



Гольдинберг Б.М.✉, Козлякова О.В., Климович О.В., Автухова Т.Е., Дикая Т.В.,
Евстигнеев И.Н., Заяц И.А., Рак М.А.

б-я городская клиническая больница, Минск, Беларусь

Конфликтная беременность по антигену E системы Rh

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования – Гольдинберг Б.М., Климович О.В., Козлякова О.В.; сбор и обработка материала – Гольдинберг Б.М.; анализ и интерпретация данных – все авторы; подготовка рукописи – все авторы; окончательное одобрение рукописи – Климович О.В.

Подана: 22.02.2022

Принята: 14.04.2022

Контакты: 6gkb-trfz@mcct.by

Резюме

В последние годы был выполнен ряд работ, которые доказали высокую иммуногенность антигена E у реципиентов и его способность вызывать тяжелую анемию у плода/новорожденного, требующую инвазивного постнатального лечения. В Беларуси такие иммуногематологические исследования ранее не проводились.

Цель. Определить клиническую значимость аллосенсибилизации матери по антигену RhE в развитии гемолитической болезни новорожденного.

Материалы и методы. В лаборатории акушерской иммуногематологии Городского центра трансфузиологии исследованы образцы периферической крови 22 775 беременных женщин, ставших на учет по беременности в женских консультациях Минска в 2020 г. Проведены клиническое и лабораторное обследование в раннем постнатальном периоде 15 детей, рожденных от матерей, аллосенсибилизированных по антигену RhE. Статистический анализ материала проведен с использованием программы по статистике для IBM PC «Биостат».

Результаты. Аллосенсибилизация по антигену D системы Rh выявлена у 84 (0,369%) обследованных пациенток, в том числе: из 18 921 с Rh-положительной принадлежностью крови – у 22 (0,116%), из 3854 с Rh-отрицательной принадлежностью крови – у 62 (1,609%). Установлено, что при разнотипной принадлежности по системе ABO гемолитическая болезнь новорожденного не наблюдалась, в то время как при однотипной принадлежности она проявилась у трех младенцев из семи (42,9%).

Выводы. Установлена связь возникновения конфликтной беременности по антигену RhE с числом беременностей у матери, совместимостью крови матери и плода/новорожденного по системе ABO. В 20% случаев аллоиммунизации по антигену RhE у новорожденных развивается гемолитическая анемия при титре анти-E антител 1:32 и выше и наличии субклассов IgG₁ и/или IgG₃ в высоких значениях.

Ключевые слова: система Rh, антиген E, беременность, аллоиммунизация, гемолитическая болезнь новорожденного



Goldinberg B., Kozlyakova O., Klimovich O., Autukhova T., Dikaya T., Evstigneev I.,
Zayats I., Rak M.
6th City Clinical Hospital, Minsk, Belarus

Conflict Pregnancy by Antigen E of the Rh System

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: concept and design of research – Goldinberg B., Klimovich O., Kozlyakova O.; collection and processing of material – Goldinberg B.; analysis and interpretation of data – all authors; preparation of manuscript – all authors; final approval of manuscript – Klimovich O.

Submitted: 22.02.2022

Accepted: 14.04.2022

Contacts: 6gkb-trfz@mcct.by

Abstract

In recent years a number of studies have been performed that prove the high immunogenicity of antigen E in recipients and its ability to cause the fetus'/newborn's severe anemia requiring invasive postnatal treatment. Such immunohematological studies have not been conducted in Belarus.

Purpose. To determine the clinical significance of maternal allosensitization by Rho antigen in the development of hemolytic disease of the newborn.

Materials and methods. In the laboratory of obstetric immunohematology in Transfusiology City Center, peripheral blood samples of 22,775 pregnant women registered for pregnancy in women's consultations in Minsk in 2020 were examined. Clinical and laboratory examinations were carried out in the early postnatal period of 15 children born from mothers allosensitized by antigen RhE. The statistical analysis of the material was carried out using the statistics program for IBM PC "Biostat".

Results. Allosensitization by antigen D of the Rh system was detected in 84 (0.369%) of the examined patients, including: out of 18921 with Rh-positive blood affiliation – in 22 (0.116%), out of 3854 with Rh-negative blood affiliation – in 62 (1.609%). It was determined that hemolytic disease of the newborn (GBN) was not observed with different group affiliation according to the ABO system while belonging to the same group it manifested in three out of seven infants (42.9%).

Conclusions. It was established the relationship of the occurrence of conflict pregnancy by Rho antigen and the number of mother's pregnancies, the compatibility of the mother's blood and fetus' / newborn's blood according to the ABO system. In 20% of cases of alloimmunization by the RhE antigen, the newborns develop hemolytic anemia with a titer of anti-E antibodies 1:32 and higher and the presence of IgG1 and/or IgG3 subclasses in high values.

Keywords: Rh system, antigen E, pregnancy, alloimmunization, hemolytic disease of the newborn

■ ВВЕДЕНИЕ

Антиген Е системы Rh в 1943 г. открыли A.S. Winer, E.B. Sonn и независимо от них в этом же году R.R. Race [1]. По химической структуре антиген Е является негликолизированным полипептидом.

В последние годы был выполнен ряд работ, которые доказали высокую иммуногенность антигена Е у реципиентов [2] и его способность вызывать тяжелую анемию у плода/новорожденного, требующую инвазивного постнатального лечения [3].

Проведенными в Беларуси в 2017–2019 гг. иммуногематологическими исследованиями определена шкала приоритета трансфузионно значимых антигенов эритроцитов: D>E>K>M>C^w>c>Fy^a>C>Jk^a, Le^a, Le^b, S, e, P₁, Lu^a, Fy^b. Индекс аллоиммунизации населения Республики Беларусь составил 0,4% [4–6]. Женщина может быть sensibilizirovana по системе Rh до наступления беременности в следующих случаях: переливание эритроцитов донора без учета антигенной совместимости, наличие в анамнезе абортов или прерванной внематочной беременности, оперативное родоразрешение (кесарево сечение, вхождение в полость матки и другое) [3, 7].

Во время беременности высокий риск аллоиммунизации наблюдается при осложненном ее течении: угроза прерывания беременности, преэклампсия или эклампсия, отслойка хориона или плаценты, плацентарная недостаточность [3].

Вопрос о связи титра антиэритроцитных антител у матери с тяжестью гемолитической болезни у плода является предметом дискуссии до настоящего времени. По наличию и уровню титра иммунных антител в крови женщины можно установить характер антигенных взаимосвязей матери и плода. Однако однократное исследование его уровня недостаточно точно отражает вероятность наличия гемолитической болезни у плода. Беременная женщина, имеющая титр антиэритроцитных антител 1:64, в такой же мере может иметь тяжелую степень заболевания плода, если титр будет сохраняться на прежнем уровне, как и беременная с возрастанием титра антител от 1:32 до 1:256 в этом же гестационном сроке [3]. В процессе идентификации антител крайне необходимо исследовать принадлежность антител матери к субклассам IgG и определить их концентрацию в крови беременной. Если в сыворотке крови матери присутствуют только антитела класса IgG, то интенсивность гемолиза эритроцитов у плода и новорожденного будет прямо зависеть от суммарного титра антител. Если присутствуют только антитела IgG₃, то гемолиз не будет зависеть от титра антител. Кроме того, в литературе имеются данные, что наиболее тяжелая анемия развивается у плода в том случае, если в крови матери одновременно являются IgG₁ и IgG₃ [8].

Беременным женщинам, sensibilizirovannym как к клинически значимым системам эритроцитных антигенов, так и к минорным антителам и антителам редкой специфичности, контроль титра антител проводится 1 раз в 4 недели до 38 недель беременности (согласно клиническому протоколу) [9].

Очевидно, что по мере накопления лабораторных данных требуется уточнение клинической значимости иммуногенности антигена Е для профилактики аллосенсибилизации беременных женщин, прогнозирования течения иммунологически конфликтной беременности, что соответствует требованиям инструкции, утвержденной Минздравом Республики Беларусь в 2019 г. [10].



■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить клиническую значимость аллосенсибилизации матери по антигену RhE в развитии гемолитической болезни новорожденного.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В лаборатории акушерской иммуногематологии Городского центра трансфузиологии исследованы образцы периферической крови 22 775 беременных женщин, ставших на учет по беременности в женских консультациях Минска в 2020 г. Образцы крови исследовали в день ее забора. Скрининг аллоиммунных антиэритроцитных антител проводили гелевым методом на картах ID CardLiss/Coombs (lowionic strength solution) с использованием трех образцов тест-эритроцитов O(I) группы крови фенотипов CCC^wDee, ccDEE, ccdee, содержащих в совокупности клинически значимые антигенные профили I-II-III (P₁, Le^a, Le^b, Lu^a, Lu^b, K, Kp^a, Kp^b, Jk^a, Jk^b, M, N, S, s, Fy^a, Fy^b).

Для скрининга неполных антител проводили непрямой антиглобулиновый тест гелевым методом. При положительном результате скрининга определяли специфичность антиэритроцитных антител в гелевом тесте с использованием 11-клеточной панели тест-эритроцитов O(I) группы крови резус-положительных и резус-отрицательных, содержащих до 23 клинически значимых антигенов групповых систем эритроцитов: Rh-hr (D, C, c, E, e, C^w), Kell (K, k, Kp^a, Kp^b), Duffy (Fy^a, Fy^b), Kidd (Jk^a, Jk^b), Lewis (Le^a, Le^b), P (P₁), MNS (M, N, S, s), Lutheran (Lu^a, Lu^b).

При скрининге и идентификации аллоантител применяли тест с аутоконтролем и прямой антиглобулиновый тест. В сложных случаях для исключения неспецифической реакции агглютинации проводили предварительное энзимирование стандартных эритроцитов протеолитическим ферментом бромелином с последующим применением того же метода, что и для скрининга антител.

При обнаружении эритроцитных антител определяли их принадлежность к субклассу иммуноглобулинов IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄.

Учитывалась возможность появления комплементсвязывающих антител. Если ранее скрининг и идентификацию проводили в гелевых картах с Anti-IgG, то повторное исследование – в картах Anti-IgG + комплемент (DG Gel LISS/Coombs).

Статистический анализ материала проведен с использованием программы по статистике для IBM PC «Биостат».

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Скрининг антиэритроцитных аллоантител в непрямом антиглобулиновом тесте проведен в образцах крови 22 775 женщин в декретивные сроки беременности (табл. 1).

Аллосенсибилизация по антигену D системы Rh выявлена у 84 (0,369%) обследованных пациенток, в том числе: из 18 921 с Rh-положительной принадлежностью крови – у 22 (0,116%), из 3854 с Rh-отрицательной принадлежностью крови – у 62 (1,609%). Аллосенсибилизация к антигену RhE наблюдалась у 15 пациенток, из которых 14 имели D-положительный резус-фактор. У одной беременной женщины выявлена аллосенсибилизация одновременно по антигенам RhD и RhE (0,004% от общего числа обследованных лиц) без развития ГБН.

Таблица 1
Результаты скрининга антител по системе Rh в декретивные сроки беременности
Table 1
Antibodies screening results by the Rh system in the maternity periods of pregnancy

Антиген	Число случаев выявления антител					
	Всего обследованных (n=22 775)		Rh-положительная принадлежность по антигену D (n=18 921)		Rh-отрицательная принадлежность по антигену D (n=3854)	
	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
D	44	0,193	–	–	44	1,142
E	15	0,066	14	0,074	1	0,026
DC	12	0,053	–	–	12	0,311
Cw	7	0,031	3	0,016	4	0,104
c	5	0,022	5	0,026	–	–
DE	1	0,004	–	–	1	0,026
Всего	84	0,369	22	0,116	62	1,609

Совместимость крови матери и плода/новорожденного, исключающая иммунный конфликт беременности по антигену RhE, представлена в табл. 2.

При сопоставлении совместимости групп крови по системе ABO новорожденного и его матери, сенсibilизированной к антигену RhE, установлены следующие закономерности (табл. 3).

Изучена связь образования антител RhE с ABO-принадлежностью матери и новорожденного. Установлено, что при разнотипной принадлежности по системе ABO гемолитическая болезнь новорожденного (ГБН) не наблюдалась, в то время как при однотипной принадлежности она проявилась у трех младенцев из семи (42,9%).

Установлено, что у 8 (53,3%) новорожденных этой группы гемолитическая болезнь не развилась. Титр специфических IgG на протяжении всей беременности у матерей колебался от 1:4 до 1:16, а у новорожденных прямая проба Кумбса была отрицательной. В 2 случаях причинами аллосенсибилизации (IgG₁ в низком титре) стали трансфузии донорских эритроцитов без учета совместимости по антигену RhE, в 3 случаях – беременности в данном браке, родоразрешенные кесаревым сечением.

У 4 женщин беременности на фоне титра E-антител 1:32 – 1:64 с высоким значением IgG₁ и низкой концентрацией IgG₃ завершились рождением клинически здоровых

Таблица 2
Совместимость крови матери и плода/новорожденного по антигену RhE
Table 2
Compatibility of maternal and fetal/newborn blood by RhE antigen

Частота в популяции в %	Фенотип плода/новорожденного	Фенотип матери
2	ccDEE	ccDEE
16	CcDEe	Любой
14	ccDEe	ccDEe
		ccDEE
		ccDee
		ccDee
		ccddEe



Таблица 3
Значение титра иммунных Е-антител у аллосенсибилизированных по системе Rh беременных женщин при развитии гемолитической болезни новорожденного
Table 3
The titervalue of immune E-antibodies in allosensitized pregnant women according to Rh system with the development of hemolytic disease of the newborn

Мать		Новорожденный (n=15)		Гемолитическая болезнь новорожденного		
Титр IgG	Число случаев	АВО совместим.	Прямая проба Кумбса	Абс. число	%	Гемотрансфузии
1:4	5	0	0 (-)	0	0	0
1:8	2	0	0 (-)	0	0	0
1:16	1	0	0 (-)	0	0	0
1:32	2	2	2 (+)	0	0	0
1:64	2	2	2 (++)	0	0	0
1:128	2	2	2 (+++)	2	13,3	2
1:1024	1	1	1 (+++)	1	6,7	1 (дважды)
Всего	15	7	7	3	20,0	3

детей, несмотря на то, что иммунологически у них определялась слабоположительная прямая проба Кумбса.

У 2 женщин с осложненным акушерским анамнезом и титром анти-Е антител 1:128 (высокие значения IgG_1 и низкие значения IgG_3) и у 1 женщины с титром 1:1024 (высокие значения IgG_1 и IgG_3) родились дети с ГБН, проявившейся у всех младенцев желтушно-анемической формой, которая купировалась фототерапией и трансфузиями совместимых донорских эритроцитов.

Приведем клинический случай.

У женщины К., 35 лет, в период 3-й беременности наблюдалось нарастание Е-антител, которые на 257-й день беременности достигли титра 1:1024 с высокой концентрацией IgG_1 и IgG_3 . Исходы предыдущих беременностей: 1-я – срочные роды посредством кесарева сечения в 2010 г., 2-я – неразвивающаяся беременность в 2018 г.

Через 16 дней женщина родоразрешена кесаревым сечением. Околоплодные воды были светлыми. Новорожденный мужского пола с массой тела 3440 г, ростом 52 см, окружностями головы 35 см и грудной клетки 34 см. Срок гестации – 273 дня. Состояние по шкале Апгар 8/8.

Диагноз при рождении: период ранней адаптации. Высокий риск реализации внутриутробного инфицирования (ВУИ). Морфофункциональная незрелость доношенного новорожденного (МФН).

Иммуногематологическое исследование крови: фенотип крови матери A(II) CcDee K-; фенотип ребенка – A(II) CcDEe K-, прямая проба Кумбса – положительная (++++).

При рождении состояние ребенка удовлетворительное. Через несколько часов после рождения стали нарастать кислородная зависимость, тахипноэ, гипербилирубинемия. Через 6 часов после рождения ребенок переведен в отделение анестезиологии и реанимации новорожденных детей, где начато проведение антибактериальной, инфузионной терапии и фототерапии. На фоне проводимого лечения в первые сутки отмечались небольшой почасовой прирост билирубина, стабильный уровень гемоглобина, положительная динамика по дыхательной недостаточности.

На 3–4-е сутки жизни отмечались выраженное повышение билирубина в крови и анемия, в связи с чем проведена трансфузия 60 мл донорских одноклассовых эритроцитов. После гемотрансфузии наблюдалась положительная динамика: пациент по клиническим и лабораторным показателям компенсирован, более активный, сохраняется гипербилирубинемия, уровень гемоглобина близкий к нормальному. Витальные функции не нарушены, неврологический статус адекватен, кислородная зависимость отсутствует, энтерально усваивает весь объем кормления, физиологические отправления не нарушены.

Клинический диагноз: основной – гемолитическая болезнь плода и новорожденного (аллоиммунизация по антигену E системы Rh), желтушно-анемическая форма, среднетяжелое течение (состояние после гемотрансфузии); осложнения – перинатальное нарушение функции центральной нервной системы I–II степени тяжести сочетанного генеза, острый период, синдром угнетения; сопутствующий – фетоплацентарная недостаточность, высокий риск реализации внутриутробного инфицирования, транзиторное тахипноэ новорожденного.

На 5-е сутки для дальнейшего лечения пациент переведен в педиатрическое отделение для новорожденных.

При анализе зависимости развития аллосенсибилизации по антигену RhE ($n=15$) от числа беременностей установлено следующее. Иммуны E-антитела обнаружены у 3 первобеременных женщин (20,0%). В остальных 12 случаях (80,0%) первая беременность привела к инициации иммунного ответа к антигену RhE, а каждая последующая беременность увеличивает вероятность образования антител, в том числе у 4 (30,0%) женщин число беременностей составляло 4–6. Таким образом, найдены достоверные различия в частоте выявления иммунных E-антител у женщин, имевших одну, две и более беременности ($p<0,01$).

Исследование в крови субклассов антиэритроцитных антител позволяет сформировать группу риска сенсибилизированных беременных женщин с прогнозом развития у плода/новорожденного аллоиммунного заболевания. Однако, как подтвердили наши данные, результаты лабораторных иммуногематологических исследований не отражают тяжесть патологических проявлений у плода/новорожденного, в том числе степень выраженности анемического синдрома ($p>0,05$).

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Частота встречаемости аллосенсибилизации в группе беременных женщин по антигену D системы Rh составляет 0,193%, в группе по антигену E – 0,066%, причем 93,3% женщин последней группы имели D-положительный антиген.

Совместимость супругов по антигенам системы ABO повышает вероятность появления ГБН у аллосенсибилизированной беременной женщины к антигену E системы Rh.

Наличие E-антител у беременных женщин свидетельствует о риске развития гемолитической анемии плода/новорожденного только при их титре 1:32 и выше и присутствии субклассов IgG₁ и/или IgG₃ в высоких значениях. Частота выявления иммунных антител к антигену RhE имеет достоверную статистическую связь с числом беременностей.

По нашим наблюдениям, у 3 из 15 аллосенсибилизированных женщин родились дети с ГБН-RhE, которая проявилась в виде желтушно-анемической формы среднетяжелой степени.



■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Prokop O., Gyoler V. (1991) *Human blood groups*. M.: Medicina. 512 p.
2. Vesnina N.V., Leonova L.M., Il'debeneva S.A. (2008) The integrity of determining the phenotypes of Rhesus erythrocytes during hemotransfusions for the prevention of posttransfusion complications. *Medicinskaya nauka i obrazovanie Urala*, no 1, pp. 70–71.
3. Ajlamazyan E.K., Pavlova N.G. (2012) Isoimmunization during pregnancy. Izdat. N.-L., S.-Pb., 180 p.
4. Peshnyak Zh.V., Dvorina E.M., Dashkevich E.V. (2017) Occurrence of transfusion activity of erythrocyte antigens and detection of antierythrocyte antibodies in donors, recipients, pregnant women of Minsk, Grodno and Grodno region. *Gematologiya. Transfuziologiya. Vostochnaya Evropa*, no 4, pp. 776–784.
5. Gol'dinberg B.M., Klimovich O.V., Kozlyakova O.V. (2019) The first experience of organizing a comprehensive solution of reproductive problems by transfusiological methods. *Gematologiya. Transfuziologiya. Vostochnaya Evropa*, vol. 5, no 4, pp. 547–551.
6. Peshnyak Zh.V., Dvorina E.M., Bondaruk O.N. (2019) Prevention of posttransfusion complications of hemolytic type and alloimmunization during pregnancy, taking into account the priority criteria of transfusion-significant erythrocyte antigens for the Republic of Belarus. *Gematologiya. Transfuziologiya. Vostochnaya Evropa*, vol. 5, no 3, pp. 290–298.
7. Mineeva N.V., Pashkova, I.A., Krobinec I.I. (2015) The significance of the study of alloantibodies in women during pregnancy. *Akusherstvo i ginekologiya*, vol. 6, pp. 67–70.
8. Lubenko A., Contreras M., Rodeck C.H. (1994) Transplacental IgG subclass concentration in pregnancies at risk of haemolytic disease of the newborn. *Vox Sanguinis*, vol. 67, pp. 291–298.
9. (2018) Medical supervision and medical care for women in obstetrics and gynecology: clinical protocol. MZ RB – Minsk: Professional'nye izdaniya. 208 p.
10. *Directions for use "Method of medical prevention of posttransfusion complications of hemolytic type and allosensitization during pregnancy", approved by the Ministry of Health of the Republic of Belarus on 25.04.2019, reg. No. 254-1218.*