенных эритроцитов.

Последние достижения в области ростовых факторов гемопоэза связаны со стимуляцией мегакариоцитарного роста. Проходит клинические испытания рекомбинантный тромбопоэтин, а ИЛ-11 уже рекомендован для коррекции тромбоцитопении после пересадки костного мозга [Prowse C. W., 1998].

4.2. Колонистимулирующий фактор гранулоцитов в хирургической практике

Среди цитокинов, стимулирующих гемопоэз, особенно интенсивно изучается в эксперименте и в клинике колонистимулирующий фактор гранулоцитов (Г-КСФ), который был выделен, очищен и клонирован в 80-х годах. Г-КСФ – гликопротеин, регулирующий нейтрофильный гранулоцитопоэз, а также модулирующий функции зрелых нейтрофилов. Г-КСФ укорачивает время созревания нейтрофилов с пяти до одного дня, что ведет к быстрому выходу зрелых нейтрофилов из костного мозга в периферическую кровь. Эти свойства Г-КСФ позволили успешно использовать его для профилактики и лечения нейтропении, интенсификации химиотерапии и получения стволовых клеток для последующей трансплантации.

Г-КСФ у человека синтезируется фибробластами, эндотелиальными клетками и моноцитами. Рецепторы Г-КСФ экспрессируются на клетках нейтрофильного ряда от миелобластов до нейтрофилов, на клетках моноцитоидного ряда и некоторых негемопоэтических клетках.

Фагоцитирующие клетки являются одним из важнейших звеньев иммунитета, обеспечивающих защиту при хирургических повреждениях. При воздействии Г-КСФ на лейкоциты происходит активация клеток, что ведет к увеличению их размеров, повышает складчатость клеточных мембран параллельно с повышением внутриклеточной продукции гидроперекисей. Изменяя спектр экспрессии поверхностных молекул, Г-КСФ регулирует взаимодействие нейтрофилов с эндотелиальными клетками в тканях и обеспечивает пополнение численности лейкоцитов в очаге воспаления.

Хирургическая травма и полиорганная недостаточность (ПОН) — серьезные проблемы, связанные с осложнениями после хирургических операций, ранений и сочетанных повреждений, сопровождаются высокой летальностью, несмотря на развитие способов поддержания функции органов, трансфузионно-инфузионной и антибактериальной терапии. Хотя механизмы этих патологических состояний все еще не полностью понятны, в настоящее время известно, что кровотечение, анестезия, гиповолемическая ишемия, реперфузия и инфекция — коэтиологические факторы ПОН.

У хирургических пациентов существенно изменяется состояние иммунокомпетентных клеток, уровень продукции и содержания в крови различных цитокинов. Дисбаланс цитокиновой сети является важнейшей причиной развития неэффективных иммунных реакций и нарушения гомеостаза. При оптимальном ответе на хирургический стресс синхронно повышается сывороточная концентрация ИЛ-1, -6, -8, ФНО- α и Г-КСФ, достигая максимума в первые сутки, с последующим снижением в течение семи дней.

При обследовании разных групп пациентов (ишемическая болезнь сердца, рак пищевода, механическая травма и др.) показано, что относительно низкий уровень и преимущественное снижение содержания Г-КСФ свидетельствует о развитии иммунодефицита и угрозе гнойно-воспалительных осложнений.

Причины недостаточного содержания Г-КСФ уточняются. Четко установлено существенное снижение резервных возможностей кроветворения и иммуногенеза у пожилых пациентов, что может рассматриваться как показание для использования препаратов Г-КСФ в клинических ситуациях, требующих функционального напряжения миелопоэза.

Рекомбинантный человеческий Г-КСФ (рГ-КСФ), вырабатываемый бактериями *E. coli* (филграстим), производится с середины 80-х годов, и с этого времени началось его клиническое изучение. Применение рГ-КСФ у здоровых добровольцев молодого и пожилого возраста в дозах 30 и 300 мкг/сут показало, что препарат значительно увеличивал количество митозов в костномозговых клетках нейтрофильного ряда и укорачивал время созревания постмитотических клеток. Использование дозы 300 мкг/сут приводит к достоверному повышению количества нейтрофилов в периферической крови и активизирует их функциональную активность. Стремительное накопление данных о механизмах влияния Г-КСФ на лейкоциты позволило предположить, что этот препарат может быть эффективен не только у пациентов с нейтропенией, но и у больных с нормальным и даже повышенным содержанием лейкоцитов как иммуномодулирующий агент.

Показано, что рГ-КСФ:

- повышает способность фагоцитов генерировать супероксиданион-радикал — основной действующий фактор кислородзависимой микробицидности;
- увеличивает уровень экспрессии рецепторов, вовлеченных в процессы адгезии, диапедеза, хемотаксиса и фагоцитоза;
- повышает способность лейкоцитов секретировать эластазу и лактоферрин;
- стимулирует миграцию нейтрофилов в очаг воспаления;
- стимулирует киллинг опсонизированных бактерий;
- снижает уровень и активность цитокинов — индукторов синдрома системного воспалительного ответа (в первую очередь ФНО);
- снижает уровень бактериемии;

Исследование противовоспалительного потенциала Г-КСФ, динамики его продукции в ходе хирургического вмешательства и результаты его апробации в опытах на животных явились основанием для использования этого цитокина в клинической практике для профилактики и лечения различных воспалительных и инфекционных осложнений. Однако серьезным препятствием к применению рГ-КСФ при бактериемии и сепсисе было опасение, что индуцированный препаратом нейтрофилез может приводить к острому поражению легких (реакции острого респираторного дистресс-синдрома).

Экспериментальные исследования и клинические изучения больных, подвергшихся резекции легких, показали, что рГ-КСФ не увеличивает клиренс жидкости через альвеолярный эпителий. Хотя введение рГ-КСФ приводило к почти пятикратному возрастанию количества нейтрофилов, инъекции бактериального липополисахарида (ЛПС) на этом фоне не вызывали изменений оксигенации крови или артериального давления. Частота развития острых повреждений легких не увеличивалась в группе животных, получавших рГ-КСФ и ЛПС по сравнению с контрольной группой (получавшей только ЛПС). При этом у животных, не получавших рГ-КСФ, отек легких и выпот белкового транссудата в альвеолы был более значительным. Таким образом, индуцированный рГ-КСФ нейтрофилез не имел неблагоприятных последствий при ответе на ЛПС у экспериментальных животных и хирургических пациентов, но приводил к активации иммунных реакций, снижая частоту возникновения и активность течения инфекционных и воспалительных реакций [Pajkrt D. et al., 1997].

В настоящее время накоплен и некоторый клинический опыт применения рГ-КСФ для профилактики и лечения послеоперационных воспалительных осложнений [Usui A. et al., 1997].

Безопасность применения низких доз рГ-КСФ (филграстим) в лечении хирургических пациентов была исследована на 20 больных с синдромом системного воспалительного ответа и сепсисом. Филграстим назначался внутривенно в дозе 1 мкг/кг в течение трех дней, а затем в дозе 0,5 мкг/кг еще четыре дня. Ни у одного из больных с синдромом системного воспалительного ответа не развился сепсис и полиорганная недостаточность, при этом уровни ИЛ-6 и ИЛ-8 значительно снизились в первые три дня от начала лечения. Ни у кого из больных в этом изучении не были зарегистрированы какие-либо отрицательные эффекты. Во время введения филграстима повышался уровень Г-КСФ, возрастало количество лейкоцитов достоверно и на них изменялась экспрессия поверхностных рецепторов. Таким образом, назначение филграстима приводило к увеличению эффективности антибактериальной терапии и улучшению функции нейтрофилов, снижало гиперактивность провоспалительных процессов [Gross-Weege W. et al., 1997].

Рандомизированное изучение эффективности рГ-КСФ было проведено у больных диабетом с воспалительными поражениями стопы. У больных, получавших рГ-КСФ (20 пациентов) и плацебо (20 пациентов), применялись сходные режимы антибактериальной терапии и инсулинотерапии. Терапия рГ-КСФ приводила к более ранней эрадикации патогенных микроорганизмов из инфицированных язв, более быстрому разрешению целлюлита и сокращению сроков госпитализации, более короткой длительностью курсов внутривенного введения антибиотиков. Ни один из больных, получавших рГ-КСФ, не нуждался в хирургическом вмешательстве, в то время как в группе сравнения у четверых больных проведены операции (причем у двоих — ампутации). При проведении терапии рГ-КСФ у больных к седьмому дню достоверно повышалась продукция нейтро-

филами супероксиданион-радикала, при этом терапия рГ-КСФ хорошо переносилась пациентами [Gough A. et al., 1997].

Применение филграстима (5 мкг/кг/сут) в периоперационный период при резекции и пластике пищевода у 30 больных раком пищевода позволило снизить частоту инфекционных осложнений с 39 % в контроле до 10,5 %. При этом летальность уменьшилась с 9,1 % до 0. У 11 онкологических пациентов при проведении радикальной вульвэктомии назначение филграстима в дозе 300 мкг/сут до и после операции (вместе со стандартной антибактериальной терапией) приводило к уменьшению раневого отделяемого, снижению температуры тела и увеличению доли больных с полным первичным заживлением ран [Lorenz W. et al., 1994].

У троих больных с рефрактерным хроническим синуситом, которым не помогали ни антибактериальная терапия, ни хирургическое лечение, назначение филграстима в дозе 300 мкг/сут привело к полной ремиссии инфекционного процесса.

Интересен также случай применения рГ-КСФ у пациента с инфекционным эндокардитом, резистентным к терапии антибактериальными препаратами. При использовании рГ-КСФ отмечалось трехкратное увеличение числа лейкоцитов при нормализации уровня СОЭ, С-реактивного белка, нормализация температуры без каких-либо побочных эффектов.

В посттрансплантационном периоде у реципиентов аллогенной печени, получавших рГ-КСФ (5–10 мкг/кг/сут), частота сепсиса была снижена в 3, а острого отторжения — в 2,5 раза по сравнению с контрольной группой. Аналогичные данные в эксперименте получены в отношении пересадки сердца, что связывают со сниженным уровнем ФНО- α .

Таким образом, имеются убедительные основания считать рГ-КСФ (его препарат филграстим) эффективным иммуномодулирующим агентом, который стимулирует селективное привлечение к очагам инфекции нейтрофилов, повышает бактерицидный потенциал этих клеток, нормализует баланс провоспалительных цитокинов. Уникальные свойства препарата позволяют использовать его для повышения неспецифической резистентности у больных с иммунодефицитными состояниями различного генеза, пожилых пациентов, а также у хирургических больных, имеющих высокий риск развития инфекционных осложнений. При этом следует помнить об основном принципе проведения иммуномодулирующей терапии — индивидуализации: определении четких показаний, дозы и режима введения препарата [Серебряная Н. Б., Жибурт Е. Б., 1998].

4.3. Эмульсии перфторуглеродов — кровезаменители с газотранспортной функцией

Большинство распространенных кровезаменителей не компенсируют одной из основных функций крови — доставки кислорода тканям. В проблеме поиска кровезаменителей с газотранспортной функцией существует два направления: 1) использование модифицированного гемоглобина в роли переносчика газов; 2) использование в качестве субстрата, переносящего газ, эмульсий перфторуглеродов.

Первое направление за рубежом активно развивают 7 компаний: Aji Pharma USA, Baxter Healthcare Corporation, Biopure/Upjohn, Enzon, Hemosol, Northfield Laboratories и Somatogen. Два препарата: о-раффиноза-полимеризованный гемоглобин «Hemolink» (Hemosol) и бычий гемоглобин, «упакованный» с использова-

нием ПЭГ (полиэтиленгликоль), получили разрешение к клиническому использованию, а еще три проходят клинические испытания [Ogden J., MacDonald S. L., 1995]. В Российском НИИ гематологии и трансфузиологии под руководством профессора Е. А. Селиванова разработан «Геленпол» — инфузионный раствор полифункционального действия на основе пиридоксилированного гемоглобина [Молоковская И. Е., 1995]. Есть надежда, что в ближайшие годы растворы на основе гемоглобина обогатят клиническую практику [Chang T. M. S., 1998; Winslow R. M., 1999].

Наиболее важные практические результаты получены при использовании эмульсий перфторуглеродов — химически и физически инертных соединений, растворяющих до 60 об % кислорода и до 90 об % углекислого газа. Первый отечественный препарат с газотранспортной функцией из этой группы — перфторан (табл. 4-2) разрешен к широкому клиническому применению. Комплекс экспериментальных и клинических исследований по апробации перфторана проведен в ГВКГ им. акад. Н. Н. Бурденко, Институте хирургии им. А. В. Вишневского РАМН, НИИТ и ИО МЗМП РФ, НИИССХ им. А. Н. Бакулева, ИТ и ЭБ РАН, Военно-медицинской академии.

Установлено, что перфторан:

- осуществляет кислородтранспортную функцию на уровне микроциркуляции — снабжает кислородом ткани через наиболее мелкие капилляры, увеличивая эффективную площадь сосудов и минутный объем кровотока;
- создает условия для быстрого и полного освобождения кислорода из эритроцитов в результате большого значения константы диффузии для кислорода и углекислого газа в эмульсии и путем сдвига кривой диссоциации оксигемоглобина;
- уменьшает вязкость системы эритроциты—плазма—эмульсия, увеличивая тем самым минутный кровоток;
- осуществляет протекторную функцию — стабилизирует трансмембранный градиент ионов калия, кальция, водорода и воды, повышает устойчивость клеточных мембран к действию осмотических, механических и химических повреждающих агентов, уменьшает гемолиз, агрегационную способность и вязкость эритроцитов, повышает деформируемость эритроцитов и как следствие этого улучшает реологические свойства системы эритроциты—плазма—эмульсия;
- является эффективным жидким сорбентом с развитой активной поверхностью, площадь которой составляет 600 м² в каждом 100 мл эмульсии; каждый миллилитр перфторана связывает 10 мг липидов, 400—3000 мл перфторана могут разрушить путем сорбции 4—30 г липидов — основы жировых эмболов; перфторан — единственный препарат, который действует при жировой эмболии сразу, а не через 12—18 ч, как это бывает при введении липостабила;
- обладает антиоксидантным действием;
- активирует дезинтоксикационную функцию печени;
- не оказывает токсического влияния на органы и ткани, не обладает канцерогенностью, мутагенностью, эмбриотоксичностью [Мороз В. В. и др., 1995; Шевченко Ю. Л. и др., 1995].

Показания к применению перфторана:

- острая и хроническая гиповолемия;
- нарушения микроциркуляции, тканевого газообмена и метаболизма разной этиологии (гнойно-септические состояния, нарушения мозгового кровообращения, жировая эмболия, инфекции, респираторный дистресс-синдром взрослых, ДВС-синдром);
- защита донорских органов (подготовка донора и реципиента);
- использование в аппарате искусственного кровообращения;
- регионарная перфузия конечности, миокарда;
- лаваж легких и ран.

Разовая доза внутривенно капельно и струйно вводимого перфторана составляет от 6 до 20 мл на 1 кг массы тела. Перфторан хранится в замороженном виде и размораживается перед инфузией.

Таблица 4-2

Состав и физико-химические свойства перфторана

Перфтордекалин	15,2 г
Перфторметилциклогексилпиперидин	7,6 г
Проксанол-268	4,0 г
Натрия хлорид	0,6 г
Калия хлорид	0,039 г
Магния хлорид	0,019 г
Кальция хлорид	0,028 г
Натрия гидрокарбонат	0,13 г
Натрия гидрофосфат	0,02 г
Глюкоза	0,2 г
Вода для инъекций	До 100 мл
Содержание ионов фтора	10^{-5} М
Средний размер частиц	0,07—0,15 мк
Осмотическое давление	280—340 мосм
Вязкость	2,5 сП
рН	7,4—7,6 сП
Растворимость O ₂ (при pO ₂ 760 мм рт. ст.)	7 об %
Растворимость CO ₂ (при pCO ₂ 760 мм рт. ст.)	60 об %
ЛД ₅₀	140 мл/кг

4.4. Плазмозаменители на основе гидроксиэтилированного крахмала в клинической практике

Инфузионно-трансфузионная терапия (ИТТ) является неотъемлемым компонентом лечения большинства заболеваний в хирургии и смежных с ней отраслях клинической медицины. Среди средств, альтернативных трансфузиям аллогенной крови, наряду с аутодонорством и стимуляторами гемопоэза, важное место занимают плазмозамещающие растворы, способные «протезировать» некоторые функции крови: 1) поддержание объема и артериального давления; 2) поддержание водно-солевого баланса; 3) детоксикация; 4) обеспечение питательными веществами; 5) транспорт газов.

Аналогичным образом на пять классов подразделяются плазмозамещающие растворы (традиционные синонимы: «кровезаменители», «плазмозаменители»), причем идеального препарата, полностью замещающего плазму, не существует.

Важнейшее место среди кровезаменителей занимают инфузионные растворы гемодинамического действия (противошоковые), широкое использование которых обусловлено рядом причин. Во-первых, растворы этой группы представляют собой жизненно необходимые препараты, применяемые в экстренном порядке при лечении кровопотери, шока и тяжелых повреждений. Во-вторых, современное состояние инфекционной и иммунологической безопасности гемотрансфузионной терапии предполагает ограниченное применение донорской крови в пользу клинически обоснованных программ использования кровезамещающих растворов. Кроме того, широкие возможности хранения и транспортировки кровезаменителей обуславливают приоритет их использования в условиях катастроф, стихийных бедствий и при массовых поражениях военного времени. Наконец, немаловажную роль играют и экономические сопоставления стоимости кровезаменителей гемодинамического действия и компонентов донорской крови.

Совершенствование клинического использования плазмозаменителей базируется на прогрессе технологий их производства, экспериментального изучения механизмов действия в интересах повышения эффективности и безопасности препаратов.

Наиболее впечатляющие достижения в последние годы получены в разработке и применении синтетических коллоидных растворов на основе гидроксиэтилкрахмала (ГЭК), которые, наряду с растворами декстрана, желатина и полиэтиленгликоля, а также природными коллоидами (альбумин), относятся к группе плазмозаменителей гемодинамического (противошокового) действия [Жибурт Е. Б. и др., 1999].

Инфузионные средства производят на основе ГЭК — высокомолекулярного полисахарида, получаемого из крахмала картофеля, зерен кукурузы, пшеницы, риса и состоящего из полимеризованных остатков глюкозы. Для защиты от быстрого гидролитического расщепления сывороточной амилазой препарат крахмала подвергают гидроксиэтилированию. Фракционирование позволяет разделить субстанцию ГЭК на низко- (40–70 кД), средние- (около 200 кД) и высокомолекулярные (около 450 кД) препараты. Кроме длины полимерной цепи, фармакологическая активность препаратов ГЭК определяется степенью замещения гидроксиэтиловыми группами остатков глюкозы, характером замещения, концентрацией раствора.

От степени молекулярного замещения зависит скорость элиминации препарата из кровеносного русла: увеличение степени замещения с 0,5 до 0,7 сопровождается выраженным возрастанием длительности циркуляции ГЭК. Величина молекулярной массы ГЭК определяет динамику процесса восполнения объема внутрисосудистой жидкости. При введении низкомолекулярных препаратов их объемзамещающее действие наступает быстро, однако они интенсивно покидают сосудистое русло (порог почечной проницаемости около 70 кД). Инфузия растворов высокомолекулярного ГЭК проявляется более замедленным терапевтическим эффектом, обусловленным формированием активных коллоидно-осмотических низкомолекулярных фракций под действием сывороточной альфа-1,4-амилазы. Изменение концентрации раствора ГЭК, одинакового по молекулярной массе и степени замещения, обуславливает его онкотическую активность. 10 % раствор ГЭК (HES 200/0,5) является гиперонкотическим по отношению к плазме крови, в то время как 6 % раствор HES 200/0,5 — изоонкотическим.

Следует подчеркнуть важную особенность современных препаратов ГЭК: увеличенная продолжительность объемзамещающего действия, плато которого составляет 3—4 ч. Осмотически активные фрагменты длительно циркулируют в крови; несмотря на активное выведение почками, пул низкомолекулярных фракций достаточно стабилен и пополняется за счет ферментативного расщепления высокомолекулярных субстанций.

Растворы ГЭК выводятся в основном через почки, период полувыведения фракции, подверженной быстрой элиминации, в среднем около 3 ч.

Медленно элиминирующая фракция ГЭК, образующаяся в процессе расщепления его высокомолекулярных соединений, задерживается в организме гораздо дольше (период полувыведения — около 30 ч). Интенсивность выделения продуктов ГЭК через почки зависит от степени молекулярного замещения. Как и другие синтетические коллоиды, ГЭК способен после инфузии накапливаться в клетках печени, селезенки и ретикуло-эндотелиальной системы, однако по сравнению с декстранами и производными желатина этот эффект менее выражен по интенсивности и по длительности. Токсическое повреждение паренхиматозных органов продуктами ГЭК отсутствует. В целом, препараты ГЭК, в особенности препараты второго поколения, например Инфукол ГЭК (HES 200/0,5), отличаются исключительно высокой переносимостью и практически полным отсутствием побочного действия [Аскали Ф., Фестер Х., 1998].

Проводились многочисленные исследования сравнительной оценки эффективности растворов ГЭК и коллоидов других групп кровезаменителей при шоке и кровопотере. Растворы декстрана имеют достаточно высокие показатели волемического коэффициента — степень увеличения объема внутрисосудистой жидкости при введении кровезаменителя (для 10 % раствора декстрана-40 (реополиглюкина) — 175 %, для 6 % раствора декстрана-70 (полиглюкина) — 130 %) и продолжительность объемного действия (3—6 часов), однако декстран в наибольшей степени среди всех коллоидных препаратов негативно влияет на свертывающую систему крови, а также способен вызывать снижение клубочковой фильтрации в почках за счет повышения вязкости мочи. Поэтому максимальные суточные дозы инфузии декстранов ограничены 20 мл для 6 % раствора декстрана-70 (полиглюкина) и 15 мл для 10 % раствора декстрана-40 (реополиглюкина) на 1 кг массы тела.

При инфузии растворов желатина их объемный эффект составляет в среднем около 70 % (для желатиноля — Россия — 60 %, для гелофузина — Германия —

100 %). Объемзамещающий эффект продолжается в среднем 2—3 ч, что создает существенный риск для больных с гиповолемией. Другими словами, для достижения одинакового волемического эффекта пациентам следует перелить 6 % раствора ГЭК в 1,6 раза меньше, а если 10 % раствор — то в 2 раза меньше, чем растворов желатина. Кроме того, нет четких доказательств, что растворы желатина, который производится из тканей крупного рогатого скота, не могут представлять опасность заражения пациентов возбудителем трансмиссивной губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота, вызывающим у человека болезнь Крейтцфельда—Якоба.

Растворы ГЭК по объемному коэффициенту не уступают декстранам: волемический коэффициент 10 % HES 200/0,5 составляет 145 %, а 6 % HES 200/0,5 — 100 %. Использование растворов HES 200/0,5 при гиповолемии сопровождается отчетливым терапевтическим эффектом. Инфузия всего 480 мл 10 % раствора HES 200/0,5 при гиповолемии сопровождается увеличением сердечного индекса на 23 %, транспорта кислорода — на 14 %, его потребления — на 28 %. Рекомендуемая суточная доза для препаратов ГЭК составляет 20 мл на 1 кг массы тела для 10 % раствора и до 33 мл на 1 кг массы тела для 6 % раствора, однако даже ее значительное превышение (до 55 мл на 1 кг) не оказывало заметных отрицательных последствий.

Преимущества растворов ГЭК по сравнению с другими коллоидами также определяются низкой иммуногенностью. Частота аллергических реакций при инфузии ГЭК ниже в 2—3 раза по сравнению с растворами желатина и декстрана, составляя в среднем 0,115 %. При этом тяжелые анафилактические осложнения встречаются крайне редко (0,000 47 %) [Молчанов И. В. и др., 1998].

При оказании реанимационной помощи пациентам с кровопотерей и шоком растворы ГЭК имеют существенные преимущества и перед натуральными коллоидами, в частности растворами альбумина или донорской плазмой.

Донорская плазма, например, обладает волемическими и гемодинамическими свойствами, не превышающими аналогичных показателей растворов ГЭК. Более того, инфузия больших объемов донорской плазмы увеличивает вероятность развития инфекционных и иммунологических посттрансфузионных осложнений. К тому же для начала трансфузий донорской плазмы требуется время для ее подготовки (размораживание, проведение проб). Растворам альбумина присущ волемический эффект, но быстрый обмен альбумина с внесосудистым пулом вследствие высокой капиллярной проницаемости способствует повышению онкотического интерстициального давления и привлечению жидкости в этот сектор, что может сопровождаться рядом осложнений (увеличение длительности ИВЛ у реанимационных пациентов, снижение сократительной функции левого желудочка). Сравнительный анализ гемодинамического действия инфузии равных количеств (500 мл) 5 % раствора альбумина, свежезамороженной плазмы и 6 % раствора ГЭК у больных с гиповолемией выявил повышение сердечного индекса соответственно на 0,46, 0,50 и 0,53 (л/мин • м²), а увеличение парциального давления кислорода в тканях после инфузии ГЭК было почти в 2 раза выше, чем после переливания альбумина. Растворы ГЭК в несколько раз дешевле препаратов донорской крови (альбумин, плазма), что в условиях постоянного снижения расходов на здравоохранение имеет важное экономическое значение [Shoemaker W. C., Wo C. C. J., 1998].

Негативное влияние на свертывающую систему крови иногда способны оказывать в основном высокомолекулярные препараты ГЭК, имеющие большую сте-

пень замещения. Среднемолекулярные препараты ГЭК со средней степенью замещения при обычных дозах введения не оказывают существенного влияния на показатели гемостаза, и только при введении в объеме 1000 мл и более за счет первичной гемодилюции может снижаться содержание фибриногена, фактора VIII:C и количества тромбоцитов.

Указанные особенности фармакодинамики и результаты клинических исследований способствовали более широкому применению в хирургической практике растворов ГЭК с молекулярной массой около 200 кД и степенью замещения 0,5 (HES 200/0,5), в частности Инфукол ГЭК (HES 200/0,5 — Serum-Werk Bernburg AG, Германия), haes-steril (Fresenius, Германия), рефортан (Berlin-Chemi AG, Германия). Препарат Инфукол ГЭК (HES 200/0,5) представляет собой второе поколение растворов гидроксиэтилкрахмала. Технология его получения позволяет производить субстанцию с максимально узким молекулярно-массовым распределением и точно заданными молекулярными параметрами (степень и характер замещения). По сравнению с другими гидроксиэтилкрахмалами Инфукол ГЭК (HES 200/0,5) имеет не только оптимальное молекулярно-массовое распределение, но и максимально высокие стандарты качества и воспроизводимости, обеспечивающие оптимальное волеическое действие и стандартно высокую терапевтическую эффективность, что делает его универсальным препаратом первоочередного применения.

Растворы HES 200/0,5 широко применяются в кардиохирургии при операциях на сердце в условиях искусственного кровообращения: их используют как для заполнения АИК, так и для стабилизации гемодинамики в раннем послеоперационном периоде. У детей в послеоперационном периоде 6 % раствор ГЭК в дозах до 32 мл на 1 кг массы тела обладает терапевтическим эффектом, сопоставимым с растворами альбумина в аналогичных объемах, в восполнении объема внутрисосудистой жидкости.

Высокая эффективность растворов HES 200/0,5 выявлена при проведении острой нормоволемической гемодилюции у детей и взрослых. Препарат оказался безопасным, способствовал существенному снижению кровопотери и уменьшению объема трансфузий аллогенной крови, несмотря на то что применялся в высоких дозах — 33 мл и даже 55 мл на 1 кг массы тела.

Проводимые в различных странах исследования продемонстрировали терапевтическую ценность растворов ГЭК, в частности HES 200/0,5, в коррекции нарушений микроциркуляции при нарушениях мозгового кровообращения, окклюзиях периферических артерий конечностей, расстройствах кровообращения органов зрения и слуха. При плацебо-контролируемом исследовании у больных с облитерирующими заболеваниями сосудов нижних конечностей достоверное увеличение расстояния, которое пациент проходил до появления ишемических болей, при лечении ГЭК (200—500 мл/сут 2 раза в неделю в течение 6 нед) наблюдалось у 50 % случаев, а при использовании декстрана по аналогичной схеме — только у 28 %.

Противопоказания к применению растворов ГЭК являются характерными для коллоидных кровезаменителей:

- декомпенсированная сердечная недостаточность;
- почечная недостаточность (концентрация креатинина сыворотки крови превышает 177 мкмоль/л);
- состояния гиперволемии и выраженной интерстициальной дегидратации;

- внутричерепные кровотечения;
- геморрагический синдром;
- индивидуальная непереносимость продуктов крахмала.

Таким образом, использование растворов ГЭК в клинической практике свидетельствует об их высокой гемодинамической эффективности, способности к связыванию жидкости и ее удержанию в сосудистом русле (объемзамещающее действие), улучшению реологических свойств крови, восстановлению микроциркуляции, повышению доставки кислорода, усилению сердечного выброса. Это позволяет широко применять препараты этой группы для профилактики и лечения гиповолемии и шока, развивающихся при травмах, ранениях, ожогах, сепсисе, хирургических операциях, а также для проведения терапевтической гемодилюции (табл. 4-3) [Жибурт Е. Б. и др., 1999].

Таблица 4-3

Преимущества применения плазмозаменителей — растворов гидроксиэтилкрахмала

Быстрый и продолжительный объемзамещающий эффект
 Увеличение сердечного выброса и давления перфузии
 Усиление транспорта и потребления кислорода
 Минимальное депонирование и иммуногенность
 Отсутствие токсического действия
 Улучшение микроциркуляции
 Профилактика синдрома повышенной проницаемости капилляров
 Снижение экспрессии и блокада циркуляции молекул адгезии
 Не угнетают экспрессию поверхностных антигенов моноцитов
 Не активируют систему комплемента

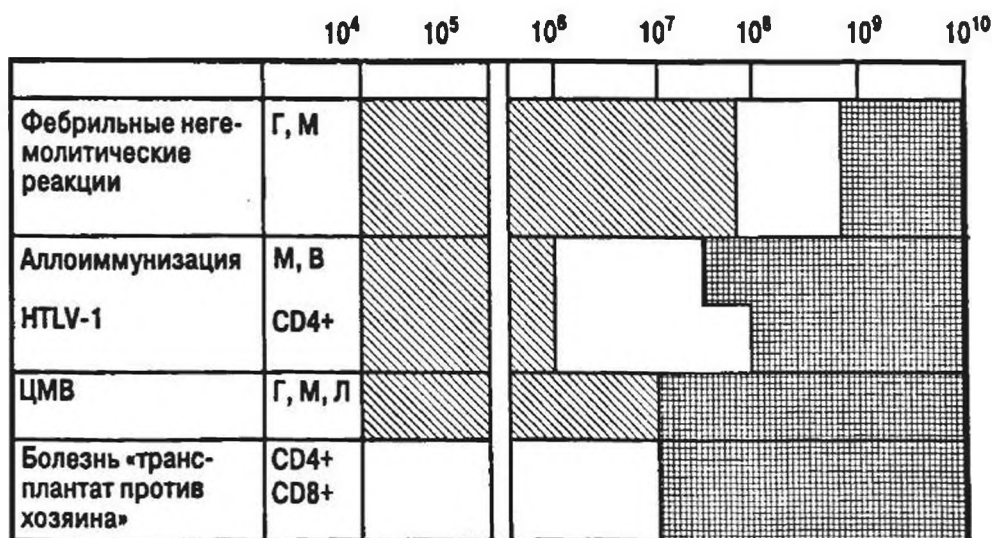
4.5. Лейкоцитарные фильтры

Побочные эффекты гемотрансфузий (см. разделы 1.3—1.9, 2.2, 3.1 и 3.2), обусловленные примесью лейкоцитов в гемокомпоненте, в обобщенном виде представлены в табл. 4-4.

Учитывая достаточно четкую зависимость развития посттрансфузионных осложнений от количества лейкоцитов (рис. 4-1), Европейский Совет по трансфузионной медицине рекомендует снижать примесь лейкоцитов в дозе клеточных компонентов крови менее чем $1,0 \times 10^6$. Традиционные методы удаления лейкоцитов (центрифугирование, криоконсервирование, отмывание, использование фильтров первого и второго поколения) не дают подобной чистоты (табл. 4-5 и 4-6). Лейкоцитарные фильтры третьего поколения фирмы Terumo (Япония) — Imugard III — RC (для эритроцитсодержащих сред) и Imugard III — PL (для концентрата тромбоцитов) позволяют выполнить эти рекомендации — удалить из клеточных компонентов крови микроагрегаты и до 99—99,9 % лейкоцитов, снижая их уровень менее чем $2,0 \times 10^5$ (табл. 4-6 и 4-7).

Нежелательные эффекты примеси лейкоцитов в переливаемых клеточных компонентах крови

Осложнения и реакции после переливания гемокомпонентов, содержащих лейкоциты	Методы профилактики, снижение риска
Осложнения иммунного генеза: HLA-аллоиммунизация Рефрактерность к трансфузиям КТ Фебрильные негемолитические реакции Острое поражение легких Иммуносупрессия ПТБТПХ	Лейкоцитарные фильтры III поколения » » » » Гамма-облучение 15—25 Гр
Передача внутриклеточных вирусов: Вирусы герпеса Ретровирусы	Лейкоцитарные фильтры III поколения или тщательное обследование доноров на ЦМВ, HTLV, ВИЧ



Число лейкоцитов в ЭМ/КТ ($< 2 \times 10^6$)
после пропускания через лейкоцитный
фильтр Imugard III Terumo (Япония)

— высокая встречаемость — неизвестно — предотвращает

Рис. 4-1. Посттрансфузионные реакции и осложнения, обусловленные примесью лейкоцитов в клеточных компонентах крови.

Г — гранулоциты, М — моноциты, В — В-лимфоциты, Л — лимфоциты; CD4+ — Т-хелпер, CD8+ — Т-супрессор.

Применение фильтров при переливании компонентов крови

Поколение	Размер пор	Механизм фильтрации	Примечание
Первое	170—260 мкм	Просеивающий фильтр	Удаляет только большие фрагменты Вообще рекомендуется как «стандартный» фильтр крови Применяется для всех компонентов крови
Второе	20—40 мкм	Микропористый просеивающий фильтр	Удаляет 75—90 % лейкоцитов Рекомендуется как микроагрегатный и микропористый фильтр Применяется только для эритроцитов, вместе со 170-микронным фильтром
Третье Imugard III Terumo (Япония)	Не применяется	Адгезивный фильтр	Удаляет 99—99,9 % лейкоцитов Рекомендуется как адсорбционный фильтр для эритроцитов, и тромбоцитов, вместе со 170-микронным фильтром

Таблица 4-6

Примесь лейкоцитов в эритроцитсодержащих средах, полученных различными методами

Показатели	ЭМ через лейкоцитарный фильтр Imugard III-RC	Эритроцитная масса, обедненная лейкоцитами и тромбоцитами	Размороженные отмытые эритроциты	Эритроцитные			Цельная кровь
				взвесь	концентрат	масса	
Количество лейкоцитов в дозе, приготовленной из 500 мл консервированной крови	$< 2 \times 10^5$	$< 0,7 \times 10^8$	$< 0,1 \times 10^9$	$< 1,2 \times 10^9$	$< 1,2 \times 10^9$	$< 3 \times 10^9$	100 %
Объем дозы, мл	250	140	130	300	225	280	500
Анемия с наличием антител:							
к белкам плазмы	—	+	++	—	—	—	—
к эритроцитам	(+)	(++)	(++)	(+)	(+)	(+)	—
к HLA	++++	++	++	+	+	—	—

Примечание:

+ / ++ / +++ — показана;

— — не показана;

(+) — по индивидуальному подбору.

**Примесь лейкоцитов в концентратах тромбоцитов,
полученных различными методами**

Показатели	Методы выделения концентрата тромбоцитов (КТ)		
	аферез (один донор)	из обогащенной тром- боцитами плазмы од- ного донора	из лейкоцитарно- тромбоцитарного слоя крови одного донора
Количество тромбоцитов	$\geq 3,0 \times 10^{11}$	$0,78 \pm 0,13 \times 10^{11}$	$0,67 \pm 0,16 \times 10^{11}$
Объем КТ, мл	350	55 ± 5	64 ± 10
Примесь лейкоцитов в КТ до фильтрации	$4,45 \times 10^7$ (в среднем)	$1,20 \pm 0,30 \times 10^8$	$0,22 \pm 0,15 \times 10^8$
Примесь лейкоцитов в КТ после пропускания через лейкоцитарный фильтр Imugard III-PL	$< 0,1 \times 10^5$	$< 2,0 \times 10^5$ в пуле мешков	Из 10 одиночных КТ
Потери тромбоцитов при фильтрации	$< 10 \%$		

В процессе хранения крови или ее клеточных компонентов происходит частичное разрушение лейкоцитов. Образующиеся фрагменты, как и целые лейкоциты, могут вызывать HLA-аллоиммунизацию, а освободившиеся из клеток цитокины и другие биологические вещества — фебрильные и нефебрильные посттрансфузионные реакции [Muylle L., 1999]. Учитывая это, выпускаются две разновидности лейкоцитарных фильтров:

- для фильтрования клеточных компонентов крови сразу после их изготовления в учреждениях службы крови;
- для фильтрования клеточных компонентов крови у постели больного в процессе их переливания.

Использование лейкоцитарных фильтров третьего поколения Imugard III — RC при переливании эритроцитсодержащих сред рекомендуется:

- при повторных фебрильных негемолитических посттрансфузионных реакциях;
- при предполагаемом длительном, повторном переливании эритроцитсодержащих сред;
- у потенциальных кандидатов на трансплантацию костного мозга;
- у HLA-аллоиммунизированных и рефрактерных больных с анемиями.

Использование лейкоцитарных фильтров третьего поколения Imugard III — PL при переливании КТ, рекомендуется:

- при повторных фебрильных негемолитических посттрансфузионных реакциях;
- при предполагаемой длительной, повторной тромбоцитотерапии;

- у потенциальных кандидатов на трансплантацию костного мозга;
- у аллоиммунизированных и рефрактерных больных с кровотечениями.

Учитывая множественность положительных эффектов элиминации лейкоцитов [Blajman M. A., 1998] Администрация по пищевым продуктам и лекарствам США рассматривает вопрос об обязательном удалении лейкоцитов из всех трансфузионных сред [G. M. Fitzpatrick, персональное сообщение].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эффективность афферентной гемокомпонентной терапии («трансплантации крови») определяется реализацией мероприятий по обеспечению безопасности, в основе которых лежит четкая, строго регламентированная система организации производства, транспортировки, хранения и применения компонентов и препаратов крови. Производственная деятельность службы крови должна быть организована в соответствии с требованиями GMP (Good Manufacturing Practice), аналогичными принятым на фармацевтических предприятиях, с соответствующим обеспечением гарантии качества продукции.

Для профилактики иммунологических осложнений афферентной гемокомпонентной терапии необходим комплекс мер по обеспечению максимальной иммунологической совместимости донора и реципиента (определение лиц с частичным антигеном D, обеспечение совместимости по минорным антигенам эритроцитов, проведение проб на совместимость с использованием антиглобулинового реагента), элиминации «балластных» аллоантигенов из трансфузионной среды. Актуально внедрение высокоэффективных лейкоцитарных фильтров.

Совершенствование инфекционной безопасности гемокомпонентной терапии у иммунокомпетентных реципиентов связано с качественным отбором доноров, применением для лабораторного контроля наиболее чувствительных и специфичных диагностических методов обнаружения маркеров гемотрансмиссивных инфекций. Перспективны методы обеззараживания гемотрансфузионных сред.

Обеспечение инфекционной безопасности гемокомпонентной терапии у иммунокомпрометированных реципиентов осуществляется путем профилактики передачи с гемокомпонентами более широкого спектра возбудителей гемотрансмиссивных инфекций (вирусы группы герпеса, токсоплазмоз и другие). К этой категории больных могут быть отнесены и пациенты с тяжелыми хирургическими инфекциями, у которых сочетание гиперпродукции эндогенных иммуномедиаторов и снижения функциональной активности иммунокомпетентных клеток ведет к активации персистирующих вирусов, в том числе и в донорских клетках.

Проведение ГТТ сопровождается модуляцией активности некоторых звеньев иммунной системы, но не имеет значительного угнетающего действия на важнейшие параметры противоинфекционного и противоопухолевого иммунитета. Необходимо отметить, что полученные результаты связаны с трансфузиями преимущественно обедненных лейкоцитами гемотрансфузионных сред (эритроцитоконцентрат). Значительное влияние на ход иммунных процессов у реципиентов гемотрансфузий оказывал исходный иммунный статус, что подтверждают различия, выявленные в группах больных ишемической болезнью сердца и ревматическими пороками сердца, имевших сходные режимы гемотрансфузионной терапии.

Повышению эффективности лечебного процесса послужат внедрение в арсенал клинического трансфузиолога высокоэффективных крове- и плазмозамени-

телей, рекомбинатных и синтетических белков системы крови, средств остановки кровотечения.

Иммуномодифицирующее действие эфферентной и квантовой гемокомпонентной терапии опосредовано изменением продукции и содержания эндогенных иммуномодуляторов. В качестве критериев для определения показаний и диагностического мониторинга иммунокорректирующей квантовой гемотерапии следует использовать продукцию интерлейкина-1 и активность естественных киллеров. Этот перечень предстоит расширить.

Обеспечение безопасности, эффективности и биологической полноценности гемотрансфузионных сред является краеугольным камнем развития трансфузионной медицины. Улучшение подготовки персонала, совершенствование материальной базы службы крови и внедрение передовых технологий послужат на пользу больному человеку. Много сделано, еще больше предстоит сделать.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Аграненко В. А., Кавешникова Б. Ф. Трансфузионная медицина — современные проблемы и перспективы // Гематол. и трансфузиол.— 1994.— Т. 39, № 1.— С. 41—44.

Алексеев Л. П. Биологическая роль системы HLA // Иммунология.— 1985.— № 3.— С. 5—10.

Алексеев Л. П., Болдырева М. Н., Трофимов Д. Ю. Первый отечественный опыт секции донора аллогенной почки на основе HLA-DRB1-генотипирования // Иммунология.— 1997.— № 5.— С. 21—23.

Аскали Ф., Фестер Х. Гидроксипроцеллюлоза из сырья различного происхождения: сопоставление фармакодинамики и фармакокинетики // Вестн. интенсивной терапии.— 1998.— № 1.— С. 42—50.

Ашинов Н. А. Иммуногематологический статус при хирургическом лечении больных инфекционным эндокардитом: Дис. ... канд. мед. наук.— СПб., 1999.— 122 с.

Багаутдинов Ш. М. Совершенствование методов долгосрочного хранения крови и костного мозга в замороженном состоянии в службе крови Вооруженных Сил: Дис. ... д-ра биол. наук.— СПб., 1998.— 256 с.

Балашов Д. Н., Богачева Н. Ю., Скоробогатова Е. Н. и др. Лечебные трансфузии гранулоцитов при рефрактерных бактериальных и грибковых инфекциях у детей с гемобластозами и апластическими анемиями // Гематол. и трансфузиол.— 1999.— Т. 44, № 3.— С. 8—12.

Баранова О. В. Совершенствование обеспечения инфекционной безопасности гемокомпонентной терапии в Республике Карелия: Дис. ... канд. мед. наук.— СПб., 1999.— 152 с.

Барановский А. Ю. К вопросу о возможных механизмах лечебного действия аутотрансфузии УФ-облученной крови при лечении язвенной болезни желудка // Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных / Под ред. И. Е. Ганелиной, К. А. Самойловой.— Л.: Наука, 1986.— С. 109—118.

Барановский П. М., Артемьев М. И., Елов А. А. и др. Опыт исследования донорской крови методом полимеразной цепной реакции // Вестн. службы крови Росси.— 1998.— № 1.— С. 17—18.

Беглова С. М., Лыцев А. А., Асади А. Х. Результаты участия Медицинского центра Авиценна в международной программе контроля качества диагностики вирусных инфекций методом ПЦР // Гепатит В, С и D — проблемы диагностики, лечения и профилактики.— М., 1999.— С. 17—18.

Белишева И. К., Фирулина И. И., Васюхин В. И. Модификация ростостимулирующих свойств донорской крови при ее УФ-облучении // Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных / Под ред. И. Е. Ганелиной, К. А. Самойловой.— Л.: Наука, 1986.— С. 194—202.

Бельков А. В., Писаревский А. А. Возможности перфузионных методов в комплексном интенсивном лечении перитонита // Вестн. хир.— 1992.— Т. 148, № 5.— С. 220—225.

Бельских А. Н., Гуревич К. Я., Тулупов А. Н. Эфферентные методы в лечении больных инфекционными деструкциями легких и плевры // Экстракорпоральная детоксикация и гемокоррекция в клинической практике / Тр. Воен.-мед. акад.—СПб., 1993.— Т. 233.— С. 56—61.

Бельских А. Н., Костюченко А. Л., Жибурт Е. Б., Сизов Д. Н. Новые возможности оценки эффективности экстракорпоральных методов гемокоррекции в лечении больных с острыми гнойно-деструктивными заболеваниями легких и плевры // Клиническая лабораторная диагностика.— 1996.— № 1.— С. 42—43.

Беляков Н. А., Остапенко В. А., Папп М. О. и др. Эфферентные методы терапии при бронхолегочных заболеваниях // III национальный конгресс по заболеваниям органов дыхания.— СПб., 1992.— С. 789.

Березов Т. Т., Коровкин Б. Ф. Биологическая химия.— М.: Медицина, 1983.— 752 с.

Бирюков Ю. В., Бокарев М. И., Савина Т. С. и др. Влияние аутогемотрансфузии на внутрисосудистое микросвертывание крови при оперативном лечении рака легкого // Грудн. и сердечно-сосудист. хирургия.— 1994.— № 4.— С. 57—60.

Блинов М. Н. Молекулярно-генетические исследования в решении актуальных проблем гематологии и трансфузиологии // Вестн. службы крови России.— 1998.— № 3.— С. 28—33.

Блинов М. Н., Лыщев А. А., Того А. В. и др. Особенности распределения аллелей локусов DRB, DQB и DQA главного комплекса гистосовместимости у здоровых доноров Санкт-Петербурга // *Вопр. онкол.* — 1994. — № 4–6. — С. 185–194.

Борисова В. В. Клинико-иммунологическое и прогностическое значение маркеров герпесвирусов при ВИЧ-инфекции: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— СПб., 1994.— 23 с.

Бриль Г. Е. Значение арахидоновой кислоты и цАМФ-зависимых систем в агрегации тромбоцитов, индуцированной стафилококковым токсином и АДФ // Гематол. и трансфузиол.— 1986.— Т. 31, № 5.— С. 13–15.

Бубнова Л. Н., Зубарева Т. С., Лысова Л. В. и др. Применение метода молекулярного типирования для определения HLA-специфичностей II класса в Республиканском Центре иммунологического типирования тканей // Иммунология.— 1998.— № 2.— С. 54—56.

Букринская А. Г., Жданов В. М. Молекулярные основы патогенности вирусов. — М.: Медицина, 1991. — 256 с.

Бурков А. Н., Маянский А. Н., Астафьев Д. Г. Вирус гепатита G // Журн. микробиол.— 1997.— № 2.— С. 94–97.

Бухарин О. В. Биомедицинские аспекты персистенции бактерий // Журн. микробиол. — 1994. — № 8–9. — С. 4–13.

Венерические болезни: Руководство для врачей / Под ред. О. К. Шапошникова.— М.: Медицина, 1991.— 544 с.

Вихриев Б. С., Маркелов И. М., Матвеевко А. В. и др. Иммуностимулирующее и антиоксидантное действие аутоотрансфузий УФ-облученной крови при термических ожогах // Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных / Под ред. И. Е. Ганелиной, К. А. Самойловой. — Л.: Наука, 1986. — С. 39–49.

ВИЧ-инфекция: Руководство для врачей / Под ред. Э. А. Нечаева.— СПб., 1994.— 448 с.

Войлокова Р. Я., Посевая Т. А., Карахан Н. М. и др. Диагностика герпесвирусной инфекции у больных с аллотрансплантированными органами // *Вопр. вирусол.*— 1993.— Т. 38, № 5.— С. 214—216.

Волгарева Е. В., Самойлова К. А. УФ-облучение донорской крови в аппарате «Изоolda»: модуляция бластогенеза лимфоцитов // *Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных* / Под ред. И. Е. Ганелиной, К. А. Самойловой.— Л.: Наука, 1986.— С. 187—193.

Воробьев А. А., Макаров В. В. Прионные инфекции: важнейшие медицинские и ветеринарные аспекты // *Вестн. РАМН.*— 1997.— № 6.— С. 3—11.

Выговский Р. У., Мотчук В. В., Шевченко Э. В. Применение экстракорпоральной гемосорбции в комплексном лечении синдрома иммунной гиперреактивности // *Актуальные вопросы сепсисологии.*— Тбилиси, 1990.— Т. 1.— С. 384—385.

Гаврилин С. В., Бояринцев В. В., Лебедев В. Ф. и др. Путь уменьшения полипрагмазии при интенсивной терапии у пострадавших с тяжелой травмой // *Анест. и реаниматол.*— 1999.— № 2.— С. 9—12.

Гаврилова А. Ф., Романкова М. П., Артеменко Н. К., Фрейдлин И. С. Клинико-иммунологические параллели при лечении больных аутоотрансфузией УФ-облученной крови // *Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных* / Под ред. И. Е. Ганелиной, К. А. Самойловой.— Л.: Наука.— 1986.— С. 74—79.

Ганелина И. Е., Кукуй Л. М., Николаева Е. П., Криворученко И. В. Применение облученной УФ-лучами аутокрови для лечения больных ишемической болезнью сердца, страдающих тяжелой стенокардией // *Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных* / Под ред. И. Е. Ганелиной, К. А. Самойловой.— Л.: Наука, 1986.— С. 63—74.

Гаркави Л. Х., Квакина Е. Б., Уколова М. А. Адаптационные реакции и резистентность организма.— Ростов н/Д: Изд-во Рост. ун-та, 1990.— 224 с.

Гончарук А. И., Макарецца И. И., Орел В. Ф., Костенко Н. С. Роль квантовой гемотерапии и гипербарической оксигенации в комплексной терапии хирургических заболеваний предстательной железы // *Клиническая ангиология. Современные достижения, перспективы диагностики и лечения.*— М., 1994.— С. 78.

Грицюк А. И., Амосова Е. Н., Грицюк И. А. Практическая гемостазиология.— Киев: Здоров'я, 1994.— 256 с.

Гуревич К. Я. Классификационные принципы методов экстракорпоральной гемокоррекции // *Экстракорпоральная детоксикация и гемокоррекция в клинической практике* / Тр. Воен.-мед. акад.— СПб., 1993.— Т. 233.— С. 16—21.

Гуревич К. Я., Костюченко А. Л. Современные представления и обоснование применения методов экстракорпоральной гемокоррекции // *Экстракорпоральная детоксикация и гемокоррекция в клинической практике* / Тр. Воен.-мед. акад.— СПб., 1993.— Т. 233.— С. 10—16.

Данильченко В. В., Калеко С. П., Борисов И. А. и др. Аутогемотрансфузии при хирургическом лечении заболеваний сосудов // *Клиническая ангиология. Современные достижения, перспективы диагностики и лечения.*— М., 1994.— С. 18.

Данильченко В. В., Попов С. Д., Лазаренко М. И. Спорные, бесспорные, противоречивые и нерешенные вопросы в противопоказаниях к донорству крови // *Гематол. и трансфузиол.*— 1995.— Т. 40, № 5.— С. 47—49.

Дракина С. А., Недзьведь М. К., Коломиец А. Г. и др. Поражение ЦНС при генерализованной герпетической инфекции у взрослых // Клини. мед.— 1995.— Т. 73, № 6.— С. 28—29.

Дурагин Д. С., Наливкин А. Е. Экстракорпоральная детоксикация и иммунокоррекция при тяжелых формах эмпиемы плевры у детей // I Всесоюзный конгресс по заболеваниям органов дыхания.— Киев, 1991.— С. 1017.

Дуткевич И. Г., Головин Г. В., Самойлова К. А., Попов Ю. В. Переливание собственной крови, облученной УФ-лучами разной длины волны как вариант аутогемотрансфузии // Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных / Под ред. И. Е. Ганелиной, К. А. Самойловой.— Л.: Наука, 1986.— С. 18—25.

Елов А. А., Федоров Н. А., Суханов Ю. С. Критерии для отбора систем генотестирования, используемых при контроле вирусной безопасности крови и ее продуктов // Вестн. службы крови России.— 1998.— № 1.— С. 18—20.

Ерухин И. А., Шашков Б. В., Попович А. М. и др. Диагностика и лечение острого эндотоксикоза при травматической болезни // Экстракорпоральная детоксикация и гемокоррекция в клинической практике / Тр. Воен.-мед. акад.— СПб., 1993.— Т. 233.— С. 51—56.

Жданов В. М. Эволюция вирусов.— М.: Медицина, 1990.— 376 с.

Жданов К. В., Лобзин Ю. В., Мукомолов С. Л. и др. Особенности течения различных клинических форм гепатита С у лиц молодого возраста // Гепатит В, С и D — проблемы диагностики, лечения и профилактики.— М., 1999.— С. 73.

Жибурт Е. Б. Иммуномодулирующее действие гемокомпонентной терапии у онкологических пациентов // Вопр. онкол.— 1997.— Т. 43, № 6.— С. 613—617.

Жибурт Е. Б. Обеспечение иммунологической и инфекционной безопасности геомкомпонентной терапии в хирургической практике: Дис. ... д-ра мед. наук.— СПб., 1995.— 392 с.

Жибурт Е. Б. Профилактика посттрансфузионных гепатитов.— СПб.: Терра Медика, 1998.— 52 с.

Жибурт Е. Б. Экономические аспекты вакцинации против гепатита В // Воен.-мед. журн.— 1997.— Т. 318, № 8.— С. 22—24.

Жибурт Е. Б., Андреева Л. С., Савельева Л. П. и др. Двухэтапное определение резус-принадлежности // Клиническая лабораторная диагностика.— 1996.— № 3.— С. 29—30.

Жибурт Е. Б., Андреева Л. С., Савельева Л. П. и др. К определению резус-принадлежности крови // Воен.-мед. журн.— 1996.— Т. 317, № 4.— С. 25—26.

Жибурт Е. Б., Баранова О. В., Бельгесов Н. В. и др. К профилактике гемотрансмиссивного сифилиса // Новое в трансфузиологии.— 1999.— Вып. 23.— С. 85—90.

Жибурт Е. Б., Баранова О. В., Богданова И. П. Прионы — новый класс гемотрансмиссивных инфекций // Вестн. службы крови России.— 1999.— № 2.— С. 58—60.

Жибурт Е. Б., Бельгесов Н. В., Бондарчук Ю. В. и др. Исследование маркеров сифилиса у доноров гемокомпонентов // Клиническая лабораторная диагностика.— 1998.— № 11.— С. 15—17.

Жибурт Е. Б., Бельгесов Н. В., Ващенко Т. Н. и др. Аланинаминотрансфераза — суррогатный маркер вирусного гепатита // Вопр. вирусол.— 1995.— Т. 40, № 1.— С. 25—27.

Жибурт Е. Б., Бельгесов Н. В., Данильченко В. В. и др. Значимость обследования доноров крови в профилактике гепатита С // Журн. микробиол.— 1995.— № 6.— С. 35.

Жибурт Е. Б., Бельгесов Н. В., Данильченко В. В. и др. Сравнительная характеристика тест-систем для определения антител к вирусу гепатита С // Вопр. вирусол.— 1996.— Т. 41, № 2.— С. 61—63.

Жибурт Е. Б., Бельгесов Н. В., Тихменева И. Б. и др. Обследование доноров крови в профилактике сифилиса // Вестн. дерматол.— 1996.— № 3.— С. 39—40.

Жибурт Е. Б., Бойчак М. П., Волчек И. В. и др. Влияние антибиотиков на противовирусную клеточную резистентность при пневмонии // Укр. пульмонолог. журн.— 1994.— № 3.— С. 43—45.

Жибурт Е. Б., Бондарчук Ю. В., Сидоркевич С. В., Серебряная Н. Б. Экономика лабораторного обследования при вакцинации против гепатита В // Клиническая лабораторная диагностика.— 1997.— № 6.— С. 72—73.

Жибурт Е. Б., Данильченко В. В., Бельгесов Н. В. и др. Специфические и суррогатные маркеры гепатита С при скрининге донорской крови // Гематол. и трансфузиол.— 1995.— Т. 40, № 1.— С. 16—18.

Жибурт Е. Б., Данильченко В. В., Сидоркевич С. В. и др. Инфекционная безопасность гемотрансфузионной терапии // Новое в трансфузиологии.— 1997.— Вып. 17.— С. 61—68.

Жибурт Е. Б., Ионова А. И., Данильченко В. В. и др. Распространенность антител к цитомегаловирусу и токсоплазме у доноров гемокомпонентов // Журн. микробиол.— 1997.— № 1.— С. 59—61.

Жибурт Е. Б., Насретдинова З. М., Андреева Л. С., Савельева Л. П. Определение аллоантиэритроцитарных антител у доноров и реципиентов гемокомпонентов // Анналы хирургической гепатологии.— 1998.— Т. 3.— С. 338.

Жибурт Е. Б., Попова Н. Н., Сидоркевич С. В. и др. Анти-HBs-антитела у доноров и сотрудников службы крови // Новое в трансфузиологии.— 1998.— Вып. 21.— С. 81—86.

Жибурт Е. Б., Серебряная Н. Б. Эритропоэтин в клинической медицине // Terra Medica.— 1997.— № 3.— С. 9—13.

Жибурт Е. Б., Серебряная Н. Б., Данильченко В. В. и др. Ультрафиолетовая фотомодификация функционального состояния лейкоцитов // Эфферентная терапия.— 1995.— Т. 1, № 3.— С. 56—58.

Жибурт Е. Б., Серебряная Н. Б., Дьякова В. В. и др. Вирус Эпштейна—Барр у больных инфекционным эндокардитом // Тер. арх.— 1997.— Т. 69, № 4.— С. 42—43.

Жибурт Е. Б., Серебряная Н. Б., Ионова А. И. и др. Антигены эритроцитов и особенности противoinфекционной резистентности // Гематол. и трансфузиол.— 1997.— № 1.— С. 3—4.

Жибурт Е. Б., Серебряная Н. Б., Ионова А. И. и др. Метод диагностики инфекции вирусом Эпштейна—Барр // Вопр. вирусол.— 1996.— Т. 41, № 4.— С. 185—187.

Жибурт Е. Б., Серебряная Н. Б., Каткова И. В. и др. О механизмах активации цитомегаловирусной инфекции // Тер. арх.— 1997.— Т. 69, № 11.— С. 40—41.

Жибурт Е. Б., Серебряная Н. Б., Каткова И. В. и др. Ультрафиолетовая фотомодификация лейкоцитов в условиях экспериментальной эндотоксемии // Бюл. экспер. биол.— 1997.— Т. 123, № 6.— С. 687—689.

Жибурт Е. Б., Серебряная Н. Б., Каткова И. В., Дьякова В. В. Цитокины в кроветворении, иммуногенезе и воспалении // Terra Medica.— 1996.— № 3.— С. 38—41.

Жибурт Е. Б., Серебряная Н. Б., Рождественская Е. Н. и др. Некоторые клеточные механизмы действия лазерного облучения крови // Пат. физиол.— 1998.— № 3.— С. 6—7.

Жибурт Е. Б., Серебряная Н. Б., Рождественская Е. Н. и др. Ультрафиолетовая фотомодификация функционального состояния естественных киллеров при активации свободнорадикального окисления // (Иммунология.— 1997).— Деп. в ВИНТИ.— 29.09.1997.— № 2937-В97.— 10 с.

Жибурт Е. Б., Сидоркевич С. В., Бондарчук Ю. В., Серебряная Н. Б. Вакцинация против гепатита В: как сэкономить деньги госпиталя // Terra Medica.— 1997.— № 2.— С. 29—31.

Жибурт Е. Б., Чепель А. И., Серебряная Н. Б. и др. Система антигенов Lewis как маркер риска ИБС // Тер. арх.— 1997.— Т. 69, № 1.— С. 29—31.

Жибурт Е. Б., Чечеткин А. В., Баранова О. В. Плазмозаменители на основе гидроксипропилированного крахмала в клинической практике // Terra Medica.— 1999.— № 1.— С. 16—18.

Жогов В. А. Влияние работы отделения переливания крови на качество лечения больных // Гематол. и трансфузиол.— 1994.— Т. 39, № 5.— С. 40—41.

Зуев В. А. Вирусная персистенция и десять аспектов ее исследования // Журн. микробиол.— 1994.— № 8—9.— С. 18—22.

Зуев В. А. Лабораторная диагностика латентных, хронических и медленных вирусных инфекций.— М.: Медицина, 1979.— 184 с.

Ионова А. И., Жибурт Е. Б., Андреева Л. С. и др. Рациональный подход к определению аллоантиэритроцитарных антител у доноров и реципиентов гемокомпонентов // Гематол. и трансфузиол.— 1999.— Т. 44, № 2.— С. 38—40.

Исаков В. А., Чепик Е. Б., Шаманова М. Г. и др. Современные подходы к лечению тяжелых форм гриппа // Вестник РАМН.— 1993.— № 9.— С. 10—13.

Казначеев В. П. Современные аспекты адаптации.— Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1980.— 192 с.

Каль-Калиф Я. Я. О лейкоцитарном индексе интоксикации и его практическое значение // Врач. дело.— 1941.— № 1.— С. 31—35.

Канев А. Н., Шалунова Н. В., Нетесов С. В. и др. Разработка и аттестация референс-панели сывороток крови человека, содержащих HBsAg // Гепатит В, С и D — проблемы диагностики, лечения и профилактики.— М., 1999.— С. 97—98.

Карандашов В. И., Петухов Е. Б., Корнеев А. А., Финько И. А. Ультрафиолетовое облучение всей циркулирующей крови // Вестн. РАМН.— 1993.— № 9.— С. 38—41.

Кетлинский С. А., Симбирцев А. С., Воробьев А. А. Эндогенные иммуномодуляторы.— СПб.: Гиппократ, 1992.— 256 с.

Кивман Г. Я., Рудзит Э. А., Яковлев В. П. Фармакокинетика химиотерапевтических препаратов.— М.: Медицина, 1985.— 256 с.

Клиническая иммунология и аллергология: В 3 т.: Пер. с нем. / Под ред. Л. Йегера.— М.: Медицина, 1990.— Т. 1.— 528 с.; Т. 2.— 560 с.; Т. 3.— 528 с.

Клиническая оценка биохимических показателей при заболеваниях внутренних органов / Под ред. В. Г. Передерия, Ю. В. Хмелевского.— Киев: Здоров'я, 1993.— 192 с.

Ковальчук Л. В., Чередеев А. Н. Иммунорегуляторная роль моноцитов в норме и при иммунопатологии.— М.: ВИНТИ, 1991.— 217 с.

Кожекин В. В., Решедько О. А., Ткачев А. М., Жук С. А. Внутривенное лазерное облучение крови и кислородтранспортная функция // Анест. и реаниматол.— 1995.— № 1.— С. 42—43.

Костюченко А. Л., Белоцерковский М. В. Критерии оценки эффективности экстракорпоральной детоксикации // Экстракорпоральная детоксикация и гемо-

коррекция в клинической практике / Тр. Воен.-мед. акад.— СПб., 1993.— Т. 233.— С. 21—27.

Костюченко А. Л., Воробьев А. А. Обменный плазмаферез в предупреждении послеоперационной печеночной несостоятельности при механических желтухах // Экстракорпоральная детоксикация и гемокоррекция в клинической практике / Тр. Воен.-мед. акад.— СПб., 1993.— Т. 233.— С. 72—77.

Кровезаменители, консерванты крови и костного мозга / Под ред. Г. Н. Хлябича.— М.: Медицина, 1997.— 192 с.

Крылов Н. Л., Ивлев А. С., Калинин А. В. и др. Клинико-диагностические аспекты вирусного гепатита С // Воен.-мед. журн.— 1993.— № 6.— С. 64—67.

Кукайн Р. А., Муровская М. Ф., Миллере И. В. и др. Выявление вируса HTLV-I у пациентов с миелопролиферативными гемобластозами // Вопр. онкол.— 1993.— Т. 39, № 1—3.— С. 44—49.

Кучеренко А. Д. Влияние экстракорпорального кровообращения на антибактериальные свойства крови больных инфекционным эндокардитом: Дис. ... канд. мед. наук.— Л., 1987.— 207 с.

Лебедев В. Ф. Профилактика и лечение посттравматической печеночной недостаточности // Экстракорпоральная детоксикация и гемокоррекция в клинической практике / Тр. Воен.-мед. акад.— СПб., 1993.— Т. 233.— С. 68—72.

Левин А. О., Мозговая И. А., Романкова М. П. и др. Изменения активности ферментов антиоксидантной системы у больных ишемической болезнью сердца и конечностей на фоне УФ-облучения аутокрови // Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных / Под ред. И. Е. Ганелиной, К. А. Самойловой.— Л.: Наука, 1986.— С. 57—63.

Ленинджер А. Биохимия. Молекулярные основы структуры и функций клетки.— М.: Мир, 1976.— 957 с.

Леонова Г. Н., Майстровская О. С., Чудновский В. М. Гелий-неоновое лазерное излучение как индуктор интерферонообразования // Вопр. вирусол.— 1994.— Т. 39, № 3.— С. 119—121.

Лисок Т. П., Буров С. В., Лео М. В. и др. Особенности разработок иммуноферментных диагностических систем к вирусу гепатита С на основе синтетических пептидов // Гепатит В, С и D — проблемы диагностики, лечения и профилактики.— М., 1999.— С. 130—131.

Логинов А. С. Передовые рубежи гепатологии // Тер. арх.— 1994.— Т. 66, № 2.— С. 3—6.

Ломакин М. С. Иммунобиологический надзор.— М.: Медицина, 1990.— 280 с.

Львов Д. К. Проблема нерегистрируемых и непредсказуемых инфекций // Журн. микробиол.— 1997.— № 5.— С. 104—109.

Макаров В. В., Воробьев А. А., Макарова Г. С. Прионная терминология // Журн. микробиол.— 1999.— № 2.— С. 96—99.

Матвеев С. А. Состояние тромбоцитарного гемостаза и его коррекция при кардиохирургических операциях в условиях искусственного кровообращения: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Л., 1988.— 13 с.

Медведев В. И., Марьянович А. Т., Аверьянов В. С. и др. Компоненты адаптационного процесса.— Л.: Наука, 1984.— 186 с.

Мешалкин Е. Н., Сергеевский В. С., Приходченко А. А., Деветьяров А. Т. Т- и В-лимфоциты и хирургическая агрессия // Вестн. хир.— 1981.— № 4.— С. 46—49.

Минеева Н. В. Система обеспечения иммунологической безопасности гемотрансфузий с учетом антигенов эритроцитов донора и реципиента: Дис. ... д-ра биол. наук.— СПб., 1991.— 298 с.

Михайлович В. А., Петрова М. М., Демидкин В. В. и др. Влияние плазмафереза на изменения некоторых показателей биологически активных веществ, продуктов окисления белков и липидов у больных с острым перитонитом, осложненным респираторным дистресс-синдромом взрослых // Материалы четвертого Всероссийского съезда анестезиологов и реаниматологов.— М., 1994.— С. 218—219.

Молоковская И. Е. Физико-химические и биологические свойства растворов нативного и модифицированного гемоглобина: Дис. ... канд. мед. наук.— СПб., 1995.— 151 с.

Молчанов И. В., Гольдина О. А., Горбачевский Ю. В. Растворы гидроксипропилированного крахмала — современные и эффективные плазмозамещающие средства инфузионной терапии.— М.: Изд-во НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН, 1998.— 138 с.

Мороз В. В., Крылов Н. Л., Иваницкий Г. Р. и др. Применение перфторана в клинической медицине // Анест. и реаниматол.— 1995.— № 6.— С. 12—17.

Мороков В. А. Профилактика посттрансфузионных осложнений, обусловленных минорными антигенами эритроцитов: Дис. ... д-ра мед. наук.— М., 1992.— 301 с.

Мукомолов С. Л. Некоторые эпидемиологические закономерности вирусного гепатита С в Санкт-Петербурге // Актуальные проблемы инфекционной патологии.— СПб., 1993.— Ч. 2.— С. 98.

Мыльников А. Я., Лыцарь Б. Н., Горбатов Л. Е. и др. Выявляемость поверхностного антигена вируса гепатита В и антител к вирусу гепатита С у военнослужащих — доноров крови // Воен.-мед. журн.— 1994.— № 3.— С. 44—45.

Назаретян М. К., Нерсисян В. М., Мартиросян И. Г. и др. Особенности распределения иммуногенетических маркеров эритроцитарных систем при ишемической болезни сердца // Гематол. и трансфузиол.— 1993.— № 6.— С. 40—42.

Насонова В. А., Иванова М. М., Калашникова Е. А., Насонов Е. Л. Актуальные проблемы нейроимунологии // Вестн. РАМН.— 1994.— № 1.— С. 4.

Насретдинова З. М. Совершенствование иммунологической безопасности гемоконпонентной терапии в военных лечебных учреждениях: Дис. ... канд. биол. наук.— СПб., 1999.— 111 с.

Неймарк М. И., Розачевский П. А. Выбор метода экстракорпоральной детоксикации при разлитом гнойном перитоните // Вестн. хир.— 1994.— Т. 152, № 5—6.— С. 27—33.

Нефрология: Руководство для врачей / Под ред. И. Е. Тареевой.— М.: Медицина, 1995.— Т. 1.— 496 с.

Николаев А. Ю., Клепиков П. В., Лашутин С. В., Кухтевич А. В. Эффективность сочетания эритропоэтин-кальцитриол у больных с хронической почечной недостаточностью, находящихся на программном гемодиализе // Тер. арх.— 1995.— Т. 67, № 5.— С. 27—31.

Николау А. В., Гельд В. Г., Волкова Р. А. Применение плазмафереза в лечении больных хроническим деструктивным туберкулезом легких // Экстракорпоральная детоксикация и гемокоррекция в клинической практике / Тр. Воен.-мед. акад.— СПб., 1993.— Т. 233.— С. 62—64.

Оболенская К. Д., Арцишевская Р. А., Самойлова К. А. и др. Структурно-функциональные изменения клеток донорской крови при ее УФ-облучении в аппарате

«Изоolda»: эффект дозы // Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных / Под ред. И. Е. Ганелиной, К. А. Самойловой.— Л.: Наука, 1986.— С. 178—187.

Ольховский И. А., Рузаева Л. А., Шевченко Н. М., Маньлова Н. Я. Устойчивость диагностических тест-систем выявления маркеров вирусных гепатитов к условиям транспортировки и хранения — как важное потребительское качество продукции // Гепатит В, С и D — проблемы диагностики, лечения и профилактики.— М., 1999.— С. 177—178.

Онищенко Г. Г., Шахгильдян И. В. Актуальные вопросы эпидемиологии и профилактики вирусных гепатитов В и С в Российской Федерации // Гепатит В, С и D — проблемы диагностики, лечения и профилактики.— М., 1999.— С. 178—180.

Онуфриевич А. Д., Лазаренко М. И., Сидоркевич С. В. и др. Опыт работы службы крови по медицинскому обеспечению локальных военных конфликтов // Вестн. службы крови России.— 1999.— № 2.— С. 15—19.

Онуфриевич А. Д., Мыльников А. Я., Торбин Б. П. и др. Аутодонорство крови и ее компонентов в сосудистой хирургии // Клиническая ангиология. Современные достижения, перспективы диагностики и лечения.— М., 1994.— С. 95.

Организация аутодонорства крови и ее компонентов в военно-лечебных учреждениях (Методические рекомендации) / Под ред. С. П. Калеко.— СПб., 1992.— 21 с.

Орлов С. В. Роль гемосорбции в комплексном лечении тяжелых форм острых пневмоний и инфекционных деструкций легких: Дис. ... канд. мед. наук.— Л., 1989.— 175 с.

Павлов А. Д., Морщакова Е. Ф. Регуляция эритропоэза: Физиологические и клинические аспекты.— М.: Медицина, 1987.— 272 с.

Погорелов В. М., Козинец Г. И. Морфология апоптоза при нормальном и патологическом гемопоэзе // Гематол. и трансфузиол.— 1995.— Т. 40, № 5.— С. 17—25.

Попова Н. Н. Развитие донорского гемафереза в Вооруженных Силах Российской Федерации: Дис. ... д-ра мед. наук.— СПб., 1999.— 319 с.

Попова О. Е., Пименов В. К., Яковлева М. Н. и др. Уровень распространения анти-HGV среди доноров крови различных регионов Российской Федерации // Гепатит В, С и D — проблемы диагностики, лечения и профилактики.— М., 1999.— С. 191—192.

Потапов М. П., Печковский Д. В. Иммунорегуляция антимикробной активности нейтрофилов человека // Иммунология.— 1994.— № 5.— С. 4—6.

Потапов А. Ф., Трепилец В. Е., Мельник О. Б., Шило В. Ю. Влияние эндовазального лазерного облучения крови на процессы перекисного окисления липидов у больных с абдоминальными операциями // Анест. и реаниматол.— 1995.— № 1.— С. 19—22.

Поташов Л. В., Чеминава Р. В., Перелыгина В. Г. Влияние аутотрансфузии УФ-облученной крови на неспецифическую резистентность организма при гнойно-некротических заболеваниях // Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных / Под ред. И. Е. Ганелиной, К. А. Самойловой.— Л.: Наука, 1986.— С. 25—30.

Почечная эндокринология / Под ред. М. Дж. Данна.— М.: Медицина, 1987.— 672 с.

Рожков А. С. Раневая инфекция.— СПб., 1994.— 80 с.

Руководство по военной трансфузиологии / Под ред. Э. А. Нечаева.— М., 1991.— 280 с.

Румянцев А. Г., Аграненко В. А. Клиническая трансфузиология. — М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1997. — 575 с.

Самойлова К. А., Арцишевская Р. А., Григорьева Л. Г. и др. Стимулирующее действие УФ-излучения на активность антител и комплемента крови человека // Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных / Под ред. И. Е. Ганелиной, К. А. Самойловой. — Л.: Наука, 1986. — С. 226—237.

Самойлова К. А., Васильева З. Ф., Штильбанс В. И. и др. Изменение связывающей способности альбумина крови человека после ее УФ-облучения в терапевтических дозах // Бюл. экспер. биол. — 1987. — Т. 104, № 12. — С. 676—678.

Самойлова К. А., Дуткевич И. Г. Фотобиологические процессы в клетках и плазме крови и их роль в лечебно-оздоровительном действии УФ-излучения // Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных / Под ред. И. Е. Ганелиной, К. А. Самойловой. — Л.: Наука, 1986. — С. 154—178.

Самойлова К. А., Оболенская К. Д., Гамова И. М., Волгарева Е. В. Структурно-функциональные изменения поверхности циркулирующих форменных элементов и их активация как пусковой механизм лечебных эффектов УФ-облученной аутокрови // Применение оптического излучения для профилактики и лечения заболеваний. — Саранск, 1989. — С. 4—15.

Самойлова К. А., Снопов С. А., Оболенская К. Д. и др. Пусковые механизмы лечебных эффектов УФ-облученной крови (мембранотропные действия на эритроциты) // Вестн. хир. — 1989. — Т. 143, № 12. — С. 51—60.

Самсонова Н. Н. Клинико-лабораторное обоснование трансфузионной тактики в сердечно-сосудистой хирургии: Дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1998. — 213 с.

Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. — М.: Медгиз, 1960. — 255 с.

Семенов Б. Ф., Зуев В. А. Рабочее совещание по прионам и болезням головного мозга человека и животных // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. — 1997. — № 2. — С. 121—123.

Серебряная Н. Б., Волкова С. Д., Серова Л. Д., Шабалин В. Н. Динамика иммунологических параметров крови реципиентов в процессе гемокомпонентной терапии // Мед. технологии (Спец. выпуск «Трансфузиология и медицина»). — 1995. — № 5. — С. 68—72.

Серебряная Н. Б., Жибурт Е. Б. Колонистимулирующий фактор гранулоцитов в хирургической практике // Terra Medica. — 1998. — № 3. — С. 14—17.

Серова Л. Д., Войтенко Л. М., Мишина Л. В. Индивидуальный подбор крови и ее компонентов как метод профилактики посттрансфузионных осложнений // Профилактика и лечение посттрансфузионных осложнений. — Л., 1980. — С. 26—30.

Серова Л. Д., Манишкина Р. П., Шабалин В. Н. Организация работы банка гистотипирующих стандартов // Новое в трансфузиологии. — М., 1993. — Вып. 2. — С. 31—32.

Синичкин А. А., Эстрин В. В., Муравьев О. В. Сывороточный альбумин как полиантиокислительная система в тканях и биологических жидкостях // 4 конф. «Биоантиоксидант». — М., 1993. — Т. 1. — С. 109—110.

Ситников В. А., Калинин А. П., Стяжкина С. Н. Научно-практическая конференция «Эфферентные методы в медицине» // Хирургия. — 1994. — № 7. — С. 52.

Справочник по переливанию крови и кровезаменителей / Под ред. О. К. Гаврилова. — М.: Медицина, 1982. — 304 с.

Старченко А. А. Адаптационные реакции иммунной системы организма и иммунотерапия в нейрохирургической реаниматологии: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — СПб., 1994. — 50 с.

Сычев А. В., Шайхаев Г. А., Сычева Т. В. Обнаружение ДНК HBV у первичных доноров крови г. Москвы при использовании метода nested ПЦР // Гепатит В, С и D — проблемы диагностики, лечения и профилактики. — М., 1999. — С. 221–222.

Филатов А. Н., Косумов Г. Экспериментальные и клинические наблюдения по вопросу о переливаниях крови, подвергнутой облучению УФЛ при анемиях // Вестн. хир. — 1937. — № 1. — С. 3–5.

Хазанов А. И. Об острых вирусных гепатитах // Воен.-мед. журн. — 1996. — Т. 317, № 8. — С. 45–50.

Хаитов Р. М., Игнатьева Г. А. СПИД. — М.: Народн. акад. культуры, 1992. — 352 с.

Хартарска С., Димитрова Л. Реакции при кровопереливании // Науч. тр. Науч. ин-та спец. мед. «Н. И. Пирогов». — 1993. — № 30. — С. 53–56.

Хирургическая инфекция — клиника, диагностика, лечение: Руководство для военных врачей / Под ред. Э. А. Нечаева. — М., 1993. — 296 с.

Чекнев С. Б., Ершов Ф. И., Прицкер А. Д., Латышева О. Л. Регуляция активности естественных киллеров человека аутологичным интерфероном // Бюлл. экспер. биол. — 1994. — Т. 68, № 9. — С. 281–284.

Шабуневич Л. В., Александрова Л. А., Перелыгин В. Г. Активность ферментов антирадикальной защиты при УФ-облучении крови // Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных / Под ред. И. Е. Ганелиной, К. А. Самойловой. — Л.: Наука, 1986. — С. 50–56.

Шаноян С. А., Самсонова Н. Н., Шарова Ю. А. и др. Проведение операций аортокоронарного шунтирования без использования донорской крови // Грудная и сердечно-сосудистая хир. — 1994, № 1. — С. 21–22.

Шведов А. К., Иванов К. С., Гуревич К. Я. Принципы эфферентного лечения инфекционных больных // Экстракорпоральная детоксикация и гемокоррекция в клинической практике / Тр. Воен.-мед. акад. — СПб., 1993. — Т. 233. — С. 42–47.

Шевченко Ю. Л. Хирургическое лечение инфекционного эндокардита: Дис. ... д-ра мед. наук. — Л., 1986. — 486 с.

Шевченко Ю. Л., Данильченко В. В., Жибурт Е. Б. и др. Иммуногенетический статус больных инфекционным эндокардитом // Вестн. хир. — 1995. — Т. 154, № 1. — С. 58–63.

Шевченко Ю. Л., Данильченко В. В., Жибурт Е. Б. и др. К проблеме посттрансфузионной иммуносупрессии // Воен.-мед. журн. — 1996. — Т. 317, № 10. — С. 22–25.

Шевченко Ю. Л., Данильченко В. В., Жибурт Е. Б. и др. Проблема цитомегаловирусной инфекции в военной трансфузиологии // Воен.-мед. журн. — 1995. — № 11. — С. 27–31.

Шевченко Ю. Л., Данильченко В. В., Жибурт Е. Б. и др. Реакция «трансплантат против хозяина» в военной трансфузиологии // Воен.-мед. журн. — 1997. — Т. 318, № 2. — С. 32–35.

Шевченко Ю. Л., Данильченко В. В., Жибурт Е. Б. и др. Эритропоэтин в профилактике и лечении анемий // Воен.-мед. журн. — 1996. — Т. 317, № 11. — С. 45–48.

Шевченко Ю. Л., Данильченко В. В., Серебряная Н. Б. и др. Проблема гистосовместимости в военной трансфузиологии // Воен.-мед. журн. — 1995. — № 8. — С. 26–29.

Шевченко Ю. Л., Жибурт Е. Б., Бельгесов Н. В., Серебряная Н. Б. Инфекционная безопасность гемотрансфузионной терапии // Междунар. мед. обзоры.— 1995.— Т. 3, № 2.— С. 91—94.

Шевченко Ю. Л., Жибурт Е. Б., Серебряная Н. Б. Иммунологическая и инфекционная безопасность гемокомпонентной терапии.— СПб.: Наука, 1998.— 228 с.

Шевченко Ю. Л., Кочеровец В. И., Матвеев С. А. Диагностика и хирургическое лечение инфекционного эндокардита.— СПб., 1993.— 31 с.

Шевченко Ю. Л., Матвеев С. А. Абсцессы сердца.— СПб.: Наука, 1996.— 159 с.

Шевченко Ю. Л., Матвеев С. А., Данильченко В. В. и др. Организация аутодонорства крови и ее компонентов в кардиохирургии // Вестн. хир.— 1996.— Т. 155, № 5.— С. 71—74.

Шевченко Ю. Л., Скорик В. И., Судус А. В. Некоторые аспекты перфторорганической гемопротекции // Анест. и реаниматол.— 1995.— № 6.— С. 17—19.

Шевченко Ю. Л., Хубулава Г. Г. Инфекционный эндокардит правых камер сердца.— СПб.: Наука, 1996.— 170 с.

Шевченко Ю. Л., Шихвердиев Н. Н. Ангиогенный сепсис.— СПб.: Наука, 1996.— 125 с.

Шевченко Ю. Л., Шихвердиев Н. Н., Журавлев В. П. и др. Хирургическое лечение септического эндокардита у наркоманов // Вестн. хир.— 1990.— Т. 144, № 3.— С. 18—20.

Шевченко Ю. Л., Шихвердиев Н. Н., Матвеев С. А. и др. Инфекционный эндокардит правых камер сердца // Клин. мед.— 1992.— Т. 70, № 1.— С. 37—47.

Шевченко Ю. Л., Шихвердиев Н. Н., Оточкин А. В. Прогнозирование в кардиохирургии.— СПб.: Питер Паблшинг, 1998.— 208 с.

Шеннон К. Э. Математическая теория связи / Под ред. Р. Л. Добрушина, О. Б. Лупанова // Работы по теории информации и кибернетике.— М.: ИЛ, 1963.— С. 243—332.

Шкарин В. В. Вопросы эпидемиологии токсоплазмоза и его значение в патологии человека: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— М., 1973.— 33 с.

Шойхет Я. Н., Росчев И. П., Заремба С. В., Мартыненко В. А. Лечение острых абсцессов и гангрены легкого // Грудная и сердечно-сосудистая хир.— 1991.— № 5.— С. 42—44.

Яворковский Л. И. Парвовирус В19 (ПВ—В19) и вызываемые им заболевания человека // Тер. арх.— 1995.— Т. 67, № 11.— С. 56—58.

Яковлев Г. М., Новиков В. С., Хавинсон В. Х. Резистентность, стресс, регуляция.— Л.: Наука, 1990.— 238 с.

Яшина Т. Л., Фаворов М. О., Шахгильдян И. В. и др. Распространение маркеров гепатита С среди населения некоторых регионов России и Средней Азии // Журн. микробиол.— 1993.— № 5.— С. 46—49.

Ablin R., Conder M. Possible immunosuppressive factors in blood products // Ann. Int. Med.— 1984.— Vol. 100, № 1.— P. 155—156.

Adler S. P. International forum: transfusion transmitted CMV infection // Vox Sang.— 1984.— Vol. 46, № 3.— P. 387—414.

Adler S. P. Transfusion-associated cytomegalovirus infection // Rev. Inf. Dis.— 1983.— Vol. 5, № 8.— P. 977.

Advanced renal medicine / Ed. by A. E. G. Raine.— Oxford: Oxford university press, 1992.— 484 p.

Allain J.-P. New, potentially important viruses in the blood // VI Regional European congress of the international society of blood transfusion.— Jerusalem, Israel, 1999.— P. 31.

Almeida G. P., Porada C. D., Jeor S. S., Ascendao J. L. Human cytomegalovirus alters interleukin-6 production by endothelial cells // Blood.— 1994.— Vol. 83, № 2.— P. 370–376.

Alter H. J. Descartes before the horse: I clone, therefore I am: the hepatitis C virus in current perspective // Ann. Int. Med.— 1991.— Vol. 115, № 8.— P. 644–649.

Andersson M., Bohme J., Andersson G. et al. Genomic hybridization with class II transplantation antigen cDNA probes as a complementary technique in tissue typing // Hum. Immunol.— 1984.— Vol. 11.— P. 57–67.

Andreu G., Dewailly J., Leberre C. et al. Prevention of HLA immunization with leukocyte-poor packed red cells and platelet concentrates obtained by filtration // Blood.— 1988.— Vol. 72.— P. 964–970.

Andreu J., Boccacino C., Leerubier C. et al. Ultraviolet irradiation and platelet concentrates: feasibility in transfusion practice // Transfusion.— 1990.— Vol. 20.— P. 401–402.

AuBuchon J. P. Minimizing donor exposure in hemotherapy // Arch. Pathol. Lab. Med.— 1994.— Vol. 118, № 4.— P. 380–391.

Aulmann M., Neppert J. Transfusion von blutkomponenten bei immunsupprimierten patienten // In: Blutfiltration bei immunsupprimierten patienten.— Frankfurt, 1991.— P. 1–24.

Avent N. D. Molecular genetic methods: principles and feasibility in transfusion medicine // Vox Sang.— 1998.— Vol. 74, Suppl. 2.— P. 275–285.

Bailey W., Bourne R., Feagan B. et al. Effectiveness of perioperative recombinant human erythropoietin in elective hip replacement // Lancet.— 1995.— Vol. 341, № 8855.— P. 1227–1232.

Barbara J. Prions: the dilemma for blood transfusion // VI Regional European congress of the international society of blood transfusion.— Jerusalem, Israel, 1999.— P. 18.

Barbara J. A. J. Microbiological safety of blood transfusion // Vox Sang.— 1998.— Vol. 74, Suppl. 2.— P. 11–13.

Barbara J. A. J. Questions of quality: How much HBsAg is there in this sample and is our assay sensitive enough to detect it // Vox Sang.— 1993.— Vol. 65, № 4.— P. 249–250.

Barbara J. A. J., Garson J. A. Polymerase chain reaction and transfusion microbiology // Vox Sang.— 1993.— Vol. 64, № 2.— P. 73–81.

Barbara J. A. J., Hewitt P., Engright S. Routine blood donor screening for syphilis can reveal recent infection // Vox Sang.— 1993.— Vol. 65, № 3.— P. 243.

Barker R. H., Metevlev V., Rapaport E., Zamecnic P. Inhibition of Plasmodium falciparum malaria using antisense oligodeoxynucleotides // Proc. nat. Acad. Sci. USA.— 1996.— Vol. 93.— P. 514–518.

Becker Y., Daray G., Huang E.-S. Molecular aspects of human cytomegalovirus diseases.— Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 1993.— 486 p.

Berck C., Milstein C. The dynamic nature of the antibody repertoire // Immunol. Rev.— 1988.— Vol. 105.— P. 5–13.

Beris P., Mermillod B., Levy G. et al. Recombinant human erythropoietin as adjuvant treatment for autologous blood donation — a prospective study // Vox Sang.— 1993.— Vol. 65, № 3.— P. 212–218.

Best N., Trull A. K., Tan K. K. C. et al. Blood cyclosporine concentrations and cytomegalovirus infection following heart transplantation // *Transplantation*.— 1995.— Vol. 60, № 7.— P. 689–694.

Biagini P., Gallian P., Attoui H. et al. Determination and phylogenetic analysis of partial sequences from TT virus isolates // *J. gen. Virol.*— 1999.— Vol. 80, № 2.— P. 419–424.

Biberfeld G., Blombac M., Lenkii R. et al. Alteration of T-lymphocyte subpopulation in English hemophiliacs // *Scand. J. Haematol.*— 1984.— Vol. 33, Suppl. 40.— P. 349–382.

Bidwell J. L., Jarrold A. HLA-DR allogenotyping using exon-specific cDNA probes and application of rapid minigel methods // *Molec Immunol.*— 1986.— Vol. 23.— P. 1111–1115.

Biesma D. H., Kraaijenhagen R. J., Dalmulder J. et al. Recombinant human erythropoietin in autologous blood donors — a dose-finding study // *Brit. J. Haemat.*— 1994.— Vol. 86, № 1.— P. 30–35.

Blaese R. M., Culver K. W., Miller A. D. et al. T-lymphocyte directed gene therapy for ADA-SCID: initial trial results after 4 years // *Science*.— 1995.— Vol. 270.— P. 475–480.

Blajman M. A. Bacterial contamination and proliferation during the storage of cellular blood products // *Vox Sang.*— 1998.— Vol. 74, Suppl. 2.— P. 155–159.

Blajman M. A. Immunomodulatory effects of allogeneic blood transfusions: clinical manifestations and mechanisms // *Vox Sang.*— 1998.— Vol. 74, Suppl. 2.— P. 315–319.

Blajman M. A. Transfusion-associated bacterial sepsis: The phoenix rises yet again // *Transfusion*.— 1994.— Vol. 34, № 9.— P. 940–942.

Blay J.-Y., Negrier S., Combaret V. et al. Serum level of interleukin-6 as a prognosis factor in metastatic renal cell carcinoma // *Cancer Res.*— 1992.— Vol. 52, № 11.— P. 1317–1322.

Blejer J. L., Saguier M. C., Dinapoli R., Salamone H. J. Evaluation of serological tests for syphilis in blood donors // VI Regional European congress of the international society of blood transfusion.— Jerusalem, Israel, 1999.— P. 111.

Blood donor screening or «over-screening»: how far to go in avoiding transfusion of infectious agents (editorials) // *Vox Sang.*— 1992.— Vol. 63, № 1.— P. 59–69.

Blumberg N., Heal J. M., Chuang C. et al. Further evidence supporting a cause and effect relationship between blood transfusion and cancer recurrence // *Ann. Surg.*— 1988.— Vol. 207, № 3.— P. 410–415.

Brand A. Passenger leukocytes, cytokines and transfusion reactions // *New Engl. J. Med.*— 1994.— Vol. 331, № 10.— P. 670–671.

Brown P. Can Creutzfeldt–Jakob disease be transmitted by transfusion? // *Curr. Opin. Hematol.*— 1995.— Vol. 2, № 6.— P. 472–477.

Brubaker D. Transfusion-associated graft-versus-host disease // *Hum. Path.*— 1986.— Vol. 17, № 11.— P. 1085–1088.

Bugawan T. L., Erlich H. A. Rapid typing of HLA-DQB1 DNA polymorphism using nonradioactive oligonucleotide probes and amplified DNA // *Immunogenetics*.— 1991.— Vol. 33.— P. 163.

Busch M. P., Glynn S. A., Schreiber G. B. Potential increased risk of virus transmission due to exclusion of older donors because of concern over Creutzfeldt–Jakob disease. The National Heart, Lung, and Blood Institute Retrovirus Epidemiology Donor Study // *Transfusion*.— 1997.— Vol. 37, № 10.— P. 996–1002.

Busch M. P., Laycock M., Kleiman S. H. et al. Accuracy of supplementary serologic testing for human T-lymphotropic virus types I and II in US blood donors // *Blood*.— 1994.— Vol. 83, № 4.— P. 1143—1148.

Bux J. Challenges in the determination of clinically significant granulocyte antibodies and antigens // *Trans. Med. Rev.*— 1996.— Vol. 10.— P. 222—232.

Bux J., Stein E. L., Santoso S. et al. NA gene frequencies in the German population determined by polymerase chain reaction with sequence-specific primers (PCR-SSP) // *Transfusion*.— 1995.— Vol. 35.— P. 54—57.

Buyse I., Decorte R., Baens M. et al. Rapid DNA typing of class HLA antigens using the polymerase chain reaction and reverse dot blot hybridization // *Tiss. Antigens*.— 1993.— Vol. 41.— P. 1—14.

Carlsson B., Wallin J., Bohme J., Moeller E. HLA-DR-DQ haplotypes defined by restriction fragment analysis; correlation to serology // *Hum. Immunol.*— 1987.— Vol. 20.— P. 95—113.

Carton J. P., Baily P., Le Van Kim C. et al. Insights into the structure and function of membrane polypeptides carrying blood group antigens // *Vox Sang.*— 1998.— Vol. 74, Suppl. 2.— P. 29—64.

Carvalho M. R., Krieger M. A., Almeida E. et al. Chagas' disease diagnosis: evaluation of several tests in blood banking screening // *Transfusion*.— 1993.— Vol. 33, № 8.— P. 830—834.

Caspari G., Gerlich W. H., Beyer J., Schmitt H. Variable results of first generation anti-HCV enzyme immunoassay during follow-up of blood donors // *Vox Sang.*— 1993.— Vol. 64, № 1.— P. 61—62.

Chamley L. W., McKay E. J. Antiphospholipid antibodies: clinical laboratory features of a unique family of autoantibodies // *N. Z. J. Med. Lab. Sci.*— 1994.— Vol. 48, № 1.— P. 6—12.

Chang T. M. S. Modified hemoglobin-based blood substitutes: crosslinked, recombinant and encapsulated hemoglobin // *Vox Sang.*— 1998.— Vol. 74, Suppl. 2.— P. 233—241.

Chang Y., Cesarman E., Pessin M. S. et al. Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma // *Science*.— 1994.— Vol. 266.— P. 1865—1869.

Charlton M., Adjei P., Poterucha J. et al. TT-virus infection in North American blood donors, patients with fulminant hepatic failure, and cryptogenic cirrhosis // *Hepatology*.— 1998.— Vol. 28, № 3.— P. 839—842.

Claes F. J. N., Smenk R. T. J., Schidt R. et al. Alloimmunisation against the MHC antigens after platelet transfusion is due to contaminating leukocytes in platelets // *Exp. Hemat.*— 1981.— Vol. 9.— P. 84—88.

Claes F. J. N., Van Leeuwen A., Van Rood J. J. Hyperimmunized patients do not need to wait for an HLA identical donor // *Tiss. Antigens*.— 1989.— Vol. 34.— P. 23.

Colin Y., Cherif-Zahar B., Le van Kim C. et al. Genetic basis of the RhD-positive and RhD-negative blood group polymorphism as determined by Southern analysis // *Blood*.— 1991.— Vol. 78.— P. 2747—2752.

Conti D. J., Freed B. M., Gruber S. A., Lempert M. Prophylaxis of cytomegalovirus disease in renal transplant recipients.— A trial of ganciclovir vs immunoglobulin // *Arch. Surg.*— 1994.— Vol. 129, № 4.— P. 443—447.

Cornu C., Brusselmans C., Geubel A. et al. Anti-HCV seroconversion in multi-transfused and immunocompromised patients // *Vox Sang.*— 1994.— Vol. 67, № 3.— P. 286—290.

Cossart Y. TTV a common virus, but pathogenic? // *Lancet*.— 1998.— Vol. 352, № 9123.— P. 164.

Cox N. J., Mela A. P., Zmijewski C. M., Spielman R. S. HLA-DR typing «at the DNA level»: RFLPs and subtypes detected with a DRB cDNA probe // *Am. J. Hum. Genet.*— 1988.— Vol. 43.— P. 954–963.

Creange A., Gray F., Cesaro P., Degos J. D. Pooled plasma derivatives and Creutzfeldt–Jakob disease // *Lancet*.— 1996.— Vol. 347., № 9000.— P. 482.

Cros P., Allibert P., Mandrand B. et al. Oligonucleotide genotyping of HLA polymorphism on microtitre plates // *Lancet*.— 1992.— Vol. 340.— P. 870–873.

Curony E. S., Scudeller J., Mattiuz P. L. et al. Anti-HLA-antibody evaluation in recipients of planned transfusion // *Tiss. Antigens*.— 1972.— Vol. 2.— P. 415–421.

Dadian G., Riches P. G., Henderson D. C. Immunological parameters in peripheral blood of patients with renal cell carcinoma before and after nephrectomy // *Brit. J. Urol.*— 1994.— Vol. 74, № 1.— P. 15–22.

Daniels G. L., Green C., Smart E. Differences between RhD-negative Africans and RhD-negative Europeans // *Lancet*.— 1997.— Vol. 350.— P. 862–863.

Davidson F., MacDonald D., Mokili J. L. et al. Early acquisition of TT virus (TTV) in an area endemic for TTV infection // *J. infect. Dis.*— 1999.— Vol. 179, № 5.— P. 1070–1076.

De Franco L. A. Cell-cell interaction in the antibody response // *Nature*.— 1988.— Vol. 334.— P. 199–202.

De La Rubia J., Garcia R., Arriaga F. et al. Anti-D immunization after transfusion of 4 units of fresh frozen plasma // *Vox Sang.*— 1994.— Vol. 66, № 4.— P. 297–298.

De Silva R., Findlay C., Awad I. et al. Creutzfeldt–Jakob disease in the elderly // *Postgrad. med. J.*— 1997.— Vol. 73, № 863.— P. 557–559.

Deeg H. J. Transfusion with a tan: prevention of allosensibilization by UV-irradiation // *Transfusion*.— 1983.— Vol. 29.— P. 450–453.

Desai S. M., Muerhoff A. S., Leary T. P. et al. Prevalence of TT virus infection in US blood donors and populations at risk for acquiring parenterally transmitted viruses // *J. infect. Dis.*— 1999.— Vol. 179, № 5.— P. 1242–1244.

Docke W. D., Prosch S., Fietze E. et al. Cytomegalovirus reactivation and tumor necrosis factor // *Lancet*.— 1994.— Vol. 343, № 8892.— P. 268–269.

Dodd R. Y. Transmission of parasites by blood transfusion // *Vox Sang.*— 1998.— Vol. 74, Suppl. 2.— P. 161–163.

Dosquet C., Schaetz A., Faucher C. et al. Tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β and interleukin-6 in patient with renal cell carcinoma // *Europ. J. Cancer*.— 1994.— Vol. 30A, № 2.— P. 162–167.

Doughty H. A., Murphy M. F., Metcalfe P. et al. Relative importance of immune and non-immune causes of platelet refractoriness // *Vox Sang.*— 1994.— Vol. 66, № 3.— P. 200–205.

Douc T., Gassner C., Rozman P. AB0, RH, Kell, Kidd and Duffy genotyping after multiple transfusions? // VI Regional European congress of the international society of blood transfusion.— Jerusalem, Israel, 1999.— P. 69.

Dupont B. Immunology of haemopoietic stem cell transplantation: a brief review of its history // *Immunol. Rev.*— 1997.— Vol. 157.— P. 5–12.

Duquesnoy L. T., White J. W., Fierst M. et al. Multiscreen serum analysis of highly sensitized renal dialysis patients for antibodies toward public and private class I HLA determinant // *Transplantation*.— 1990.— Vol. 50.— P. 427–437.

Dzik S., Szufland P., Eaves S. HLA antigens on leukocyte fragments and plasma proteins: prestorage leukoreduction by filtration // *Vox Sang.*— 1994.— Vol. 66, № 2.— P. 104–111.

Effors R. B., Svoboda K., Walford R. L. Influence of age and caloric restriction on macrophage interleukin-6 and tumor necrosis factor- α production // *Lymphokine Cytokine Res.*— 1991.— Vol. 10, № 4.— P. 347–351.

Emmerson A. J. B., Coles H. J., Stern C. M. M., Pearson T. M. Double blind trial of recombinant human erythropoietin in preterm infants // *Arch. Dis. Child.*— 1993.— Vol. 68, № 3.— P. 291–296.

End A., Ringl H., Grimm M. et al. Chronic anemia after lung transplantation: treatment with human recombinant erythropoietin // *Transplantation.*— 1994.— Vol. 57, № 7.— P. 1142.

Esmonde T. F., Will R. G., Slattery J. M. et al. Creutzfeldt–Jakob disease and blood transfusion // *Lancet.*— 1993.— Vol. 341, № 8839.— P. 205–207.

Esnault V., Bigron J. T., Testa A. et al. Effect of protein A immunoabsorption on panel lymphocyte reactivity in hyperimmunised patients waiting a kidney graft // *Transplantation.*— 1990.— Vol. 50.— P. 449–453.

Everett E. T., Kao K. J., Scornik J. C. Class I HLA molecules of human erythrocytes: quantitation and transfusion effects // *Transplantation.*— 1987.— Vol. 44.— P. 125–130.

Eyster M. E., Alter H. J., Aledort L. M. et al. Heterosexual co-transmission of hepatitis C virus and human immunodeficiency virus // *Ann. intern. Med.*— 1991.— Vol. 115, № 10.— P. 764–768.

Fauchald P., Leivestad T., Bratlie A. et al. Plasma exchange and immunosuppressive therapy before renal transplantation in highly sensitized patients // *Transplant. Proc.*— 1987.— Vol. 19.— P. 727–728.

Fauchet R., Dunn J. E., Campion J. P. et al. Lymphocytotoxic activity provoked by transfusion protocols // *Transplant. Proc.*— 1982.— Vol. 14, № 2.— P. 355–358.

Fehrman I., Ringden O., Moller E. Blood transfusion as pretreatment for kidney transplantation // *Transplantation.*— 1983.— Vol. 35, № 3.— P. 339–343.

Fest T., Deschaseaux M., Mougin C. et al. In situ hybridisation for the detection of cytomegalovirus in blood or bone marrow leukocytes after bone marrow transplantation // *Brit. J. Haemat.*— 1994.— Vol. 86, № 3.— P. 619–623.

Fisher E., Lenhard V., Seifert P. et al. Blood transfusion induced suppression of cellular immunity in man // *Hum. Immunol.*— 1980.— Vol. 3, № 2.— P. 187–193.

Francis D. M. A. Blood transfusion and tumor behavior // *Brit. J. Surg.*— 1991.— Vol. 78, № 12.— P. 1421–1428.

Gafter U., Kalechman Y., Sredni B. Induction of a subpopulation of suppressor cells by a single blood transfusion // *Kidney Int.*— 1992.— Vol. 41, № 2.— P. 143–148.

Gascon P., Loubos N., Yuong N. Immunologic abnormalities in patients receiving multiple blood transfusion // *Ann. Intern. Med.*— 1984.— Vol. 100, № 1.— P. 137–177.

Gewirtz A. M. Perturbing haematopoietic cell gene expression with oligodeoxynucleotides / In Schlingensiepen R., Brysch W., Schlingensiepen K.-H. (Eds) *Antisense – from technology to therapy.*— Oxford: Blackwell Science, 1997.— P. 302–331.

Ghio M., Contini P., Mazzei C. et al. Soluble HLA class I, HLA class II and Fas ligand in blood components: a possible key to explain the immunomodulatory effects of allogeneic blood transfusions // *Blood.*— 1999.— Vol. 93, № 5.— P. 1770–1777.

Gianotti L., Pyles T., Alexander J. W. et al. Identification of the blood component responsible for increased susceptibility to gut derived infection // *Transfusion.*— 1993.— Vol. 33, № 4.— P. 458–465.

Gil-Vernet S., Griro J. M., Martorell J. Anti-HLA antibody removal by immunoadsorption // *Transplant. Proc.*— 1990.— Vol. 22.— P. 1904–1905.

Gitnick G. Hepatitis C: what progress? // *Scand. J. Gastroenterol.*— 1992.— Vol. 27, Suppl. 192.— P. 50–54.

Glowacki L. S., Smaill F. M. Use of immune globulin to prevent symptomatic cytomegalovirus disease in transplant recipients // *Clinical transplantation.*— 1994.— Vol. 8, № 1.— P. 10–18.

Gold M. R., De Franko A. L. Biochemistry of B lymphocyte activation // *Advances in Immunol.*— 1994.— Vol. 55.— P. 221–296.

Goodnough L. T., Soegiarso R. W., Geha A. S. Blood lost and blood transfused in coronary artery bypass graft operation as implications for blood transfusion and blood conservation strategies // *Surg. Gynec. Obstet.*— 1993.— Vol. 177, № 4.— P. 345–351.

Goodnough L. T., Vizmeg K., Marcus R. E. Blood lost and transfused in patients undergoing elective orthopedic operation // *Surg. Gynec. Obstet.*— 1993.— Vol. 176, № 3.— P. 235–238.

Gore S. M., Bradley B. A. Renal transplantation sense and sensitization // *Dorde Cht. The Netherland Clumer.*— 1988.— P. 268.

Gough A., Clapperton M., Rolando N et al. Randomised placebo-controlled trial of granulocyte-colony stimulating factor in diabetic foot infection // *Lancet.*— 1997.— Vol. 350, № 9081.— P. 855–859.

Gozetti G., Mazzotti A., Grazi G. L. et al. Liver resection without blood transfusion // *Brit. J. Surg.*— 1995.— Vol. 82, № 8.— P. 1105–1110.

Greenberg L. J., Gray E. D., Junis E. F. Association of HL-A5 and immune responsiveness in vitro to streptococcal antigen // *J. exp. Med.*— 1975.— Vol. 141.— P. 935.

Gross-Weege W., Weiss M., Schneider M. et al. Safety of a low-dosage Filgrastim (rhG-CSF) treatment in non-neutropenic surgical intensive care patients with anti inflammatory process // *Int. Care Med.*— 1997.— Vol. 23, № 1.— P. 16–22.

Grunnet N., Steffenson R., Bennett E. P., Clausen H. Evaluation of Histo-blood group ABO genotyping in a Danish population: Frequency of a novel O allele defined as O2 // *Vox Sang.*— 1994.— Vol. 67.— P. 210–215.

Gurtsevich V., Senyuta N., Lennartz L. et al. HTLV-1 infection among different ethnic groups in Sakhalin // 2-nd International Conference «AIDS, cancer and human retroviruses».— St. Petersburg, 1993.— P. 23–24.

Hayashi J., Shinonaga M., Nakazawa S. et al. Does recombinant human erythropoietin accelerate erythropoiesis for predonation before cardiac surgery // *Jap. Circulat. J.*— 1993.— Vol. 57, № 6.— P. 475–479.

Helm R. E., Gold J. P., Rosengart T. K. et al. Erythropoietin in cardiac surgery // *J. Card. Surg.*— 1993.— Vol. 8, № 5.— P. 579–606.

Hepstonstall J., Barnes J., Burton E. et al. Transmission of hepatitis B to patients from four infected surgeons without HBe antigen // *New Engl. J. Med.*— 1997.— Vol. 336, № 3.— P. 178–184.

Heslop H. E., Li C., Krance R. A. et al. Epstein-Barr infection after bone marrow transplantation // *Blood.*— 1994.— Vol. 83, № 6.— P. 1706–1708.

Hess J. R. The history and epidemiology of massive transfusion // VI Regional European congress of the international society of blood transfusion.— Jerusalem, Israel, 1999.— P. 59–60.

Hill A. F., Zeidler M., Ironside J. W. Diagnosis of new variant CJD by tonsil biopsy // *Lancet*.— 1997.— Vol. 349.— P. 99—100.

Hirasawa H., Sugai T., Ohtake Y. *et al.* Hemopurification in the management of ARDS complicating multiple organ failure // *Nippon Ryobu. Shikkan. Zasshi*.— 1991.— Vol. 29, № 2.— P. 170—174.

Hohne M., Berg T., Muller A. R., Schreier E. Detection of sequences of TT virus, a novel DNA virus, in German patients // *J. gen. Virol.*— 1998.— Vol. 79, № 11.— P. 2761—2764.

Hollan S. R. Optimal use of blood transfusion and immunology // Plenary session lectures of the XIV congress of the ISBT and the X congress WFH.— Helsinki, 1975.— P. 165—180.

Holland P. V. Transfusion-associated graft-versus-host-disease (T-A-GVHD): diagnosis and prevention // VI Regional European congress of the international society of blood transfusion.— Jerusalem, Israel, 1999.— P. 54.

Holland P. V. Viral testing of blood donors: where will it end? // VI Regional European congress of the international society of blood transfusion.— Jerusalem, Israel, 1999.— P. 47.

Howe D. K., Sibley L. D. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease // *J. infect. Dis.*— 1995.— Vol. 172, № 6.— P. 1561—1566.

Hsu S. H., Chan M. M., Bias W. B. Genetic control of major histocompatibility complex-linked immune response to synthetic polipeptides in man // *Proc. nat. Acad. Sci. USA*.— 1981.— Vol. 78.— P. 440.

Huestis D. W., Taswell H. F. Donors and dollars // *Transfusion*.— 1994.— Vol. 34, № 2.— P. 96—97.

Ihara H., Yabumoto H., Shima H. *et al.* Predeposit autologous blood transfusion in elderly patients undergoing transurethral resection of the prostate // *Int. Urol. Nephrol.*— 1993.— Vol. 25, № 6.— P. 571—576.

Ikeda H., Takasu M., Inoue K. *et al.* Infection with an unenveloped DNA virus (TTV) in patients with acute or chronic liver disease of unknown etiology and in those positive for hepatitis C virus RNA // *Hepatology*.— 1999.— Vol. 30, № 2.— P. 205—212.

Irving W. L., Day S., Bennet D. *et al.* Use of anti-GOR testing in the screening of blood donors for hepatitis C virus infection // *Vox Sang.*— 1993.— Vol. 65, № 1.— P. 38—41.

Jakobs K., Shoemaker C., Rudersdorf R. *et al.* Isolation and characterization of genomic and cDNA clones of human erythropoietin // *Nature*.— 1985.— Vol. 313.— P. 806—810.

Janke A. R., Grumet F. C., Rogentine G. N. Platelet transfusion therapy. The selection of compatible platelet donors for refractory patients by lymphocyte HLA-typing // *New Engl. J. Med.*— 1969.— Vol. 281.— P. 1208—1211.

Jarvis L. M., Davidson F., Hanley P. *et al.* Infection with hepatitis G virus among recipients of plasma products // *Lancet*.— 1996.— Vol. 348, № 9038.— P. 1352—1355.

Jensen L. S., Andersen A. J., Christiansen P. M. Postoperative infection and natural killer function following blood transfusion in patients undergoing elective colorectal surgery // *Brit. J. Surg.*— 1992.— Vol. 79, № 5.— P. 513—516.

Jerne N. K. Towards a network theory of the immune system // *Ann. Immunol.*— 1974.— Vol. 125.— P. 373—389.

Johnsen H. E., Jensen L., Gaarsdal E. *et al.* Priming with recombinant human hematopoietic cytokines before bone marrow harvest expands in vivo and enhances ex

vivo recovery of myeloid progenitors in short-term liquid cultures // *Exp. Hemat.*— 1994.— Vol. 22, № 1.— P. 80–86.

Jones M. F., Wold A. D., Espy M. J., Smith T. F. Serologic diagnosis of Parvovirus B19 infection // *Mayo Clin. Proc.*— 1993.— Vol. 68, № 11.— P. 1107–1109.

Kaarinen L., Paloheimo J., Kleimola E. et al. Rise of cytomegalovirus antibodies in an infectious-mononucleosis-like syndrome after transfusion // *Brit. Med. J.*— 1966, № 12.— Vol. 1.— 1270–1272.

Kahn R. A., Duffly B. F., Rodey J. J. Ultraviolet irradiation of platelet concentrate abrogates lymphocyte activation without affecting platelet function in vitro // *Transfusion.*— 1985.— Vol. 25.— P. 547–562.

Kanda T., Yokosuka O., Ikeuchi T. et al. The role of TT virus infection in acute viral hepatitis // *Hepatology.*— 1999.— Vol. 29, № 6.— P. 1905–1908.

Kanda Y., Tanaka Y., Kami M. et al. TT virus in bone marrow transplant recipients // *Blood.*— 1999.— Vol. 93, № 8.— P. 2485–2490.

Kao J.-H., Chen P.-J., Hsiang S.-C. et al. Phylogenetic analysis of GB-virus C: comparison of isolates from Africa, North America and Taiwan // *J. infect. Dis.*— 1996.— Vol. 174, № 4.— P. 870–873.

Kao J.-H., Chen P.-J., Wang J.-T. et al. Blood-bank screening for hepatitis G // *Lancet.*— 1997.— Vol. 349, № 9046.— P. 207.

Kaplan C., Forestier F., Daffos F. et al. Management of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia // *Trans. Med. Rev.*— 1996.— Vol. 10.— P. 233–240.

Kato N., Ootsuyama Y., Tanaka T. et al. Marked sequence diversity in the putative envelope proteins of hepatitis C viruses // *Virus research.*— 1992.— Vol. 22, № 2.— P. 107–123.

Kaufman R. J. Expression and structure-function properties of recombinant factor VIII // *Trans. Med. Rev.*— 1992.— Vol. 6.— P. 235–246.

Kaufman R. J., Wasley L. C., Davies M. V. et al. Effect of von Willebrand factor coexpression on the synthesis and secretion of factor VIII in Chinese hamster ovary cells // *Molec. cell. Biol.*— 1989.— Vol. 9.— P. 1233–1242.

Kichler T. S., Braine H., Ness P. M. The predictive value of crossmatching platelet transfusion for alloimmunized patients // *Transfusion.*— 1985.— Vol. 25.— P. 385–389.

Klatzmann D., Bensussan A., Glukman J. C. et al. Blood transfusion suppresses lymphocyte reactivity in uremic patients. II. Evidence of soluble suppressor factors // *Transplantation.*— 1983.— Vol. 36, № 3.— P. 337–340.

Kolb H.-J. Donor leukocyte transfusions for treatment of leukemic relapse after bone marrow transplantation // *Vox Sang.*— 1998.— Vol. 74, Suppl. 2.— P. 321–329.

Kolho E. K., Krusius T. Risk factors for hepatitis C virus antibody positivity in blood donors in a low-risk country // *Vox Sang.*— 1992.— Vol. 63, № 3.— P. 192–197.

Konishi T., Ohbayashi T., Kaneko T. et al. Preoperative use of erythropoietin for cardiovascular operations in anemia // *Annals of thoracic surgery.*— 1993.— Vol. 56, № 1.— P. 101–103.

Korth C., Stierli B., Streit P. et al. Prion (PrPSc)-specific epitope defined by a monoclonal antibody // *Nature.*— 1997.— Vol. 390, № 6655.— P. 74–77.

Koskinen P., Lemstrom K., Bruggeman C. et al. Acute cytomegalovirus infection induces a subendothelial inflammation (endothelialitis) in the allograft vascular wall — a possible linkage with enhanced allograft arteriosclerosis // *Amer. J. Path.*— 1994.— Vol. 144, № 1.— P. 41–50.

Kotsopoulou M., Kyrtonis M.-C., Theodoris H. et al. Possible role in immunosuppression of TGF- β 1 released from platelets during storage of concentrates // VI Regional European congress of the international society of blood transfusion.— Jerusalem, Israel, 1999.— P. 89.

Kreisler J. M., Rementeria M. C., Pablo R. et al. HLA-DR2, a marker for class 1 antigen sensitization // Transplantation.— 1988.— Vol. 45.— P. 1071–1074.

Kroll H., Kiefel V., Santoso S. Clinical aspects and typing of platelet alloantigen // Vox Sang.— 1998.— Vol. 74, Suppl. 2.— P. 345–354.

Kunimi M., Ishikawa K., Tsutsumi H. et al. Parvovirus infection and hemolytic anemia // Amer. J. Hematol.— 1994.— Vol. 46, № 2.— P. 159–160.

Lambrecht B., Mohr H., Verpoort T. et al. Virus inactivation of fresh-frozen plasma using a blood bag system with integrated methylene blue and plasma filter as well as high-intensity sodium lamps // VI Regional European congress of the international society of blood transfusion.— Jerusalem, Israel, 1999.— P. 116.

Lapierre Y., Rigal D., Adam J. et al. The gel test: A new way to detect antigen-antibody reactions // Transfusion.— 1990.— Vol. 30, № 1.— P. 109–113.

Lawrence A. J., Cooper V., Loizidou M. et al. Blood transfusion and recurrence of colorectal cancer: the role of platelet derived growth factor // Brit. J. Surg.— 1990.— Vol. 77, № 10.— P. 1106–1109.

Lederman M., Ratniff O., Scillian J. et al. Impaired cell mediated immunity in patients with classic hemophilia // New Engl. J. Med.— 1983.— Vol. 308, № 2.— P. 79–83.

Lee H. H., Allain J.-P. Genomic screening for blood-borne viruses in transfusion settings // Vox Sang.— 1998.— Vol. 74, Suppl. 2.— P. 119–123.

Lefrere J. J., Ravera N., Corbi C. et al. Infection with hepatitis G virus in immunoglobulin recipients // Lancet.— 1997.— Vol. 349, № 9046.— P. 206.

Link H., Brune T., Hubner G. et al. Effect of recombinant human erythropoietin after allogeneic bone marrow transplantation // Annals of Hematology.— 1993.— Vol. 67, № 4.— P. 169–173.

Lobbiani A., Morales M., Sciariada L. TT-virus in Italian blood donors: prevalence and persistence of viremia // VI Regional European Congress of the International Society of Blood Transfusion.— Jerusalem, Israel, 1999.— P. 116.

Locatelli F., Zecca M., Beguin Y. et al. Accelerated erythroid repopulation with no stem-cell competition effect in children treated with recombinant human erythropoietin after allogeneic bone marrow transplantation // Brit. J. Haematol.— 1993.— Vol. 84, № 4.— P. 752–754.

Lopez J., Steegmann J. L., Perez G. et al. Erythropoietin in the treatment of delayed immune hemolysis of a major ABO-incompatible bone marrow transplant // Amer. J. Hematol.— 1994.— Vol. 45, № 3.— P. 237–239.

Lorenz W., Reimund K. P., Weitzel F. et al. Granulocyte colony-stimulating factor prophylaxis before operation protects against lethal consequences of postoperative peritonitis // Surgery.— 1994.— Vol. 116, № 5.— P. 925–934.

Lubitz R. M., Scheib J. S. Culture-positive cytomegalovirus pleuritis in a nonimmunocompromised host // Southern Med. J.— 1994.— Vol. 84, № 4.— P. 549.

MacDonald D. M., Scott G. R., Clutterbuck D., Simmonds P. Infrequent detection of TT virus infection in intravenous drug users, prostitutes, and homosexual men // J. infect. Dis.— 1999.— Vol. 179, № 3.— P. 686–689.

Malfitano G., Lima M., Malfitano G. S. Le complicazioni della transfusione di sangue e l'autotransfusione // Acta Med. Mediter.— 1992.— Vol. 8, № 3.— P. 199–204.

Manuelidis E. E., Gorgacs E. J., Manuelidis L. Viremia in experimental Creutzfeldt-Jakob disease // Science.— 1978.— Vol. 200, № 4345.— P. 1069—1071.

Manyonda I. I., De Show A., Foulkes A., Osborn D. E. Renal cell carcinoma: blood transfusions and survival // Brit. Med. J.— 1986.— Vol. 293, № 6546.— P. 537.

Markris K., Chaikali A., Grouzi E. et al. Screening blood donors for syphilis with a 3rd ELISA test — preliminary report // VI Regional European congress of the international society of blood transfusion.— Jerusalem, Israel, 1999.— P. 115.

Marsh J., Hamer-Hodges D. W. Association between transfusion with plasma and the recurrence of colorectal carcinoma // Brit. J. Surg.— 1990.— Vol. 77, № 7.— P. 623—626.

Mathiesen O., Lund L., Brodthager U. et al. The effect of previous blood transfusion on lymphocyte subsets in patients with colorectal cancer // Vox Sang.— 1994.— Vol. 67, № 1.— P. 36—41.

McAuley C., Herring S., Uemura Y. et al. Hepatitis C virus more resistant to inactivation than human immunodeficiency virus // Vox Sang.— 1992.— Vol. 63, № 4.— P. 289.

McCarthy M. Hepatitis A linked to clotting factors in USA // Lancet.— 1996.— Vol. 347, № 9000.— P. 251.

McOmish F., Chan S.-W., Dow B. C. et al. Detection of three types of hepatitis C virus in blood donors: investigation type-specific differences in serologic reactivity and rate of alanine aminotransferase abnormalities // Transfusion.— 1993.— Vol. 33, № 1.— P. 7—13.

Melnick J. L., Adam E., Debakey M. E. Cytomegalovirus and atherosclerosis // Europ. Heart J.— 1993.— Vol. 14, Suppl. K.— P. 30—38.

Melnick J. L., Hu C. Z., Burek J. et al. Cytomegalovirus in arterial walls of patients with atherosclerosis // J. Med. Virol.— 1994.— Vol. 42, № 2.— P. 170—174.

Menitove J. E., Richards W. A., Destree M. Early US experience with anti-HCV kit in blood donors // Lancet.— 1990.— Vol. 336, № 8709.— P. 244—245.

Mercuriali F., Inghilleri G., Biffi E. Short term, low dose presurgical recombinant human erythropoietin (HuEPO) in surgery // VI Regional European congress of the international society of blood transfusion.— Jerusalem, Israel, 1999.— P. 84.

Meryman H. T. Transfusion — induced alloimmunization and immunosuppression and the effects of leukocyte depletion // Transplant. Med. Rev.— 1989.— Vol. 3.— P. 180—185.

Mezrow C. K., Bergstein I., Tartter P. I. Postoperative infections following autologous and homologous blood transfusion // Transfusion.— 1992.— Vol. 32, № 1.— P. 27—30.

Mincheff M. Changes in donor leukocytes during blood storage. Implications on post-transfusion immunomodulation and transfusion-associated GVHD // Vox Sang.— 1998.— Vol. 74, Suppl. 2.— P. 189—200.

Mincheff M. S., Getsov S. I., Meriman H. T. Mechanisms of alloimmunization and immunosuppression by blood transfusions in an inbred Rorent model // Transplantation.— 1995.— Vol. 60, № 8.— P. 815—821.

Minchinton R. Neutrophil immunology — new antigens and new ways of thinking // VI Regional European congress of the international society of blood transfusion.— Jerusalem, Israel, 1999.— P. 57—58.

Mohr H. Virus inactivation of fresh plasma // Vox Sang.— 1998.— Vol. 74, Suppl. 2.— P. 171—172.

Mollison P. L., Engelfriet C. P., Contreras M. Blood trasnsfusion in clinical medicine.— Oxford London: Blackwell Scientific Publications, 1987.— 1033 p.

Moore M. C., Godfrey G. S., Hewitt P. E., Barbara J. A. J. Does anti-HBc reactivity reflect «lifestyle» risk in North London blood donors // *Vox Sang.*— 1997.— Vol. 72, № 2.— P. 79—84.

Morgenthaler J. J. Methods to secure viral safety of source material (plasma) and plasma derivatives // VI Regional European congress of the international society of blood transfusion.— Jerusalem, Israel, 1999.— P. 48.

Moroff G., Luban N. L. G. Prevention of transfusion-associated GVHD // *Transfusion.*— 1992.— Vol. 32, № 2.— P. 301—304.

Morris D. L., Rothstein T. L. CD5+ B (B-1) cells and immunity // *Handbook of B- and T-lymphocytes* / Ed. by E. C. Snow.— San Diego: Acad. Press Inc., 1994.— P. 421—439.

Mosley J. W., Spronk A., Solomon L. et al. Anti-HBc donor screening and hepatitis B in recipient // *Transfusion.*— 1993.— Vol. 33, Suppl.— S. 113.

Mourant A. E., Kopec A. C., Domaniewska-Sobczak K. Blood group and diseases.— Oxford: Oxford University Press, 1978.— 328 p.

Murphy M. F., Metcalfe P., Thomas H. et al. Use of leukocyte-poor blood components and HLA-matched-platelet donors to prevent HLA-alloimmunization // *Brit. J. Haemat.*— 1986.— Vol. 62.— P. 529—534.

Murphy M. F., Waters A. H., Grint P. C. A. et al. Hepatitis C infection in multitransfused patients with acute leukemia // *Lancet.*— 1990.— Vol. 335, № 8680.— P. 58—59.

Murphy P. T., Hutchinson R. M. Identification and treatment of anaemia in older patients // *Drugs Aging.*— 1994.— Vol. 4, № 2.— P. 113—127.

Mushahwar I. K., Erker J. C., Muerhoff A. S. et al. Molecular and biophysical characterization of TT virus: evidence for a new virus family infecting humans // *Proc. nat. Acad. Sci. USA.*— 1999.— Vol. 96, № 6.— P. 3177—3182.

Muylle L. Cytokines in haemolytic and non-haemolytic transfusion reactions // VI Regional European congress of the international society of blood transfusion.— Jerusalem, Israel, 1999.— P. 19.

Muylle L., Peetermans M. E. Effect of prestorage leukocyte removal on the cytokine levels in stored platelet concentrates // *Vox Sang.*— 1994.— Vol. 66, № 1.— P. 14—17.

Nakano T., Park Y. M. TT-virus infection among blood donors and patients with non-B, non-C liver diseases in Korea // *J. Hepatol.*— 1999.— Vol. 30, № 3.— P. 389—393.

Naoumov N. V., Petrova E. P., Thomas M. G., Williams R. Presence of a newly described human DNA virus (TTV) in patients with liver disease // *Lancet.*— 1998.— Vol. 352, № 9123.— P. 195—197.

Nelson K. E., Ahmed F., Ness P., Donahue J. G. The incidence of posttransfusion hepatitis // *New Engl. J. Med.*— 1993.— Vol. 328, № 17.— P. 1280—1281.

Neuner P., Charvat B., Knobler R. et al. Cytokine release by peripheral blood mononuclear cell is affected by 8-methoxypsoralen plus UV-A // *Photochem. and Photobiol.*— 1994.— Vol. 59, № 2.— P. 182—188.

Ng-Bautista C., Sedmak D. Cytomegalovirus infection is associated with absense of alveolar epithelial cell HLA class II anitgen expression // *J. infect. Dis.*— 1995.— Vol. 71, № 1.— P. 39—44.

Niel C., de Oliveira J. M., Ross R. S. et al. High prevalence of TT virus infection in Brazilian blood donors // *J. Med. Virol.*— 1999.— Vol. 57, № 3.— P. 259—263.

Norman D. F., Barry J. M., Wetzsteon P. F. Successful cadaver kidney transplantation in patients highly sensitized by blood transfusion // *Transplantation.*— 1985.— Vol. 39.— P. 253—257.

Ogden J., MacDonald S. L. Haemoglobin-based red cell substitutes: current status // *Vox Sang.*— 1995.— Vol. 69, № 4.— P. 302–308.

Ohls R. K., Hunter D. D., Christensen R. D. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of recombinant erythropoietin in treatment of the anemia of bronchopulmonary dysplasia // *J. Pediat.*— 1993.— Vol. 123, № 6.— P. 996–1000.

Okamoto H., Kato N., Iizuka H. et al. Distinct genotypes of a nonenveloped DNA virus associated with posttransfusion non-A to G hepatitis (TT virus) in plasma and peripheral blood mononuclear cells // *J. Med. Virol.*— 1999.— Vol. 57, № 3.— P. 252–258.

Okamoto H., Nishizawa T., Ukita M. et al. The entire nucleotide sequence of a TT virus isolate from the United States (TUS01): comparison with reported isolates and phylogenetic analysis // *Virology.*— 1999.— Vol. 259, № 2.— P. 437–448.

Okamoto H., Takahashi M., Nishizawa T. et al. Marked genomic heterogeneity and frequent mixed infection of TT virus demonstrated by PCR with primers from coding and noncoding regions // *Virology.*— 1999.— Vol. 259, № 2.— P. 428–436.

Okuda H., Kawano M., Iwamoto S. et al. The RHD gene is highly detectable in Rh D negative Japanese donors // *J. clin. Invest.*— 1997.— Vol. 100.— P. 373–379.

Olerup O., Zetterquist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: An alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation // *Tiss. Antigens.*— 1992.— Vol. 39.— P. 225–235.

Olsson M. L., Chester M. A. Evidence for a new type of O allele at the ABO locus, due to a combination of the A2 nucleotide deletion and the A^{cl} nucleotide insertion // *Vox Sang.*— 1996.— Vol. 71.— P. 113–117.

Olsson M. L., Chester M. A. Frequent occurrence of a variant O1 at the ABO locus // *Vox Sang.*— 1996.— Vol. 70.— P. 26–30.

Opelz J. HLA in transplantation // 23rd annual meeting of the American society for histocompatibility and immunogenetics.— Atlanta, 1997.— P. 226–228.

Opelz J., Graver B., Mickey M. R., Terasaki P. I. Lymphocytotoxic antibody response to transfusion in potential kidney transplant recipients // *Transplantation.*— 1981.— Vol. 32.— P. 177–181.

Opelz J., Sengar D. P. S., Mickey M. R., Terasaki P. Effect of blood transfusion on subsequent kidney transplants // *Transplant. Proc.*— 1973.— Vol. 5, № 1.— P. 253–25.

O'Rourke K. I., Baszler T. V., Miller J. M. et al. Monoclonal antibody F89 / 160.1.5 defines a conserved epitope on the ruminant prion protein // *J. clin. Microbiol.*— 1998.— Vol. 36, № 6.— 1750–1755.

Pajkrt D., Manten A., van der Poll T. et al. Modulation of cytokine release and neutrophil function by granulocyte colony-stimulating factor during endotoxemia in humans // *Blood.*— 1997.— Vol. 90, № 4.— P. 1415–1424.

Palmer A., Welsh K., Gjorstrup P. et al. Removal anti-HLA antibodies by extracorporeal immunoadsorption to enable renal transplantation // *Lancet.*— 1989.— Vol. 1.— P. 10–15.

Paloheimo J. A., Von Essen R., Klemola E. et al. Subclinical cytomegalovirus infections and cytomegalovirus mononucleosis after open heart surgery // *Amer. J. Cardiol.*— 1968.— Vol. 22, № 6.— P. 624–630.

Patry D., Curry B., Easton D. et al. Creutzfeldt–Jakob disease (CJD) after blood product transfusion from a donor with CJD // *Neurology.*— 1998.— Vol. 50, № 6.— P. 1872–1873.

Perron H., Garson J. A., Bedin F. et al. Molecular identification of a novel retrovirus repeatedly isolated from the patients with multiple sclerosis // *Proc. nat. Acad. Sci. USA.*— 1997.— Vol. 94.— P. 7583–7588.

Perrons C. J., Garson J. A. Hepatitis C virus blood donor screening: recombinant immunoblot assay interpretation reexamined // *Vox Sang.*— 1993.— Vol. 64, № 4.— P. 253.

Petri W. A. Infections in heart transplant recipients // *Europ. Heart J.*— 1993.— Vol. 14, № 2.— P. 141–146.

Phair J. P., Abels R. I., McNeill M. V., Sullivan D. J. Recombinant human erythropoietin treatment: investigational new drug protocol for the anemia of the acquired immunodeficiency syndrome // *Arch. intern. Med.*— 1993.— Vol. 153, № 23.— 2669–2675.

Phillips N., Parker D. Fc-receptors effects on induction of c-myc mRNA expression in mouse B-lymphocytes by anti-immunoglobulin // *Molec. Immunol.*— 1987.— Vol. 24, № 11.— P. 1199–1205.

Piantadosi S. The adverse effect of blood transfusion in lung cancer // *Chest.*— 1992.— Vol. 102, № 1.— P. 6–8.

Pinho J. R., Takahashi D. A., Fava A. L. et al. Transfusion-transmitted virus (TTV) in Brazil. Preliminary report // *Rev. Inst. Med. Trop.*— 1998.— Vol. 40, № 5.— P. 335–336.

Poletes G. P., Miller S. F., Finley R. K., Lincks J. Blood use in the burn unit: a possible role for erythropoietin // *J. Burn Care Rehabil.*— 1994.— Vol. 15, № 1.— P. 37–41.

Poovorawan Y., Theamboonlers A., Jantaradsamee P. et al. Hepatitis TT virus infection in high-risk groups // *Infection.*— 1998.— Vol. 26, № 6.— P. 355–358.

Prati D., Lin Y. H., De Mattei C. et al. A prospective study on TT virus infection in transfusion-dependent patients with beta-thalassemia // *Blood.*— 1999.— Vol. 93, № 5.— P. 1502–1505.

Prince H. E., Fang C. T. Unaltered lymphocyte subsets in hepatitis C virus-seropositive blood donors // *Transfusion.*— 1992.— Vol. 32, № 2.— P. 166–168.

Prowse C., Picken M., Gillon J. Prevalence and consistency of ALT elevation for the assessment of blood product infectivity // *Vox Sang.*— 1993.— Vol. 65, № 3.— 204–208.

Prowse C. V. Alternatives to human blood and blood resources // *Vox Sang.*— 1998.— Vol. 74, Suppl. 2.— P. 21–28.

Prusiner S. B. The prion diseases // *Brain Pathol.*— 1998.— Vol. 8, № 3.— P. 499–513.

Prusiner S. B., Scott M. R. Genetics of prions // *Ann. Rev. Genet.*— 1997.— Vol. 31.— P. 139–175.

Pummer K., Purstner P., Auner H. L. et al. Serum immunosuppressive acid protein // *Brit. J. Urol.*— 1994.— Vol. 73, № 6.— P. 612–614.

Quaintiliani L., Buzzonetti A., Di Girolama M. et al. Effect of blood transfusions on immune responsiveness and survival of cancer patients: a postoperative study // *Transfusion.*— 1991.— Vol. 31, № 5.— P. 713–718.

Raeber A. J., Klein M. A., Frigg R. Significance of prion protein in transmission of prions and in pathogenesis of spongiform encephalopathies // *Wien. med. Wschr.*— 1998.— Vol. 148, № 4.— P. 74–77.

Ramos H. C., Todo S., Kang Y. et al. Liver transplantation without the use of blood products // *Arch. Surg.*— 1994.— Vol. 129, № 5.— P. 528–533.

- Rebulla P.* Platelet support of patients with haematological malignancy / In: Todd A. A., Rossi U., ed. Current problems of transfusion medicine in clinical practice.— St. Petersburg, 1993.— P. 95–104.
- Reed E., Hardy M., Brensilver J. et al.* Anti-idiotypic antibodies to HLA and their influence on patients sensitization // Transplant. Proc.— 1987.— Vol. 19.— P. 762–763.
- Reesink H. W.* How far shall we go in the predonation selection of blood donors to safeguard patients for blood-transfusion-related infections // Vox Sang.— 1993.— Vol. 65, № 1.— P. 1–9.
- Reesink H. W., Bresters D., Van der Poel C. L. et al.* New developments in hepatitis C // Scand. J. Gastroent.— 1992.— Vol. 27, Suppl. 194.— P. 82–86.
- Reisner E. J., Kastyu D. D., Phillips J. et al.* Alloantibody responses in multiply transfused sickle cell patients // Tiss. Antigens.— 1987.— Vol. 30.— P. 161–165.
- Rich R. R., Masry M. N., Fox E. J. et al.* Induction of suppressor T-cells by cytokines // Transplant. Proc.— 1988.— Vol. 20, № 6.— P. 1156–1157.
- Ricketts M. N., Cashman N. R., Stratton E. E., ElSaadany S.* Is Creutzfeldt–Jakob disease transmitted in blood? // Emerg. Infect. Dis.— 1997.— Vol. 3, № 2.— P. 155–163.
- Roddie P. H., Ludlam C. A.* Recombinant coagulation factors // Blood Rev.— 1997.— Vol. 11.— P. 169–177.
- Rogers P., Saldanha J., Allain J.-P.* Report of EPFA / NIBSC workshop Nucleic acid amplification test for detection of blood borne viruses // Vox Sang.— 1997.— Vol. 72.— P. 199–206.
- Rolfs A., Schumacher H. C., Marx P.* (Eds). PCR topics. Usage of polymerase chain reaction in genetic and infectious diseases.— Berlin Heidelberg: Springer Verlag, 1991.— 258 p.
- Rothlein R., Marlin S. D.* Method for detection organ transplant rejection: Пат. 5223396 США; № 695173; Заявл. 03.05.91; Опубл. 29.06.93.
- Rubin R. A., Falestiny M., Malet P. F.* Chronic hepatitis C: advances in diagnostic testing and therapy // Ann. Inst. Med.— 1994.— Vol. 154, № 4.— P. 387–392.
- Sable C. A., Donowitz G. R.* Infections in bone marrow transplant recipients // Clin. Inf. Dis.— 1994.— Vol. 18, № 3.— P. 273–281.
- Saikawa I., Hotokebuchi T., Arita C. et al.* Autologous blood transfusion with recombinant erythropoietin treatment. 22 arthroplasties for rheumatoid arthritis // Acta Orthop. Scand.— 1994.— Vol. 65, № 1.— P. 15–19.
- Saiki R. K., Walsh P. S., Levenson C. H., Erlich H. A.* Genetic analysis of amplified DNA with immobilized sequence-specific oligonucleotide probes // Proc. nat. Acad. Sci. USA.— 1989.— Vol. 86.— P. 6230–6234.
- Saltzman R. L., Quirk M. R., Jordan M. C.* Disseminated cytomegalovirus infection. Molecular analysis of virus and leukocyte interaction of viremia // J. clin. Invest.— 1988.— Vol. 81, № 1.— P. 75–81.
- Sandler S. G.* Recruitment and management of donors: a perspective from the United States // Vox Sang.— 1994.— Vol. 67, Suppl. 3.— P. 137–138.
- Sanfilippo F., Vaughn W. L., Wetzsteon P. F.* Comparative effects of pregnancy, transfusion and prior graft rejection on sensitization and renal transplant results // Transplantation.— 1982.— Vol. 34.— P. 360–366.
- Santoso S., Kiefel V.* Human platelet-specific alloantigens: update // Vox Sang.— 1998.— Vol. 74, Suppl. 2.— P. 249–253.
- Sasazuki T., Kohno J., Ivanoto I.* Association between HLA haplotype and low responsiveness to tetanus toxoid in man // Nature.— 1978.— Vol. 273.— P. 359–361.

Sasazuki T., Nishimura J., Muto M. et al. HLA-linked genes controlling immune response and disease susceptibility // Immunol. Rev.— 1983.— Vol. 70.— P. 51–55.

Sayers M. H., Gretch D. R. Recombinant immunoblot and polymerase chain reaction testing in volunteer whole blood donors screened by a multi-antigen assay for hepatitis C virus antibodies // Transfusion.— 1993.— Vol. 33, № 9.— P. 809–813.

Schiffer C. A., Keller C., Dutcher J. et al. Potential HLA-matched platelet donor availability for alloimmunized patients // Transfusion.— 1983.— Vol. 23.— P. 286–289.

Schleinker W., Hook D., Bormann B., Reibold J.-P. Praeoperative eigenblutspende: Vollblut versus erythrozytenkonzentrat und fresh-frozen-plasma // Chir. Gastroenterol. mit interdisziplinär. Gespräch.— 1994.— Bd. 10, № 1.— S. 97–98.

Schmoeckel M., Nollert G., Mempel M. et al. Effects of recombinant human erythropoietin on autologous blood donation before open heart surgery // Thorac. Cardiovasc. Surg.— 1993.— Vol. 41, № 6.— P. 364–368.

Scholz S., Allert E. HLA and diseases: involvement of more than one HLA-linked determinant of disease susceptibility // Immunol. Rev.— 1983.— Vol. 70.— P. 77–89.

Schwarz R. Chronic posttransfusion non-A, non-B hepatitis and autoimmune chronic active hepatitis — aspects on treatment, prognosis and relation to hepatitis C virus.— Stockholm, 1991.— P. 48.

Schwarz R., Von Sydow M., Weiland O. Positive reactivity with anti-HCV ELISA in patients with autoimmune hepatitis — not confirmed with a neutralisation test // Scand. J. infect. Dis.— 1991.— Vol. 23, № 1.— P. 19–24.

Scornik J. C., Brunson M. E., Howard R. E., Pfaff W. W. Alloimmunisation, memory and the interpretation of cross-match results for renal transplantation // Transplantation.— 1992.— Vol. 54.— P. 389–394.

Scornik J. C., Ireland J. E., Howard P. J. et al. Sensitization by blood transfusion in previously sensitized patients // Transplantation.— 1983.— Vol. 35.— P. 505–509.

Scornik J. C., Ireland J. E., Howard P. J., Pfaff W. W. Assessment of the risk for broad sensitisation by blood transfusion // Transplantation.— 1984.— Vol. 37.— P. 249–254.

Scornik J. C., Salomon D., Howard P. J., Pfaff W. W. Evaluation of antibody synthesis in broadly sensitized patients // Transplantation.— 1988.— Vol. 45.— P. 95–99.

Scornik J. C., Salomon D. R., Howard R. J., Pfaff W. W. Prevention of transfusion-induced broad sensitization in renal transplant candidates // Transplantation.— 1989.— Vol. 47.— P. 617–621.

Sedmak D. D., Guglielmo A. M., Knight D. A. et al. Cytomegalovirus inhibits major histocompatibility complex class II expression on infected endothelial cells // Amer. J. Path.— 1994.— Vol. 144, № 4.— P. 683–689.

Shapiro C. N. Transmission of hepatitis viruses // Ann. Int. Med.— 1994.— Vol. 120, № 1.— P. 82–84.

Shimizu K., Kitoh S. Increase in number of lymphocytes secreting IgG following blood transfusion // Blood.— 1982.— Vol. 59, № 2.— P. 312–316.

Shoemaker W. C., Wo C. C. J. Circulatory effects of whole blood, packed red cells, albumin, starch and cristalloids in resuscitation of shock and acute critical illness // Vox Sang.— 1998.— Vol. 74, Suppl. 2.— P. 69–74.

Simmonds P., Davidson F., Lycett C. et al. Detection of a novel DNA virus (TTV) in blood donors and blood products // Lancet.— 1998.— Vol. 352, № 9123.— P. 191–195.

Simons J. N., Leary T. P., Dawson G. J. et al. Isolation of novel virus-like sequences associated with human hepatitis // Nature Medicine.— 1995.— Vol. 1.— P. 564–569.

Simons M. J., Wheeler R., Cohen D. et al. Restriction fragment length polymorphism of HLA genes: summary of the Tenth International Workshop Southern Blot Analysis //

Dupont B. (ed.) Immunobiology of HLA, Vol. 1. Histocompatibility testing 1987.— New York: Springer-Verlag, 1989.— P. 959—1023.

Sjolin J. Manipulation of the immunoinflammatory reaction in clinical sepsis // Acta Anaesthesiol. Scand. Suppl.— 1993.— Vol. 98, № 1.— P. 20—24.

Sloand E., Kumar P., Klein H. G. et al. Transfusion of blood components to persons infected with human immunodeficiency virus type 1: relationship to opportunistic infection // Transfusion.— 1994.— Vol. 34, № 1.— P. 48—53.

Smid W. M. Bacterial contamination of platelet concentrates in routine use // VI Regional European congress of the international society of blood transfusion.— Jerusalem, Israel, 1999.— P. 66.

Sorrentino R., Lannicola C., Costanzi S. et al. Detection of complex alleles by direct analysis of DNA heteroduplexes // Immunogenetics.— 1991.— Vol. 33.— P. 118—123.

Spanos P. K., Gifnopoulos Z., Trigonis K. et al. Assessment of immunity system after extracorporeal circulation: probable implication // Ann. Thorac. Surg.— 1982.— Vol. 37, № 4.— P. 289—292.

Stack G., Snyder E. L. Cytokine generation in stored platelet concentrates // Transfusion.— 1994.— Vol. 34, № 1.— P. 20—25.

Stamatoyannopoulos G., Nienhus A. W., Majerus P. W., Varmus H. The molecular basis of blood diseases.— Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1994.— 986 p.

Stein E. L., Santoso S., Bux J. et al. Typing of the granulocyte-specific NA antigens by restriction fragment length polymorphism analysis // Brit. J. Haemat.— 1994.— Vol. 87.— P. 428—430.

Stewart G. E., Ironside J. W. New variant Creutzfeldt—Jakob disease // Curr. Opin. Neurol.— 1998.— Vol. 11, № 3.— P. 259—262.

Swoboda R., Bommhardt H., Schimpl A. Regulation of lymphokine expression in T cell activation. Rapid loss of IL1-specific RNA after removal of the stimulating signal // Europ. J. Immunol.— 1991.— Vol. 21.— P. 1991—1994.

Takayama S., Miura T., Matsuo S. et al. Prevalence and persistence of a novel DNA TT virus (TTV) infection in Japanese haemophiliacs // Brit. J. Haemat.— 1999.— Vol. 104, № 3.— P. 626—629.

Takayama S., Yamazaki S., Matsuo S., Sugii S. Multiple infection of TT virus (TTV) with different genotypes in Japanese hemophiliacs // Bioch. biophys. Res. Commun.— 1999.— Vol. 256, № 1.— P. 208—211.

Tan D., Matsumoto A., Conry-Cantilena C. et al. Analysis of hepatitis G virus (HGV) RNA, antibody to HGV envelope protein and risk factors for blood donors coinfectd with HGV and hepatitis C virus // J. infec. Dis.— 1999.— Vol. 179, № 5.— P. 1055—1061.

Tanemoto K., Kuinose M., Kanaoka Y. Nihon kyobu gakkai zasshi // J. Jap. Assoc. Thorac. Surg.— 1994.— Vol. 42, № 2.— P. 212—216 (яп.).

Tarro G. Virus e immunodeficienze // Clin. Europ.— 1985.— Vol. 24, № 1.— P. 32—42.

Tasaki T., Ohto H., Noguchi M. et al. Iron and erythropoietin measurement in autologous blood donors with anemia: implications for management // Transfusion.— 1994.— Vol. 34, № 4.— P. 337—343.

Tegtmeier G. E. Transfusion-transmitted cytomegalovirus infection: significance and control // Vox Sang.— 1986.— Vol. 51, Suppl. 1.— P. 22—30.

Terasaki P. I., Bernow D., Park M. S. et al. Microdroplet testing for HLA-A, -B, -C and D antigens // Amer. J. clin. Path.— 1978.— Vol. 69.— P. 103.

Tolpin M. D., Stewart J. A., Warren D. et al. Transfusion transmission of cytomegalovirus confirmed by restriction endonuclease analysis // J. Pediatr.— 1985.— Vol. 107, № 8.— P. 953—956.

Traube D. U., Cameron J. S., Ogg C. S. et al. Renal transplantation after removal and prevention of resynthesis of HLA antibodies // Lancet.— 1984.— Vol. 1.— P. 824.

Triulzi D. J., Vanek K., Ryan D. H., Blumberg N. A clinical and immunologic study of blood transfusion and postoperative bacterial infection in spinal surgery // Transfusion.— 1992.— Vol. 32, № 5.— P. 517—524.

Tsuda F., Okamoto H., Ukita M. et al. Determination of antibodies to TT virus (TTV) and application to blood donors and patients with post-transfusion non-A to G hepatitis in Japan // J. Virol. Methods.— 1999.— Vol. 77, № 2.— P. 199—206.

Tsuji T., Higashi T., Shimomura H. Liver disease // Clin. Sci.— 1994.— Vol. 87, № 2.— P. 125—127.

Tsukuma H., Hiyama T., Tanaka S. et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma among patients with chronic liver disease // New Engl. J. Med.— 1993.— Vol. 328, № 25.— P. 1797—1801.

Tuder R. M., Weinberg A., Panajotopoulos N., Kalil J. Cytomegalovirus infection amplifies class-I major histocompatibility complex expression on cultured human endothelial cells // J. Heart and Lung Transplantation.— 1994.— Vol. 13, № 1.— P. 129—138.

Udom-Rice I., Bussell J. B. Fetal and neonatal thrombocytopenia // Blood Rev.— 1995.— Vol. 9.— P. 57—64.

Ukita M., Okamoto H., Kato N. et al. Excretion into bile of a novel unenveloped DNA virus (TT virus) associated with acute and chronic non-A-G hepatitis // J. infect. Dis.— 1999.— Vol. 179, № 5.— P. 1245—1248.

Usui A., Kawamura M., Hibi M. et al. Blood concentrations of G-CSF and myelopoiesis in patients undergoing aortocoronary bypass surgery // Ann. Haemat.— 1997.— Vol. 74, № 4.— P. 169—173.

Valentini T., Testi M., Fioravanti D. et al. DNA typing of human platelet antigensystems in Italian blood donors // VI Regional European congress of the international society of blood transfusion.— Jerusalem, Israel, 1999.— P. 137.

Van Duijn C. M., Delasnerie-Laupretre N., Masullo C. et al. Case-control study of risk factors of Creutzfeldt—Jakob disease in Europe during 1993—95. European Union (EU) Collaborative Study Group of Creutzfeldt—Jakob disease (CJD) // Lancet.— 1998.— Vol. 351, № 9109.— P. 1081—1085.

Van Marwijk K. M., Van Prooijen K. E., Moes M., Bosnia-Stants I. The use of leukocyte depleted platelet concentrates for the prevention of refractoriness and primary HLA-alloimmunization, a prospective, randomised trial // Blood.— 1990.— Vol. 77.— P. 201—206.

Van Prooijen H. C., Aarts-Riemens M. I., Van Oostendorp W. R. et al. Prevention of donor-specific T-cell unresponsiveness after buffy-coat depleted blood transfusion // Brit. J. Haemat.— 1995.— Vol. 91, № 3.— P. 219—223.

Van Rhenen D. J., Thijssen P. M. H. J., Overbeek M. A. M. Serological characteristics of partial D antigen category VI in 8 unrelated blood donors // Vox Sang.— 1994.— Vol. 66, № 2.— P. 133—136.

Viazov S., Ross R. S., Varenholz C. et al. Lack of evidence for an association between TTV infection and severe liver disease // J. clin. Virol.— 1998.— Vol. 11, № 3.— P. 183—187.

Von Bormann B., Aulich S. Autologe transfusionsverfahren: nutzen und risiko // Dtsch. Arztebl.— 1993.— Bd. 90, № 44.— S. 2159—2160.

Vrieling H., Reesink H. W., Zaaier H. L. et al. Look back of anti-HCV ELISA-positive, HCV-RNA PCR-negative donors and recipients of their blood products // *Vox Sang.*— 1997.— Vol. 72, № 2.— P. 67–70.

Waldman T. A., Goldman C. K., Robb R. J. et al. Expression of interleukin 2 receptors on activated human B cells // *J. exp. Med.*— 1987.— Vol. 160, № 11.— P. 1450–1466.

Wang Y., Joncourt F., Kristensen F., de Weck A. L. Cell cycle-related changes in number of T-lymphocyte receptors for glucocorticoid and insulin // *Intern. J. Immunopharmacol.*— 1984.— Vol. 6, № 1.— P. 105–110.

Wang Y.-J., Lee S.-D., Hwang S.-J. Incidence of post-transfusion hepatitis before and after screening for hepatitis C virus antibody // *Vox Sang.*— 1994.— Vol. 67, № 2.— P. 187–190.

Warmuth I., Harth Y., Matsui M. Ultraviolet radiation induces phosphorylation of the epidermal growth factor receptor // *Cancer Res.*— 1994.— Vol. 54, № 1.— P. 374–376.

Watanabe J., Matsumoto C., Fujimura K. et al. Predictive value of screening tests for prevent hepatitis C virus infection evidenced by viraemia // *Vox Sang.*— 1993.— Vol. 65, № 3.— P. 199–203.

Webster N. R., Ward M. J. Battlefield transfusions // *JAMA.*— 1994.— Vol. 271, № 4.— P. 319.

Winslow R. M. Artificial oxygen carriers // VI Regional European congress of the international society of blood transfusion.— Jerusalem, Israel, 1999.— P. 49.

Wobbes T., Joosen K. H. J., Kuypers H. H. C. et al. The effect of packed cells and whole blood transfusion on survival after curative resection for colorectal carcinoma // *Dis. Colon Rectum.*— 1989.— Vol. 32, № 10.— P. 743–748.

Wood J. J. Vaccines to prevent viral hepatitis // *New Engl. J. Med.*— 1997.— Vol. 336, № 3.— P. 196–204.

Yamaguchi K., Tokui N., Maeda S. et al. Perioperative blood transfusion and the prognosis of patients with gastric cancer // *Aust. NZ J. Surg.*— 1990.— Vol. 60, № 5.— P. 765–772.

Yamamoto T., Kajino K., Ogawa M. et al. Hepatocellular carcinomas infected with the novel TT DNA virus lack viral integration // *Biochim. biophys. Res. Commun.*— 1998.— Vol. 251, № 1.— P. 339–343.

Yap P. L., Leaver H. A., Gillon J. Prions: properties, occurrence, modes of transmission and relevance for blood transfusion and blood derivatives // *Vox Sang.*— 1998.— Vol. 74, Suppl. 2.— P. 131–134.

Yoshida C. F. T., Soares O. A., Schatzmayr H. G. et al. Early appearance and biphasic kinetics of IgG antibody against hepatitis C virus protein C100-3 // *Med. Microbiol. Immunol.*— 1992.— Vol. 180, № 6.— P. 279–287.

Yoshinaga M., Nakate S., Motomura S. et al. Cytomegalovirus-associated gastric ulcerations in a normal host // *Amer. J. Gastroent.*— 1994.— Vol. 83, № 3.— P. 448–449.

Yoto Y., Kudoh T., Haseyama K. et al. Incidence of human parvovirus B19 DNA detection in blood donors // *Brit. J. Haemat.*— 1995.— Vol. 91, № 4.— P. 1017–1018.

Zhiburt E. B., Serebrianaya N. B., Sidorkevich S. V. et al. Specific antibodies as a reason of resistance to treatment with preparations of recombinant erythropoietin // VI Regional European congress of the international society of blood transfusion.— Jerusalem, Israel, 1999.— P. 128.

Серия «НАЦИОНАЛЬНАЯ МЕДИЦИНСКАЯ БИБЛИОТЕКА»

ПСИХОТЕРАПИЯ

Под редакцией Б. Д. Карвасарского

Учебник для студентов медицинских вузов



В первом в нашей стране учебнике по психотерапии, подготовленном известными учеными и организаторами психотерапевтической службы, изложены современные представления о психотерапии: ее интердисциплинарные основы, механизмы лечебного действия и оценка его эффективности, основные направления и методы психотерапии, ее возрастной и транскультуральный аспекты, особенности применения в различных областях медицины, организация психотерапевтической помощи. Учебник содержит тестовый контроль знаний по психотерапии и список рекомендуемой литературы.

Код 968.

*Цена наложенным платежом 137 р.,
544 стр., 17×24, перепл.*

Предисловие • Общая психотерапия • Определение психотерапии и содержание основных понятия • Краткий исторический очерк • Интердисциплинарный характер психотерапии и ее основы • Механизмы лечебного действия психотерапии • Взаимоотношения врача и больного в психотерапии • Оценка эффективности психотерапии • Альтернативная психотерапия • Основные направления и методы психотерапии • Принципы классификации методов психотерапии • Основные направления в психотерапии • Основные формы психотерапии • Другие направления в психотерапии • Специальная психотерапия • Психотерапия в различных областях медицины • Возрастные аспекты психотерапии • Психотерапия и фармакотерапия • Психотерапия, психопрофилактика и реабилитация • Транскультуральный подход в психотерапии • Организация психотерапевтической помощи • Особенности и различные формы организации психотерапевтической помощи • Роль врача-психотерапевта в системе оказания медицинской помощи • Обучение в области психотерапии • Ответы на контрольные вопросы (тестовый контроль) • Именной указатель • Список литературы

Н. П. Шабалов

ДЕТСКИЕ БОЛЕЗНИ

Учебник для студентов медицинских вузов

(4-е издание)



Четвертое издание учебника (предыдущие выпущены в 1979, 1985, 1993 гг.) переработано и дополнено. Введены новые разделы: «Острые отравления у детей», «Неотложная помощь в педиатрии», «Боль у детей», «Гельминтозы» и др. Сведения по основным разделам педиатрии приведены в определенной последовательности: определение заболевания, этиология, патогенез, клиника, диагностика, дифференциальная диагностика, лечение, прогноз, профилактика и диспансерное наблюдение. Учебник отражает современный уровень знаний о наиболее часто встречающихся заболеваниях, изучение которых предусмотрено программой по детским болезням, утвержденной Министерством здравоохранения Российской Федерации на 4–6-х курсах педиатрических факультетов медицинских институтов, университетов и академий.

Код 1679.

Цена наложенным платежом 252 р.,
1088 стр., 20,5×26, перепл.

Педиатрия как раздел медицины • Медицинская этика и деонтология педиатра • Психология больного ребенка • Аномалии конституции • Синдром внезапной смерти • Дефицитные состояния • Лихорадка и гиперемии у детей • Болезни органов дыхания • Аллергические заболевания • Заболевания органов пищеварения у детей раннего возраста • Заболевания органов пищеварения у детей старшего возраста • Заболевания желчевыделительной системы • Хронические заболевания печени • Врожденные пороки сердца • Приобретенные заболевания сердечно-сосудистой системы • Ревматические болезни • Болезни почек и мочевыводящих путей • Болезни системы крови • Эндокринные заболевания • Наследственные болезни • Нейроциркулярная дисфункция • Нарушения сна у детей • Боль и болевой синдром у детей • Острые отравления у детей • Иммунодефицитные состояния • Синдром приобретенного иммунодефицита • ВИЧ-инфекции у детей • Сравнение антимикробных спектров препаратов • Антибактериальные препараты и их дозы для детей

В. Т. Ивашкин, В. К. Султанов

ПРОПЕДЕВТИКА ВНУТРЕННИХ БОЛЕЗНЕЙ

Практикум для студентов медицинских вузов



В практикуме в систематической форме изложена методика непосредственного обследования больного с помощью расспроса и исследования объективного статуса. Указана последовательность применения и техника выполнения различных методических приемов, представлены нормативы, возможные патологические отклонения, их клиническая интерпретация, а также методика определения степени тяжести общего состояния больного и вариант описания результатов в учебной истории болезни. Приведены основные методы лабораторного и инструментального обследования больного и их диагностическое значение. Рассмотрены синдромы поражения сердечно-сосудистой системы и системы органов дыхания.

Для студентов медицинских вузов.

Код 134.

Цена наложенным платежом 49 р.,
240 стр., 13х20, обл.

Методы непосредственного обследования больного • Условия проведения обследования • Общая схема обследования • Расспрос • Осмотр • Пальпация • Перкуссия • Аускультация • Клиническая топография • Расспрос больного • Жалобы • История возникновения и развития заболевания • История жизни • Общий осмотр • Сознание • Положение • Телосложение • Питание • Кожа и ее придатки • Местный осмотр • Лицо и слизистые оболочки • Шея и щитовидная железа • Периферические лимфатические узлы • Молочные (грудные) железы • Опорно-двигательный аппарат • Сердечно-сосудистая система • Осмотр прекардиальной области и поверхностных сосудов • Пальпация пульса, прекардиальной области периферических артерий • Перкуторное определение границ сердца и ширины сосудистого пучка • Аускультация сердца и сосудов • Измерение артериального давления • Функциональные пробы • Система органов дыхания • Осмотр грудной клетки и оценка дыхания • Пальпация грудной клетки и определение голосового дрожания • Сравнительная и топографическая перкуссия легких • Аускультация легких и определение бронхофонии • Органы брюшной полости • Осмотр живота • Поверхностная пальпация живота • Глубокая пальпация и другие вспомогательные методы исследования органов брюшной полости • Исследование живота методами перкуссии и аускультации • Исследование прямой кишки • Мочеполовая система • Определение степени тяжести общего состояния больного • Описание объективного статуса в истории болезни • Лабораторные и инструментальные методы исследования • Клинический анализ крови • Клинический анализ мочи • Функциональные и инструментальные методы исследования почек • Методы исследования желудочно-кишечного тракта • Исследование мокроты • Исследование плеврального выпота • Исследование функции внешнего дыхания • Электрокардиография • Синдром поражения сердечно-сосудистой системы и органов дыхания • Пороки сердца • Синдром поражения миокарда • Недостаточность кровообращения • Синдром бронхита • Бронхообструктивный синдром • Синдром эмфиземы легких • Синдром уплотнения легочной ткани • Синдром полости в легком • Синдром ателектаза • Синдром скопления воздуха в плевральной полости • Синдром скопления жидкости в плевральной полости

Серия «СПУТНИК ВРАЧА»

СПРАВОЧНИК ХАРРИСОНА ПО ВНУТРЕННИМ БОЛЕЗНЯМ

Под редакцией К. Иссельбахера, Е. Браунвальда, Дж. Вилсона,
Дж. Мартина, А. Фаучи, Д. Каспера
(13-е международное издание, перевод с английского)



Перед вами перевод новейшего издания всемирно известного харрисоновского справочника по внутренним болезням, который в течение многих лет является международным бестселлером. В справочнике кратко изложены ключевые вопросы клиники, диагностики и лечения всех внутренних болезней, включая кожные и инфекционные болезни, эндокринопатии, онко-, невро- и психопатологию. Справочник рассчитан на практикующих врачей всех специальностей и студентов медицинских вузов всех факультетов.

Код 354.

*Цена наложенным платежом 249 р.,
976 стр., 17×24, перепл.*

Предисловие • Основные симптомы и признаки • Экстренная медицинская помощь • Инфекционные болезни • Сердечно-сосудистые заболевания • Заболевания органов дыхания • Болезни мочевыделительной системы • Заболевания органов пищеварения • Аллергические болезни, клиническая иммунология и ревматические болезни • Гематология и онкология • Эндокринология и болезни обмена веществ • Невропатология • Расстройства психики и злоупотребление различными веществами • Дерматология • Патология питания • Нежелательные реакции на лекарства • Лабораторные показатели, имеющие клиническое значение • Предметный указатель

Серия «СПУТНИК ВРАЧА»

СПРАВОЧНИК ПО ХИРУРГИИ

Под редакцией С. Шварца, Д. Шайерса, Ф. Спенсера
(6-е международное издание, перевод с английского)



Познакомьтесь с переводом шестого издания широко известного американского справочника по хирургии. В нем вы найдете сведения по основным разделам клинической хирургии, включая травматологию и ортопедию, оперативную гинекологию, урологию, онко- и нейрохирургию. Справочник рассчитан на хирургов, семейных врачей и студентов медицинских вузов.

Код 729.

Цена наложенным платежом 227 р.,
880 стр., 17×24, перепл.

Эндокринный и метаболический ответы на повреждение • Вода, электролиты и нутритивная поддержка • Гемостаз • Шок • Инфекции • Травмы • Ожоги • Лечение ран и их заживление • Онкология • Трансплантация • Осложнения • Мониторинг физиологических функций хирургического больного • Кожа и подкожные ткани • Молочная железа • Опухоли головы и шеи • Грудная клетка, плевра, легкие и средостение • Врожденные заболевания сердца • Приобретенные заболевания сердца • Заболевания крупных сосудов • Заболевания периферических артерий • Заболевания вен и лимфатических сосудов • Клинические проявления заболеваний пищеварительного тракта • Пищевод и диафрагмальные грыжи • Желудок • Тонкая кишка • Толстая кишка, прямая кишка и анус • Червеобразный отросток • Печень • Желчный пузырь и внепеченочная билиарная система • Поджелудочная железа • Селезенка • Перитонит и внутрибрюшные абсцессы • Брюшная стенка, сальник, брыжейка и забрюшинное пространство • Грыжи брюшной стенки • Гипофиз и надпочечники • Щитовидная и околощитовидная железы • Детская хирургия • Урология • Гинекология • Нейрохирургия • Ортопедия • Ампутация • Кисть • Пластическая и реконструктивная хирургия

Серия «СПУТНИК ВРАЧА»

Н. П. Елинов, Э. Г. Громова

СОВРЕМЕННЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Справочник с рецептурой

(2-е издание)



В справочнике широко представлены основные лекарственные препараты, используемые в медицинской и фармацевтической практике отечественного здравоохранения. Рассмотрены общие вопросы лекарствоведения: понятия и термины, правила приема и пути введения лекарств, механизмы и сила действия лекарственных веществ, помощь при отравлении лекарствами, несовместимость лекарств. В специальной части приведены материалы о лечебном и/или профилактическом использовании лекарств применительно к системам: нервной, сердечно-сосудистой, дыхательной, пищеварительной, мочевыделительной, эндокринной, крови, иммунной; специальные разделы посвящены противовоспалительным, антисептическим и химиотерапевтическим лекарственным средствам. Справочник предназначен для врачей всех специальностей, провизоров и студентов медицинских вузов.

Код 1286.

Цена наложенным платежом 173 р.,
928 стр., 17×24, перепл.

Правила приема и пути введения лекарств • Фармакокинетика и фармакодинамика лекарств • Помощь при отравлении лекарствами • Несовместимость лекарств • Лекарственные средства, действующие на центральную нервную систему • Средства, действующие преимущественно на периферические нейромедиаторные процессы • Средства, влияющие на эфферентную иннервацию • Средства, влияющие на афферентную иннервацию • Средства, действующие на сердечно-сосудистую систему • Лекарственные препараты, влияющие на систему дыхания • Средства, влияющие на пищеварительную систему • Средства, влияющие на мочевыделительную систему • Витамины и витаминные препараты • Средства, влияющие на эндокринную систему • Маточные средства • Средства, влияющие на систему крови • Лекарственные средства, влияющие на иммунную систему • Противовоспалительные, антисептические и химиотерапевтические средства • Нестероидные противовоспалительные средства • Антисептики и дезинфектанты • Противовирусные лекарственные средства • Противобактериальные лекарственные средства • Противогрибковые лекарственные средства • Антипротозойные средства • Антигельминтные средства • Противоопухолевые и противолучевые лекарственные средства

Серия «ФИЗИОЛОГИЯ»

Морман Д., Хеллер Л.

ФИЗИОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

(4-е международное издание, перевод с английского)



Отличное пособие, содержащее описание ключевых аспектов клинической физиологии сердечно-сосудистой системы. Великолепная подборка тестов для самоподготовки. Более 70 схем и рисунков.

Книга предназначена не только для студентов и аспирантов, но и специалистов-физиологов, а также клиницистов.

Код 1271

Цена наложенным платежом 96 р.
300 с., 17×24, обл.

Гомеостаз и кровообращение • Гомеостаз и сердечно-сосудистая система • Основные составные части сердечно-сосудистой системы • Физические основы кровообращения • Лимфатическая система • Основы строения и функции сердца • Насосная функция сердца • Возбуждение сердца • Нервная регуляция деятельности сердца • Необходимые условия для эффективной насосной функции сердца • Характеристика клеток сердца • Электрическая активность сердца • Механическая деятельность сердца • Сердечный насос • Сердечный цикл • Минутный объем сердца • Регуляция ударного объема • Обзор факторов, определяющих минутный объем • Энергетический обмен сердца • Количественная оценка функции сердца • Электрокардиограмма • Основные характеристики электрокардиограммы • Диполи сердца и электрокардиографические кривые • Электрическая ось сердца и ее отклонения • Стандартная 12-осевая система отведений электрокардиограммы • Нарушение функции сердца • Нарушения электрофизиологии сердца и аритмии • Патология клапанов • Периферическая сосудистая система • Основы строения сосудистой сети • Основные функции сосудов • Измерение артериального давления • Факторы, определяющие артериальное давление • Регуляция сосудистого тонуса • Гладкая мускулатура сосудов • Регуляция тонуса артериол • Регуляция венозного тонуса • Обзор основных механизмов регуляции тонуса сосудов • Регуляция тонуса сосудов в отдельных органах • Центральное венозное давление как показатель состояния кровообращения • Кривая венозного возврата • Влияние периферического венозного давления на венозный возврат • Определение минутного объема и венозного возврата центральным венозным давлением • Клиническое значение отклонений центрального венозного давления • Регуляция артериального давления • Кратковременная регуляция артериального давления • Долговременная регуляция артериального давления • Реакции сердечно-сосудистой системы на физиологические стрессы • Влияние процесса дыхания • Влияние силы тяжести • Влияние физической нагрузки • Влияние старения • Деятельность сердечно-сосудистой системы при патологии • Гемодинамический шок • Нарушения сердечной деятельности • Артериальная гипертензия

Книга — почтой: 197198, С.-Петербург, а/я 619

Вандер А.

ФИЗИОЛОГИЯ ПОЧЕК

(5-е международное издание, перевод с английского)

5-е международное издание

А. Вандер

Физиология ПОЧЕК



Перед вами пятое издание замечательного американского пособия по клинической физиологии почек. Книга содержит более 70 схем и рисунков, а также великолепную подборку тестов для самоподготовки.

Книга предназначена не только для студентов и аспирантов, но и специалистов-физиологов, а также клиницистов.

Код 987.

*Цена наложенным платежом 91 р.
300 с., 17×24, обл.*

Предисловие к русскому изданию • Предисловие • Функции почки, анатомия и основные процессы, протекающие в почке • Почечный кровоток и клубочковая фильтрация • Почечный клиренс • Основные механизмы канальцевой реабсорбции и секреции • Выделение почками органических веществ • Основные почечные процессы, касающиеся транспорта натрия, хлора и воды • Регуляция экскреции натрия и воды: поддержание постоянства объема плазмы и ее осмолярности • Почечная регуляция баланса калия • Регуляция почкой баланса ионов водорода • Регуляция обмена кальция и фосфора • Вопросы для изучения • Приложения • Рекомендуемая литература

Серия «КЛИНИЧЕСКИЕ ЛЕКЦИИ»

Б. М. Никифоров

КЛИНИЧЕСКИЕ ЛЕКЦИИ ПО НЕВРОЛОГИИ И НЕЙРОХИРУРГИИ



В клинических лекциях известного российского нейрохирурга и невропатолога профессора Б. М. Никифорова изложены основные вопросы диагностики и лечения заболеваний центральной и периферической нервной системы. Являясь стержнем экзаменационной программы, предлагаемые лекции окажут неоценимую помощь студентам в подготовке к экзаменам и зачетам.

Для студентов медицинских вузов, начинающих невропатологов и нейрохирургов.

Код 986.

*Цена наложенным платежом 53 р.,
352 стр., 13×20, обл.*

Дополнительные методы исследования в диагностике болезней нервной системы • Неинвазивные методы исследования • Инвазивные методы исследования • Значение комплексных методов исследования в клинике нервных болезней и нейрохирургии • Закрытая травма черепа, головного мозга, позвоночника, спинного мозга и конского хвоста • Закрытая травма черепа, головного мозга и ее последствия • Острая травма позвоночника, спинного мозга и конского хвоста • Гидроцефалия и некоторые пороки развития центральной нервной системы • Приобретенная гидроцефалия • Нормотензивная гидроцефалия • Гидроцефалия у взрослых • Дополнительные методы обследования • Лечение • Сирингомиелия • Сосудистые заболевания головного и спинного мозга • Введение • Анатомия сосудов мозга • Классификация нарушения мозгового кровообращения • Сосудистые заболевания головного мозга • Сосудистые заболевания спинного мозга • Опухоли центральной нервной системы • Опухоли головного мозга • Опухоли спинного мозга и позвоночника • Диастематомиелия • Заболевания периферической нервной системы • Классификация (Международный комитет по нервно-мышечным заболеваниям) • Заболевания черепных нервов • Неврит лицевого нерва • Невралгия тройничного нерва • Акушерские параличи у детей • Повреждение периферических нервных стволов • Невропатии, обусловленные токсическими воздействиями • Остеохондроз позвоночника • Туннельные невропатии • Опухоли периферических нервов

- по телефону (812)-294-0104;
- по электронному адресу: postbook@piter-press.ru;
- на нашем сервере: www.piter-press.ru;
- по почте: 197198, Санкт-Петербург, а/я 619

ЗАО "Издательство «Питер»".

310093, Харьков, а/я 9130 — для жителей Украины

220012, Минск, а/я 104 — для жителей Беларуси

Вы можете выбрать один из двух способов доставки и оплаты изданий:

• Наложным платежом с оплатой заказа при получении посылки на ближайшем почтовом отделении. Цены на издание приведены ориентировочно и включают в себя стоимость пересылки по почте (но без учета авиатарифа). Книги будут высланы нашей службой «Книга — почтой» в течение двух недель после получения заказа или выхода книги из печати.

• Оплата наличными при курьерской доставке (только для Санкт-Петербурга). Курьер бесплатно доставит заказ по указанному адресу в удобное для вас время в течение трех дней. Такой заказ лучше оформлять по телефону.

Указанные цены гарантированы до 1 марта 2000 г.

Вы можете заказать бесплатный альманах профессиональной литературы Издательского дома «Питер».



Бланк заказа:

Фамилия И. О. _____

Тел. _____

Факс _____

E-mail _____

Адрес: _____

книга	код	цена
Серия «Практическая медицина»		
Руководство по педиатрии , неотложная помощь и интенсивная терапия, 2-е междунар. изд., под ред. М Роджерса, М. Хелфаера, 1120 стр.	718	273 р.
Педиатрия , пособие для врачей и студентов, под ред. К. М. Сергеевой, О. К. Москвичева, Н. Н. Смирновой, 384 стр.	1313	57 р.
Срочная хирургия детей , руководство для врачей, Г. А. Баиров, 464 стр.	284	71 р.
Справочник по кожным и венерическим заболеваниям , А. Н. Родионов, 256 стр.	149	40 р.
Заболевания, передаваемые половым путем , А. Н. Родионов, 256 стр.	1238	41 р.
Сексопатология , ситуационные задачи, А. М. Свядош, 256 стр.	982	34 р.
Неотложная гастроэнтерология , руководство для врачей, 2-е изд., А. А. Крылов, А. Г. Земляной, В. А. Михайлович, А. И. Иванов, 512 стр.	935	59 р.
Кишечная непроходимость , руководство для врачей, 2-е изд. И. А. Ерюхин, В. П. Петров, М. Д. Ханевич, 448 стр.	925	57 р.
Ошибки, опасности и осложнения в хирургии вен , руководство для врачей, под ред. Ю. Л. Шевченко, 320 стр.	973	60 р.
Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения , руководство для врачей, 3-е изд., А. Н. Климов, Н. Г. Никульчева, 512 стр.	932	53 р.
Исследование объективного статуса больного , В. К. Султанов, 240 стр.	134	49 р.
Серия «Спутник врача»		
Справочник Харрисона по внутренним болезням , 13-е междунар. изд., под ред. К. Иссельбахера, Е. Браунвальда и др., 976 стр.	729	235р.

Справочник по хирургии , 6-е междунар. изд., под ред. С. Шварца, Дж. Шайерса, Ф. Спенсера, 880 стр.	729	227 р.
Современные лекарственные препараты , справочник с рецептурой, 2-е изд., Н. П. Елинов, Э. Г. Громова, 928 стр.	1286	173 р.
Серия «Современная медицина»		
Современная офтальмология , под ред. В. Ф. Даниличева, 672 стр.	366	216 р.
Детская травматология , руководство для врачей, 2-е изд., Г. А. Баиров, 384 стр.	2198	71 р.
Справочник по электрокардиографии , 384 стр.	990	75 р.
Сифилис , руководство для врачей, 2-е изд., А. Н. Родионов, 288 стр.	358	49 р.
Грибковые заболевания кожи , руководство для врачей, 2-е изд., А. Н. Родионов, 288 стр.	715	55 р.
Психотерапия: пособие для врачей , А. М. Свядош, 288 стр.	960	49 р.
Серия «Квалификационные тесты» (МАПО)		
Хирургия в вопросах и ответах , под ред. И. А. Ерюхина, А. Е. Борисова, С. А. Шляпникова, 320 стр.	952	42 р.
Урология и андрология в вопросах и ответах , под ред. О. Л. Тиктинского, В. В. Михайличенко, 384 стр.	717	37 р.
Серия «Квалификационные тесты» (США)		
Неотложная медицина в вопросах и ответах , под ред. К. Кениг, 512 стр.	299	37 р.
Дерматология в вопросах и ответах , С. К. Гуламали, 224 стр.	920	34 р.
Психиатрия в вопросах и ответах , 7-е междунар. изд., Ш. Вудс, 320 стр.	924	37 р.
Серия «Национальная медицинская библиотека»		
Психотерапия , учебник для медицинских вузов, Б. Д. Карвасарский, 544 стр.	968	137 р.
Детские болезни , учебник для медицинских вузов, 4-е изд., Н. П. Шабалов, 1088 стр.	1679	252 р.
Серия «Трудная тема»		
Неотложная урология детского возраста , И. Б. Осипов, Г. А. Баиров, 96 стр.	678	29 р.
Серия «Клинические лекции»		
Клинические лекции по неврологии и нейрохирургии , Б. М. Никифоров, 352 стр.	986	53 р.
Лекции по оперативной хирургии и клинической анатомии , О. П. Большаков, Г. М. Семенов, 480 стр.	3901	68 р.
Серия «Физиология»		
Физиология почек , 5-е междунар. изд., А. Вандер, 288 стр.	987	91 р.
Физиология сердечно-сосудистой системы , 4-е междунар. изд., Д. Морман, П. Виллан, 288 стр.	1271	98 р.
Серия «В помощь студенту»		
Первая медицинская помощь при травмах , М. А. Морозов, 256 стр.	1221	37 р.
Ситуационные задачи по травматологии , М. А. Морозов, 192 стр.	1268	34 р.
Ситуационные задачи по отоларингологии , под ред. В. В. Плужникова, 192 стр.	988	34 р.
Патологическая анатомия в вопросах и ответах , С. А. Повзун, 352 стр.	3030	26 р.

**Медицинская редакция издательства «Питер»
приглашает к сотрудничеству авторов.
Тел./факс: (812) 327-1311, 327-1315**

**Книги издательства «Питер» можно купить
В РОЗНИЦУ в магазинах городов России и СНГ
ОПТОМ по минимальным ценам у наших дилеров:**

МОСКВА

Отдел сбыта издательства «Питер», ул. Бутлерова, д. 17Б, оф. 207 и 240,
тел. (095) 333 15 73.

С.-ПЕТЕРБУРГ

Отдел сбыта издательства «Питер», м. «Электросила», ул. Благодатная, 67,
тел. (812) 327 93 37, 294 54 65, e-mail: sales@piter-press.ru

УКРАИНА

Харьков, фирма «Питер-Т», тел. (0572) 23 75 63, факс (0572) 14 96 09, e-mail:
piter@tender.kharkov.com. Почтовый адрес: 310093, г. Харьков, а/я 9130

Киев, филиал фирмы «Питер-Т», тел. (044) 211 83 77

БЕЛАРУСЬ

Минск, предприятие «ПитерБел», ул. Кедышко, 19, тел./факс (0172) 16 00 06

СЕВЕРНЫЙ КАВКАЗ

Ессентуки, фирма «Россы», ул. Октябрьская, 424, «Книжный магазин»,
тел./факс (86534) 6 93 09. Почтовый адрес: 357600, г. Ессентуки, а/я 80, e-mail:
rossy@kmw.ru

УРАЛ

Екатеринбург, магазин № 14, ул. Челюскинцев, 23, тел. (3432) 53 24 90 e-mail:
gvardia@mail.ur.ru

Екатеринбург, фирма «Валео Плюс», тел. (3432) 42 07 75, 42 56 00

БАШКОРТОСТАН

Уфа, фирма «Азия», ул. Зенцова, 70 (оптовая продажа), маг. «Оазис»,
ул. Чернышевского, 88, тел./факс (3472) 50 39 00, e-mail: asiaufa@ufanet.ru

ТАТАРСТАН

Казань, фирма «Таис», ул. Гвардейская, 9а, тел. (8432) 76 34 55, факс 38 24 32, e-mail: borism@tatincom.ru

СИБИРЬ И ДАЛЬНИЙ ВОСТОК

Иркутск, фирма «Продалить», тел. (3952) 59 13 70, факс 51 23 31, e-mail:
prodalit@irk.ru. Почтовый адрес: 664031, г. Иркутск, ул. Байкальская, 172, а/я 1397, <http://www.prodalit.irk.ru>

Новосибирск, фирма «Топ-книга», тел. (3832) 36 10 26, факс 36 10 27, e-mail:
office@top-kniga.ru, <http://www.top-kniga.ru>. Книги по почте: 630117, а/я 560

Тюмень, фирма «Друг», ул. Володарского, 38, тел./факс (3452) 24 27 18, e-mail:
drug@tyumen.ru

Хабаровск, фирма «Мирс», тел. (4212) 22 74 58, факс 22 73 30, e-mail:
postmaster@bookmirs.khv.ru

Почтовый адрес: 680000, г. Хабаровск, ул. Ким-Ю-Чена, 21

Книги ПО ПОЧТЕ наложенным платежом:

197198, С.-Петербург, а/я 619 — для жителей России

310093, Харьков, а/я 9130 — для жителей Украины

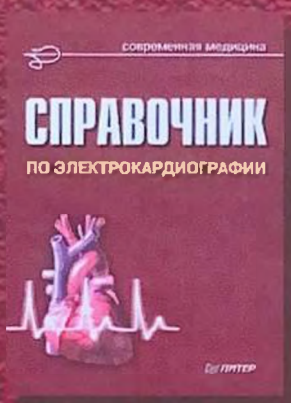
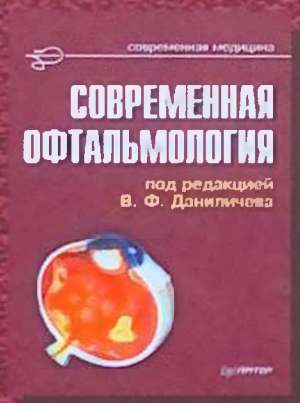
220012, Минск, а/я 104 — для жителей Беларуси

e-mail: postbook@piter-press.ru <http://www.piter-press.ru>

Переливание крови, ее компонентов и препаратов в хирургической клинике является важной частью профилактики и коррекции анемического, геморрагического и иммунодефицитного синдромов. Совершенствование специализированного лечения в трансплантологии, онкологии, гематологии, кардиохирургии, травматологии, ортопедии и других областях медицины предусматривает увеличение потребности в компонентах и препаратах крови. Особенно резко возрастает необходимость одномоментного использования большого количества гемотрансфузионных средств в рамках медицины катастроф.

Данное руководство предназначено для врачей хирургического профиля, гематологов, трансфузиологов и студентов старших курсов медицинских вузов.

От знаний – к опыту, от опыта – к мастерству!



СПРАШИВАЙТЕ В КНИЖНЫХ МАГАЗИНАХ

Заказ наложенным платежом:

197198, Санкт-Петербург, в/я 619

е-мей: postbook@piter-press.ru

для жителей России

310093, Харьков, в/я 9130

для жителей Украины

220012, Минск, в/я 104

для жителей Беларуси



ПИТЕР®
WWW.PITER-PRESS.RU

