

Огляди літератури

УДК: 615.38.39+615.373

ГЕМОЛІЗ: ПОРЯДОК ДОСЛІДЖЕННЯ ТА КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ АНТИЕРИТРОЦИТНИХ АНТИТІЛ

Р.П. Павлюк, Г.А. Мироненко

ДУ "Інститут гематології та трансфузіології НАМН України", м. Київ
Група імуногематології (керівник - к. мед. н. Р.П. Павлюк)

Реферат

Мета. Звернути увагу лікарів на необхідність всебічної характеристики та встановлення патогномонічного значення виявлених при гемолізі антиеритроцитних антитіл, які не завжди є ознакою його автоімунного походження або мають клінічне значення.

Матеріал і методи. У роботі представлені власні спостереження і дані літератури щодо механізмів деструкції еритроцитів, особливостей клінічних проявів імунного гемолізу, ролі комплементу та серологічних характеристик антиеритроцитних антитіл у діагностиці імунних гемолітичних анемій.

Результати та обговорення. Приводом для направлення крові на дослідження антиеритроцитних антитіл є, як правило, низький рівень гемоглобіну, підозра на імуноконфліктну вагітність та/або збільшення непрямого білірубину і вільного гемоглобіну у сироватці крові, зменшення вмісту гаптоглобіну, а також неефективні трансфузії еритроцитівмісних середовищ, посттрансфузійні ускладнення та анемія новонароджених. Для визначення напрямку і об'єму дослідження, необхідно враховувати прояви патології і процеси, які відбуваються в організмі хворого при цитолізі еритроцитів. Основними механізмами імунного руйнування та елімінації еритроцитів є: комплементзалежний гемоліз, який відбувається внутрішньосудинно, і макрофатально-опосередкований фагоцитоз та секвестрація в селезінці, що реалізуються позасудинно. Додатковим способом елімінації із кров'яного руслу еритроцитів, навантажених антиеритроцитними антитілами, є феномен антитілозалежної клітинної опосередкованої цитотоксичності (АЗКОЦ). В антитілозалежному гемолізі значну роль відіграє система комплементу. Особливості патогенезу обумовлюють ступінь гемолізу та клінічні прояви захворювання. Виділяють різні серологічні форми автоімунних гемолітичних анемій: з неповними тепловими аглютинінами; з тепловими гемолізінами; з повними холододовими аглютинінами; з двофазними гемолізінами. Кожна з цих форм має деякі особливості в клінічній картині, перебігу і серологічній діагностиці. Анемії, обумовлені серологічними комбінаціями антиеритроцитних антитіл, за нашими спостереженнями, протікають більш важко, частіше закінчуються летально, тому точна серологічна ідентифікація з наступною характеристикою антитіл є надзвичайно важливим етапом діагностики.

Висновок. Сучасні уявлення про спектр антиеритроцитних антитіл підкреслюють необхідність не тільки їх виявлення, але й визначення типу, форми, належності до відповідного класу, підкласу, специфічності, титру, що

дозволить раціонально спрямувати лабораторні дослідження і цим підвищити ефективність діагностики і лікування імунних гемолітичних анемій.

Ключові слова: імунний гемоліз, антиеритроцитні антитіла, анемія, серологічні форми антитіл

Abstract

HEMOLYSIS: ORDER OF RESEARCH AND CLINICAL SIGNIFICANCE OF ANTIERYTHROCYTE ANTIBODIES

R.P. PAVLYUK, G.A. MYRONENKO

SI "Institute of Haematology and Transfusiology of NAMS of Ukraine", Kyiv

Aim. The purpose was to draw attention to the need for comprehensive medical characteristics and determination of pathognomonic significance of identified antierythrocyte antibodies in hemolysis, which are not always of autoimmune origin or of clinical significance.

Material and Methods. The article presents our own observations and literature data on the mechanisms of destruction of red blood cells; clinical manifestations of immune hemolysis; and the role of complement and serological features of antierythrocyte antibodies in the diagnosis of immune hemolytic anemia.

Results and Discussion. The typical reasons for sending blood to study antierythrocyte antibodies are low hemoglobin concentration; a suspected blood group incompatibility in pregnancy and/or elevated indirect bilirubin and free plasma hemoglobin; a decrease of haptoglobin level; ineffective blood transfusion and complications of blood transfusion; hemolytic disease of the newborn. For identification of direction and volume of research, manifestations of pathology and processes occurring in the patient's red blood cells during cytolysis should be considered. The basic mechanisms of immune destruction and elimination of erythrocytes are: the complement-dependent hemolysis (occurring intravascularly); the macrophage-mediated phagocytosis and sequestration in the spleen (implemented extravascularly). An additional method of elimination of red blood cells loaded with antierythrocyte antibodies from the bloodstream is the phenomenon of the antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC). The complement system has a significant role in the antibody-dependent hemolysis. The degree of hemolysis and features of the clinical manifestations of the disease depend on pathogenesis. There are different serological forms of

autoimmune hemolytic anemia: with warm-active agglutinins; cold-active agglutinins; mixed cold- and warm-active antibodies; hemolysins. Each of these forms has some features in the clinical picture, the course and serological diagnosis. The anemia caused by serological combinations of antibodies is more severe, and often fatal; therefore, accurate identification of serum antibodies with the following antibody characteristic is an extremely important stage of diagnosis. Conclusion. Modern ideas about the range of antierythrocyte antibodies stress the need not only for their identification, but also for determining their type and form, their belonging to an appropriate class and subclass, their specificity and titer. This will efficiently direct laboratory research and improve the efficiency of diagnosis and treatment of immune hemolytic anemia.

Key words: immune hemolysis, antierythrocyte antibodies, anemia, serological form of antibodies

Дослідження крові пацієнта на антиеритроцитні антитіла (АТ) є одними з найчастіших, які проводяться за направленням лікарів різного профілю при обстеженні хворих з низьким рівнем гемоглобіну та еритроцитів. Враховуючи, що анемія може бути як самостійною патологією, так і супроводжувати цілу низку захворювань [1, 2], а виявлені АТ не завжди є ознакою її автоімунного походження або мають клінічне значення, вважаємо за доцільне дати їм всебічну характеристику, встановити патогномонічне значення згідно сучасним досягненням ізсерології і розглянути порядок їх дослідження [3].

Приводом для визначення антиеритроцитних АТ є, як правило, низький рівень гемоглобіну, підозра на імуноконфліктну вагітність та/або збільшення непрямого білірубину і вільного гемоглобіну (Hb) у сироватці крові, зменшення вмісту гаптоглобіну, а також неефективні трансфузії еритроцитвмісних середовищ, посттрансфузійні ускладнення (ПТУ) та анемія новонароджених. Для визначення напрямку і об'єму дослідження, необхідно враховувати прояви патології і процеси, які відбуваються в організмі хворого при цитолізі еритроцитів.

Основними механізмами імунного руйнування та елімінації еритроцитів є: комплемент-залежний гемоліз, який відбувається внутрішньосудинно [4, 5], і макрофагально-опосередкований фагоцитоз та секвестрація в селезінці, що реалізуються позасудинно. Додатковим способом елімінації із кров'яного русла еритроцитів, навантажених антиеритроцитними АТ, є феномен АТ-залежної клітинної опосередкованої ци-

тотоксичності (АЗКОЦ) [6, 7, 8].

При внутрішньосудинному гемолізі еритроцити руйнуються безпосередньо у циркулюючій крові. Його характерними ознаками є підвищений вміст у плазмі крові вільного Hb, а у сечі - гемосидерину. Ступінь гемоглобінемії залежить від інтенсивності розпаду еритроцитів і вмісту гаптоглобіну - білка, який зв'язує частину Hb і утворює комплекс гемоглобін-гаптоглобін, що не проходить крізь клубочковий фільтр нирки. Вільний Hb плазми крові легко проходить крізь нього і попадає у сечу, обумовлюючи гемоглобінурію [9, 10].

Внутрішньосудинний гемоліз спостерігається переважно при таких патологіях, як пароксизмальна нічна гемоглобінурія (ПНГ) і гемолітична анемія (ГА), зумовлена недостатністю ферменту глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, отруєнням гемолітичними отрутами, хворобою холодних аглютининів (ХХА), а також при автоімунній гемолітичній анемії (АІГА) з тепловими гемолізинами.

Для діагностики і уточнення походження внутрішньосудинного гемолізу визначають вміст вільного гемоглобіну у плазмі крові, теплових гемолізинів, ферменту глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, ПНГ-подібні клони еритроцитів (експресія на мембрані еритроцитів антигенів CD55 та CD59). Іноді застосовуються сахарозна проба і кислотна проба Хема, але на теперішній час вони вважаються малоінформативними.

Позасудинний (внутрішньоклітинний) гемоліз відбувається всередині клітин системи фагоцитуючих макрофагів, головним чином у селезінці, а також у печінці та кістковому мозку. Спостерігається, як правило, при автоімунних та вроджених ГА, супроводжується збільшенням розмірів селезінки та печінки. Методи діагностики внутрішньоклітинного гемолізу направлені на виявлення успадкованих вад мембрани еритроцитів, порушення синтезу гемоглобіну або імунного процесу. До них можна віднести осмотичну резистентність еритроцитів, що характеризує стійкість еритроцитів до гіпотонічних розчинів хлориду натрію, пряму та непряму проби Кумбса, що виявляють авто- і алоімунні АТ.

В АТ-залежному гемолізі значну роль відіграє система комплементу. Основним місцем деструкції еритроцитів за відсутності на їх по-

верхні компонентів комплементу є селезінка. У випадку сенсibiliзації еритроцитів комплементом їх руйнування відбувається переважно в печінці [4, 11]. Так, еритроцити, на яких окрім імуноглобулінів (Ig) є фіксований комплемент, скоріше видаляються з кровоплину, оскільки у цьому процесі додатково задіяні макрофаги не тільки селезінки, але і печінки. Такі особливості патогенезу зумовлюють ступінь гемолізу та особливості клінічних проявів гемолітичної анемії (ГА) [4, 9, 10]. Зазначені механізми гемолізу реалізуються як при набутих, так і спадкових ГА, і характеризуються підвищеним внутрішньоклітинним або внутрішньосудинним руйнуванням еритроцитів.

Імунні ГА об'єднують велику кількість гетерогенних захворювань, спільним для яких є наявність АТ, що поділяються на ізоімунні і автоімунні. Ізоімунні АТ притаманні ГА новонароджених, зумовленої несумісністю за системами АВ0 і резус між матір'ю і плодом, та посттрансфузійним ГА.

При АГА відбувається зрив імунологічної толерантності до незмінених антигенів власних еритроцитів, іноді до антигенів, наприклад, мікроорганізмів, які мають подібні з еритроцитами детермінанти. АТ до подібних антигенів здатні вступати у взаємодію і з незміненими антигенами власних еритроцитів. За клінічним перебігом виділяють гострі та хронічні варіанти АГА, а серологічний принцип диференціації дозволяє виділити наступні форми: анемії з неповними тепловими аглютинінами; анемії з тепловими гемолізінами; анемії з повними холодowymi аглютинінами; анемії з двофазними гемолізінами; анемії з аглютинінами проти нормобластів кісткового мозку.

Кожна з цих форм має деякі особливості в клінічній картині, перебігу і серологічній діагностиці. Найбільш часто зустрічаються анемії з неповними тепловими аглютинінами, які становлять 70-80% усіх АГА [12, 13, 14]. Серед обстежених нами хворих на набуту імунну ГА неповні автоімунні теплові аглютиніни виявлялись в 30% випадків.

Розрізняють симптоматичні і ідіопатичні АГА. Симптоматичні форми виникають на тлі різних захворювань, що супроводжуються порушеннями в імунокомпетентній системі. Найбільш часто вони зустрічаються при хронічній лімфо-

лейкемії, лімфогранулематозі, гострій лейкемії, системному червоному вовчаку, ревматоїдному артриті, хронічних гепатитах і цирозах печінки [11, 12, 15, 16]. У тих випадках, коли появу авто-АТ не вдається зв'язати з яким-небудь патологічним процесом, говорять про ідіопатичну форму, яка становить близько 50% усіх АГА.

Виділяють ще трансімунні ГА, котрі зумовлені АТ матері, що страждає на АГА, вони проникають через плаценту до плоду та направлені проти спільного еритроцитного антигену, і гетероімунні (гаптенові) ГА, які пов'язані з синтезом АТ проти еритроцитів зі зміненою під впливом лікарських засобів чи інфекцій антигенною структурою - антиеритроцитні АТ виробляються до нового антигену, що утворюється в результаті фіксації на поверхні еритроцитів ліків, які отримує хворий, або інфекційних агентів [17, 18]. Так, відомі вторинні АГА внаслідок мікоплазмених і пневмококових інфекцій, а також інфекцій, спричинених вірусом Епштейна-Барр [19]. За останні десятиліття прослідковується зростання частки АГА, як вторинного захворювання, з 22 до 80%. Зокрема, це пов'язано із вдосконаленням діагностики основної нозології.

При алоімунних та автоімунних процесах відповідні АТ циркулюють у кров'яному руслі, адсорбуються на еритроцитах, зв'язуються з антигенами мембрани і ініціюють їх руйнацію. Цей механізм залежить від комплексу чинників: антигенної структури мембрани, концентрації і типу АТ, температурного оптимуму їх дії, специфічності Ig, залучення системи комплементу.

Різноманіття антиеритроцитних АТ, які можуть викликати деструкцію еритроцитів, способи їх визначення та диференціювання представлені в узагальненій нами таблиці, що, на наш погляд, допоможе лікарям-лаборантам при діагностиці гемолітичних процесів, а клініцистам - у трактовці отриманих результатів.

"Золотим" стандартом виявлення АТ у всьому світі вважається реакція непрямиго (НАГТ) і прямиго (ПАГТ) антиглобулінового тесту. У першому випадку визначають АТ, що циркулюють у кров'яному руслі, у другому - ті, що вкривають поверхню еритроцита. В якості антигену, який зв'язує АТ, використовують стандартизовані донорські еритроцити, підібрані таким чином, щоб могли виявити абсолютну більшість

Серологічні варіанти імунних антитіл при гемолізі

Імунні антитіла									
Теплові аглютиніни			Холодові аглютиніни		Гемолізینی				
Ізоімунні			Клінічно значимі		Ізоімунні	Автоімунні			
					Імунні гемолізینی при АВ0-конфлікті	Кислотні монофазні	Дифазні ера	Бифазні Донгата-Данштейн	
Повні		Неповні	ПАГТ поліспецифічний (IgG+C3d)	Титр холодних IgM у реакції сольової аглютинації від 1:64 та більше за температури 4 °C		Температурний діапазон виявлення холодних IgM у реакції сольової аглютинації за температури 20±12°C та більше (будь-який титр)		Титр IgG у відповідній реакції	IgG у відповідній реакції і C3d та/або C3c у ПАГТ
Титр IgM у відповідній реакції	специфічність	НАГТ поліспецифічний (IgG+C3d)	ПАГТ моноспецифічний (IgG, IgA, IgM, C3c, C3d)	IgG у відповідній реакції і C3d та/або C3c у ПАГТ		специфічність			
		НАГТ моноспецифічний (IgG, IgA, IgM, C3c, C3d)	підклас IgG1/IgG3,						
		титр	специфічність	підклас IgG1/IgG3					

відомих клінічно значущих ізоімунних антиеритроцитних АТ, та/або власні еритроцити пацієнта - для виявлення автоімунних АТ. Ізоімунні АТ завжди досліджуються у сироватці пацієнтів при підозрі на ПТУ або перед трансфузією еритроцитвмісних середовищ, у вагітних - для виявлення сенсibilізації і прогнозу виникнення гемолітичної хвороби плоду (ГХП) або для вирішення питання про резус-профілактику алоімунізації, у новонароджених - для діагностики (ГХН). З метою виявлення на поверхні еритроцитів Ig та/або компонентів комплементу, необхідних для підтвердження імунного характеру гемолізу, проводиться ПАГТ (пряма проба Кумбса) [20]. У невеликій кількості IgG і компоненти комплементу присутні на всіх еритроцитах. Так, на одному еритроциті здорової людини може бути від 5 до 90 молекул IgG і 5-97 (можливо до 500 і більше) молекул C3d компоненту комплементу. За даними [21] у 15% пацієнтів лікарень та 0,007-0,1% донорів крові виявляється позитивний ПАГТ без проявів імуноопосередкованої деструкції еритроцитів, тобто позитивний ПАГТ не обов'язково означає, що еритроцити даної особи мають скорочений термін життя. Для оцінки значимості серологічного тесту необхідно знати акушерський та трансфузійний анамнез пацієнта, які ліки за останній час приймав або приймає хворий, чи є прояви набутої або ГА невстановленого походження. Сам серологічний тест є лише тоді інформативним, коли враховано комплекс клініч-

них даних, показники білірубину, гаптоглобіну, Hb, гематокриту, кількість еритроцитів та ретикулоцитів тощо.

Постановка ПАГТ проводиться у два етапи. На першому - використовують поліспецифічний антиглобуліновий реагент (АГР), що містить антитіла IgG та C3d компоненту комплементу, на другому - моноспецифічні АГР, що дозволяють визначити, якими саме білками вкриті еритроцити: тільки IgG або лише компонентами комплементу, або тими чи іншими молекулами одночасно. Приблизно в 1% випадків поліспецифічний АГР може взаємодіяти з еритроцитами, що вкриті не IgG і/або C3d, а іншими компонентами комплементу або IgA, IgM, що можна встановити при подальшому дослідженні з відповідними моноспецифічними АГР. При позитивному ПАГТ за рахунок IgG для оцінки ступеня ризику розвитку гемолізу визначають, до якого із підкласів IgG відносяться виявлені АТ і яка щільність покриття ними еритроцитів. Для активації гемолізу АТ підкласу IgG3 необхідно менше, ніж IgG1 через те, що IgG3 є більш агресивними, ніж IgG1 - для активації фагоцитозу еритроцит має бути вкритий 1000-4000 молекулами IgG1 або 135-500 молекулами IgG3. Навпаки, АТ підкласу IgG2 і, особливо, IgG4 дуже слабо або взагалі не призводять до деструкції еритроцитів. Через цю різницю функції АТ, що відносяться до різних підкласів IgG, необхідно проводити їхню детальну диференціацію [22]. ПАГТ дає позитивний ре-

зультат, якщо на одному еритроциті міститься 1000 молекул IgG1 і/або 125 молекул IgG3. Кількість АТ, яка необхідна для гемолізу *in vivo*, може бути значно меншою, ніж потрібна для виявлення антитіл *in vitro* у ПАГТ [23]. Тому при наявності клінічних ознак ГХН іноді ПАГТ буває негативним. При виявленні АТ у НАГТ необхідно встановити їх титр, належність до певного класу Ig, підкласу і при наявності панелі стандартних еритроцитів для їх ідентифікації визначити специфічність. Відомо, що АТ, в залежності від їх специфічної направленості, поводять себе по різному. Так, анти-D та інші АТ системи резус, як правило, не призводять до активації комплекменту і спричиняють позасудинний гемоліз, тоді як для АТ системи АВ0 характерний внутрішньосудинний гемоліз з активацією системи комплекменту [22, 24]. За нашими даними частота сенсibiliзації населення Центрально-Української географічної зони з центром в м. Києві антигенами системи АВ0 складає 2,94% і 11,5% антигенами інших еритроцитних систем (частота виявлення антитіл за специфічністю має таку послідовність D > C > c > E > K, Le^a > Cw, Fy^a).

При набутих гемолітичних станах аутоімунної природи у хворих виявлялись антиеритроцитні АТ різних серологічних варіантів: теплові, холодкові аглютиніни або гемолізینی, найчастіше (52%) - неповні теплові аутоімунні аглютиніни. В анамнезі таких пацієнтів часто зустрічались інфекції, інтоксикації, лімфопроліферативні захворювання. Як правило, виявлені у хворих АТ були представлені одним класом імуноглобулінів - IgG (IgG1 та/або IgG3), вкрай рідко (3 випадки) у вигляді комбінації IgG, IgA, IgM, що мало несприятливий прогноз - усі пацієнти померли. Тому, хворим з підозрою на АІГА та позитивною пробєю Кумбса інтенсивністю 3+/4+ бажано визначати підклас АТ, а при можливості - щільність опсонізації IgG1 та/або IgG3 еритроцитної мембрани (табл.). Таке дообстеження дозволить встановити ступінь ризику гемолізу (високий або помірний). Низька інтенсивність проби Кумбса (1+/2+) або її комплементарний тип за рахунок компонентів комплекменту C3d та/або C3c - відповідають мінімальному ступеню ризику гемолізу.

Близько чверті випадків аутоімунного гемолізу зумовлено холодковими аглютинінами,

оцінка їх клінічної значимості вимагає додаткових досліджень. У обстежених нами хворих виявлялись як клінічно незначимі АТ, що характеризувались невисоким титром (1:2 - 1:8) при 4°C за негативної прямої проби Кумбса і мінімальних лабораторних ознак гемолізу, так і "патологічні" АТ, які мали високі титри (від 1:64 до 1:4096) при 4°C і були активні при температурі вище 12°C (до 32°C), проба Кумбса, як правило, була позитивна і мала комплементарний тип реакції. Слід зазначити, що більш значущим для інтенсивності гемолізу, спровокованим холодковими аглютинінами, є температурна активність АТ. Температурний діапазон від 12°C до 32°C забезпечує оптимальні умови для одночасної фіксації АТ та активації системи комплекменту і, як наслідок, ефектної реалізації внутрішньосудинного механізму гемолізу. Приналежність АТ до класу IgM дозволяє системі комплекменту ефективно активуватися за класичним шляхом, навіть при відносно невеликій їх кількості [1, 25].

Наявність холодкових аглютинінів не виключає наявності інших серологічних варіантів АТ (переважно теплових аглютинінів класів IgG). Так, за нашими спостереженнями і даними інших авторів [26, 27] найбільш виражені клініко-лабораторні ознаки гемолітичного процесу при таманні саме комбінованому серологічного варіанту ГА, коли має місце поєднання внутрішньота позасудинного гемолізу. Якщо аутоімунний гемоліз був ускладненням медикаментозної терапії або інфекційних захворювань, то у хворих виявлялись транзиторні холодкові аутоаглютиніни у вузькому температурному діапазоні дії. ХХА у таких випадках носила епізодичний характер та, незважаючи на виражену клінічну симптоматику гемолізу, закінчувалася швидким одужанням.

Така детальна імуногематологічна характеристика виявлених холодкових аглютинінів і інтерпретація їх клінічного значення, на жаль, в Україні практично не проводиться, а це могло б сприяти кращому розумінню перебігу патологічного процесу і оптимальному вибору лікувальної тактики щодо таких пацієнтів [4, 28].

Слід відмітити, що близько 5-10% АІГА спричиняються гемолізінами: монофазними тепловими, холодковими, а також двофазними (біфазними) Доната-Ландштейнера антиеритроцитними АТ. Пошук АТ проводиться у специ-

фічних реакціях, які виконуються у вузькопрофільних закладах. АТ, які викликають внутрішньосудинний гемоліз (холодові аглютиніни та гемолізینی) активують комплемент, тому ПАТ при цьому часто позитивний, але виключно за рахунок С3с та С3d комплементу. Такі випадки потребують дообстеження для встановлення серологічного варіанту АТ.

Необхідно наголосити, що при автоімунних гемолітичних процесах іноді зустрічаються серологічні комбінації АТ (холодові, теплові аглютиніни та/або холодові, теплові гемолізینی), такі анемії протікають більш важко, частіше закінчуються летально, тому точна серологічна ідентифікація з наступною характеристикою АТ є надзвичайно важливим етапом діагностики.

У випадках імуноконфліктної вагітності та ГХН за системою АВ0 потрібно проводити пошук як аглютинінових, так і гемолізинових форм анти-А та анти-В алоімунних АТ (табл.), які є різними за своєю природою та не виключають одна одну. Недотримання цього принципу, за нашими спостереженнями, є поширеною помилкою в акушерсько-гінекологічній практиці.

У наведеній нижче таблиці представлений перелік АТ, які можуть підтвердити автоімунний чи ізоімунний характер гемолітичного процесу. Вважаємо, що сучасні уявлення про спектр АТ, які можуть бути індукторами імунного гемолізу, підкреслюють необхідність не тільки їх виявлення, а й визначення типу, форми, належності до відповідного класу, підкласу, специфічності, титру, що дозволить раціонально спрямувати лабораторні дослідження і цим підвищити ефективність діагностики і лікування ГА.

Підсумовуючи все вищенаведене, підкреслюємо, що позитивна проба Кумбса, як ознака імунного гемолізу, є лише первинною, скринінговою ланкою діагностики імунного гемолітичного процесу. Порядок дослідження антиеритроцитних антитіл повинен зумовлюватися діагнозом пацієнта. Так, при дослідженні ізоімунних антитіл, а їх визначають, як правило, у вагітних, пацієнтів з підозрою на ПТУ, новонароджених з ГХН, необхідно дослідити теплові аглютиніни IgM та IgG, їх специфічність, титр, належність до підкласів IgG1/ IgG3. Для оцінки ризику гемолізу при виявленні теплових АТ класу IgG за інтенсивності прямої реакції Кумбса (3+ і 4+)

необхідно встановити щільність АТ на поверхні еритроцитів. У вагітних, як правило, 0(I) групи крові, визначають імунні гемолізینی та аглютиніни, їх специфічність і титр. При автоімунних гемолітичних процесах у хворих з ГА або з іншою патологією з ознаками гемолізу для виявлення серологічних комбінацій АТ досліджують автоімунні теплові (з наступним встановленням належності АТ до відповідного класу і підкласу) і холодові аглютиніни, а також автоімунні кислотні монофазні і біфазні гемолізینی. При виявленні холодкових аглютинінів для визначення їх клінічної значимості необхідно встановити титр та температурний оптимум дії.

Література

1. Greer JP, Arber DA., Glader B, List AF, Means RT, Paraskevas F, Rodgers GM [editors]: Wintrobe's clinical hematology. LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, Philadelphia 2014, 13th ed, 746-808.
2. Guseva S.A., Goncharov Ya.P. Autoimmune hemolytic anemia: diagnosis and treatment (lecture). Ukrainian Journal of Hematology and Transfusiology 2012; 1: 34-50. Ukrainian (Гусева С.А., Гончаров Я.П. Аутоиммунная гемолитическая анемия: диагностика и лечение (лекция). Український журнал гематології та трансфузіології 2012; 1: 34-50).
3. Lai M, Leone G, Landolfi R: Autoimmune hemolytic anemia with gel-based immunohematology tests. Am J Clin Pathol. 2013, 139(4), 457-463.
4. Gaydukova S.N., Vydyborets S.V., Sivak L.A., Pyasetska N.M. Anemias. К.: Три крапки; 2005. - 312 p. Ukrainian (Гайдукова С. М., Видиборець С. В., Сивак Л. А., Пясецька Н. М. Анемії. К.: Три крапки; 2005. - 312 с.).
5. Guseva S.A., Goncharov Ya.P. Autoimmune hemolytic anemia: diagnosis and treatment (lecture). Ukrainskiy zhurnal hematologii ta transfuziologii 2012; 1: 34-50. Ukrainian (Гусева С.А., Гончаров Я.П. Аутоиммунная гемолитическая анемия: диагностика и лечение (лекция). Український журнал гематології та трансфузіології 2012; 1: 34-50).
6. Hauswirth AW, Skrabs C, Schutzinger C, Gaiger A, Lechner K, Jager U: Autoimmune hemolytic anemias, Evans' syndromes, and pure red cell aplasia in non-Hodgkin lymphomas. Leukemia and Lymphoma 2007, 48(6), 1139-1149.
7. Svensson L, Rydberg L, de Mattos LC, Henry SM: Blood group A(1) and A(2) revisited: an immunochemical analysis. Vox Sang. 2009, 96, 1, 56-61.
8. Gromashevskaya L.L. Metabolic intoxication in the pathogenesis and diagnosis of pathological processes. Laboratorna diagnostyka 2006; 1(35): 3-13. Ukrainian (Громашевська Л.Л. Метаболічна інтоксикація у патогенезі та діагностиці патологічних процесів. Лабораторна діагностика 2006; 1(35): 3-13).
9. Vorobyov A.I., Andreev Yu., Barkagan Z.S., Bulanov A. Yu. Guide to Hematology. 3rd edition. Volume 3. М.: Nyumed; 2005. - 416 p. Russian (Воробьев А.И., Андреев Ю.Н., Баркаган З.С., Буланов А.Ю. Руководство по гематологии.

- 3-е издание. Том 3. М.: Ньюмед; 2005. - 416 с.).
10. Alekseev N.A. Anemias. SPb.: Gipokrat; 2004. - 510 p. Russian (Алексеев Н. А. Анемии. СПб.: Гиппократ; 2004. - 510 с.).
 11. Kirpichonok L.N. Laboratory diagnosis of autoimmune diseases. *Meditsinskie novosti* 2006; 5: 32-41. Belarus (Кирпичёнок Л. Н. Лабораторная диагностика аутоиммунных заболеваний. Медицинские новости 2006; 5: 32-41).
 12. Mayo MJ: Extrahepatic manifestations of hepatitis C infection. *Am J Med Sci* 2003, 325(3), 135-148.
 13. Michel M: Characteristics of warm autoimmune hemolytic anemia and Evans syndrome in adults. *Presse Med* 2008, 37(9), 1309-1318.
 14. Arndt PA, Leger RM, Garratty G: Serologic immunoglobulin M warm autoantibodies. *Transfusion* 2009, 49(2), 235-242.
 15. Agnello V, De Rosa FG: Extrahepatic disease manifestations of HCV infection: some current issues. *J Hepatol* 2004, 40(2), 341-352.
 16. Borthakur G, O'Brien S, Wierda WG, Thomas DA, Cortes JE, Giles FJ, Kantarjian HM, Lerner S, Keating MJ: Immune anaemias in patients with chronic lymphocytic leukaemia treated with fludarabine, cyclophosphamide and rituximab: incidence and predictors. *Br J Haematol* 2007, 136(6), 800-805.
 17. Srinivasan R: Autoimmune hemolytic anemia in treatment-naïve chronic hepatitis C infection. *J Clin Gastroenterol*, 2001, 32(3), 245-247.
 18. Chiao EY, Engels EA, Kramer JR, Pietz K, Henderson L, Giordano TP, Landgren O: Risk of immune thrombocytopenic purpura and autoimmune hemolytic anemia among 120 908 US veterans with hepatitis C virus. *Arch Intern Med* 2009, 169(4), 357-363.
 19. Agnello V, De Rosa FG: Extrahepatic disease manifestations of HCV infection: some current issues. *J Hepatol* 2004, 40(2), 341-352.
 20. Pavlyuk R.P. Value of the direct antiglobulin test in the diagnosis of hemolytic processes. *Hematologiya i pereyvannia krvi: mizhvidomchy zbirnyk* 2012; 36: 205-210. Ukrainian (Павлюк Р.П. Значення прямого антиглобулінового тесту в діагностиці гемолітичних процесів. Гематологія і переливання крові: міжвідомчий збірник 2012; 36: 205-210).
 21. Technical Manual of the American Association of Blood Banks. 12 ed.: transl. from English (editor Yu.N. Tokarev). Milan: Yevropeiskaya shkola transfuzionnoyi meditsyny; 2000. - 1056 p. Russian (Техническое руководство американской ассоциации банков крови. 12-е издание: пер. с англ. (редактор Ю.Н.Токарев). Милан: Европейская школа трансфузионной медицины: 2000. - 1056 с.).
 22. Mineeva N.V. Human blood groups. Basics of immunohaematology. SPb.: A-print; 2010. - 188 p. Russian (Минеева Н. В. Группы крови человека. Основы иммуногематологии. СПб.: А-принт, 2010. - 188 с.).
 23. Toy PT, Chin CA, Reid ME, Burns MA: Factors associated with a positive direct antiglobulin tests in pretransfusion patients: A case control study. *Vox Sang* 1988, 49(3), 215-22.
 24. Pavlyuk R.P. Immunological safety of blood transfusions. In.: Perekhrestenko P.M., L.M. Isakova, G.M. Dizik, R.P. Pavlyuk, A.V. Starikov. *Blood transfusion. Kyiv: Zdorovya*; 2008. pp. 168-182. Ukrainian (Павлюк Р.П. Імунологічна безпека трансфузій. В кн.: П.М. Перехрестенко, Л.М. Исакова, Г.М. Дзизик, Р.П.Павлюк, А.В. Стариков. Переливание крови. К.: Здоров'я; 2008. с. 168-182).
 25. Lai M, De Stefano V, Landolfi R: Haemoglobin levels in autoimmune haemolytic anaemias at diagnosis: relationship with immunoproteins on red blood cells. *Immunol Res* 2014, 60(1), 127-131.
 26. Myronenko H.A. Immunohaematological diagnostics of cold agglutinins disease. *Zbirnyk naukovykh prats spivrobotnykiv NMAPO im. P.L.Shupyka* 2014; 23(2): 522-527. Ukrainian (Мироненко Г.А. Імуногематологічна діагностика хвороби холодкових аглютининів. Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л.Шупика 2014; 23(2): 522-527).
 27. Chaudhary RK, Sudipta Sekhar Das: Autoimmune hemolytic anemia: From lab to bedside. *Asian J Transfus Sci* 2014, 8(1), 5-12.
 28. Swiecicki PL, Hegerova LT, Gertz MA: Cold agglutinin disease. *Blood* 2013, 122(7), 1114-1121.