

Частота встречаемости антигенов нейтрофилов человека и риск аллоиммунизации у доноров и больных гематологическими заболеваниями

Кробинец И.И., Минеева Н.В., Богданова И.О., Четкин А.В.

Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии (РосНИИГТ)
Россия, 191024, г. Санкт-Петербург, 2-я Советская ул., 16

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Антигены нейтрофилов человека (Human neutrophil antigens, HNA) локализованы на гликопротеинах, расположенных на поверхностной мембране нейтрофилов. Иммунизация к HNA во время беременности или вследствие трансфузий компонентов крови может привести к выработке аллоантител. Одним из факторов развития аллоиммунизации является частота встречаемости HNA. В связи с этим представляется важным изучить особенности распределения аллелей и генотипов HNA у доноров и больных гематологическими заболеваниями г. Санкт-Петербурга для прогнозирования риска аллоиммунизации.

Цель. Оценить риск HNA аллоиммунизации у доноров и больных гематологическими заболеваниями г. Санкт-Петербурга на основании изучения частот встречаемости аллелей и генотипов HNA.

Материалы и методы. Материалом исследования служили образцы периферической крови 303 доноров г. Санкт-Петербурга и 302 больных гематологическими заболеваниями, получавших терапию в Российском научно-исследовательском институте гематологии и трансфузиологии. Геномная ДНК была выделена из цельной крови методом многоступенчатой очистки с использованием реактива цетилтриметиламмония бромид. Типирование HNA проводили методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции с использованием разработанных олигонуклеотидных праймеров. Сравнения частот встречаемости генотипов HNA у доноров, больных гематологическими заболеваниями, и представителей других популяций проводили с помощью критерия согласия Пирсона χ^2 .

Результаты. Частота встречаемости аллеля HNA-1bd составила 0,584–0,588, а HNA-1a – 0,376–0,384. Частота встречаемости аллеля HNA-1bc составила 0,032–0,036, и данный аллель был представлен в генотипах HNA-1a/bc/bd (0,023–0,036)00, HNA-1a/bc (0,020–0,043) и HNA-1bc/bd (0,007–0,010). Генотипы HNA-1bc/bc и HNA-1null выявлены не были. Аллель «а» систем HNA-3, -4, -5 встречался у большинства исследуемых в каждой группе (0,795–0,804; 0,887–0,898; 0,699–0,708 соответственно). На основании полученных частот встречаемости аллелей и генотипов рассчитали вероятность аллоиммунизации к HNA. Наибольшая величина расчетного риска аллоиммунизации при трансфузиях компонентов крови отмечена при отсутствии в генотипе аллелей HNA-5b, HNA-1a, HNA-3b, HNA-4b и составляет 0,250; 0,233; 0,231 и 0,163 соответственно, что подтверждает результаты аналогичных исследований.

Заключение. Статистически значимых различий в частоте встречаемости аллелей и генотипов HNA-1, -3, -4, -5 у доноров г. Санкт-Петербурга и больных гематологическими заболеваниями не установлено. Наибольшая величина расчетного риска аллоиммунизации при трансфузиях компонентов крови, полученная на основании частот встречаемости аллелей и генотипов, отмечена при отсутствии в генотипе аллелей HNA-5b, HNA-1a, HNA-3b, HNA-4b. Полученные данные согласуются с результатами исследований распределения аллелей и генотипов систем HNA в популяции европейцев и значимо отличаются от популяций Восточной и Юго-Восточной Азии, Африки и Южной Америки. Предложенный метод типирования HNA может быть использован для создания клеточной панели, типированной по антигенам нейтрофилов, с целью определения специфичности аллоантител у доноров, и для диагностики аллоиммунных конфликтов в педиатрии, трансфузиологии и трансплантологии.

Ключевые слова: антигены нейтрофилов, генотипирование, аллель-специфичная полимеразная цепная реакция.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании и согласие на забор крови. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России (протокол № 56 от 26.12.2018).

Для цитирования: Кробинец И.И., Минеева Н.В., Богданова И.О., Чететкин А.В. Частота встречаемости антигенов нейтрофилов человека и риск аллоиммунизации у доноров и больных гематологическими заболеваниями. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (2): 48–54. [https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2020-2-48-54](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-2-48-54).

Human neutrophil antigen allele frequencies and assessment of HNA alloimmunisation risk in donors and hematological patients

Krobinets I.I., Mineeva N.V., Bogdanova I.O., Chechetkin A.V.

*Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology
16, 2-a Sovetskaya Str., St-Petersburg, 191024, Russian Federation*

ABSTRACT

Relevance. Human neutrophil antigens (HNAs) are localized on glycoproteins which are positioned on the surface membrane of human neutrophils. Alloantibodies against HNA are implicated in a number of clinical conditions, including immune-mediated neutropenia and transfusion reactions. Genotyping for HNA systems is important in the diagnosis of disorders involving alloimmunization to HNA.

Aim. To assess the risk of HNA alloimmunization in donors and patients with hematological diseases in St. Petersburg based on the study of HNA allele and genotype frequencies.

Materials and methods. DNA samples of 303 blood donors and 302 hematological patients were obtained and typed for HNA-1, -3, -4, -5. Polymerase chain reactions with homemade sequence-specific primers were used for typing. Genomic DNA was isolated from whole blood by a multistage purification method using the CTAB reagent. The results were detected in real time using the EVAGreen intercalating dye. Pearson's chi-squared test was used to compare the HNA genotype frequencies in donors, patients with hematological diseases and in other populations.

Results. In the study, the frequency of HNA-1bd allele was 0.584–0.588, of HNA-1a – 0.376–0.384, of HNA-1bc – 0.032–0.036. HNA-1bc allele was represented in the genotypes HNA-1a/bc/bd (0.023–0.036), HNA-1a/bc (0.020–0.043) and HNA-1bc/bd (0.007–0.010). The genotypes HNA-1bc/bc and HNA-1null were not identified. Allele “a” of HNA-3, -4, -5 systems was found in the majority of studied individuals (0.795–0.804; 0.887–0.898; 0.699–0.708). The highest calculated risk of HNA alloimmunization was noted in the absence of HNA-5b, HNA-1a, HNA-3b, and HNA-4b alleles in the genotype and was 0.250, 0.233, 0.231, and 0.163, respectively.

Conclusions. Our data are consistent with the results of studies on the HNA allele and genotype frequencies in populations of Europeans and are significantly different from those of East and Southeast Asia, Africa and South America. The frequencies of HNA-1, -3, -4, -5 alleles and genotypes among donors in St. Petersburg and patients with hematological diseases did not have statistically significant differences. It was shown that the highest calculated risk of alloimmunization was observed in the absence of HNA-5b, HNA-1a, HNA-3b, and HNA-4b alleles in the genotype. These data are consistent with the results of similar studies on populations of white Europeans conducted by other authors.

Key words: donor, neutrophil antigens, genotyping.

Conflicts of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that they received no specific funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. All participants signed an informed consent to participate in the study and have blood samples collected. The study was approved by the local Ethics Committee of Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology (Protocol No. 56 of December 26, 2018).

For citation: Krobinec I.I., Mineeva N.V., Bogdanova I.O., Chechetkin A.V. Human neutrophil antigen allele frequencies and assessment of HNA alloimmunisation risk in donors and hematological patients. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (2): 48–54. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-2-48-54>.

ВВЕДЕНИЕ

Антигены нейтрофилов человека (Human neutrophil antigens, HNA) локализованы на гликопротеинах, расположенных на поверхностной мембране нейтрофилов. Иммунизация к HNA во время беременности или вследствие трансфузий компонентов крови может привести к выработке аллоантител к антигенам нейтрофилов. Антитела к HNA могут стать причиной развития таких клинических состояний, как аллоиммунная нейтропения новорожденных (АНН), аутоиммунная нейтропения, острое трансфузионно-обусловленное повреждение легких (ОТОПЛ), а также фебрильные трансфузионные реакции, иммунная нейтропения после трансплантации костного мозга и лекарственно-зависимая иммунная нейтропения [1, 2]. Кроме того, по данным литературы, полиморфизм HNA является фактором риска не только вышеперечисленных состояний, но и других заболеваний, включая бактериальные инфекции (периодонтит), хронические воспалительные заболевания (васкулит, системная красная волчанка, ревматоидный артрит), а также восприимчивости к малярии [3]. Сведения о распределении HNA у доноров в Российской Федерации отсутствуют.

К настоящему времени описано пять систем HNA (HNA-1, -2, -3, -4, -5) [1].

Система HNA-1 включает антигены HNA-1a, HNA-1b, HNA-1c и HNA-1d, расположенные на Fc-γ рецепторе IIIb (FcγRIIIb, CD16b). Экспрессия антигена 1b всегда сопровождается экспрессией антигена 1d или 1c. FcγRIIIb представляет собой гликозилфосфатидилинозитол-заякоренный (ГФИ) гликопротеин, экспрессируемый на поверхности нейтрофилов и кодируемый геном *FCGR3B* [4].

Антиген HNA-2a расположен на ГФИ-заякоренном белке CD177, кодируемом геном *CD177* [5]. HNA-2a встречается у большинства индивидуумов; отсутствие HNA-2a обусловлено транскрипционным дефектом гена *CD177* [6].

HNA-3a и HNA-3b расположены на подобном холиновому транспортеру белке 2 (CTL 2), кодируемом геном *SLC44A2* [7].

Антигены систем HNA-4 и HNA-5 локализованы на интегринах субъединицах αM (CD11b) и αL (CD11a) и кодируются генами *ITGAM* и *ITGAL* соответственно [8].

Наличие каждого аллеля системы HNA-1 определяется комбинацией из шести однонуклеотидных замен (SNP) в гене *FCGR3B*, расположенных близко друг к другу. Системы HNA-3, -4, -5 включают два аллеля, различия между которыми обусловлены заменой одного нуклеотида в последовательности ДНК кодирующих их генов [1].

Частота встречаемости HNA является одним из факторов развития иммунного ответа [9]. В связи с этим представляется важным изучение распределения аллелей и генотипов HNA в популяции. Для изучения частоты встречаемости HNA используют серологические и молекулярно-генетические методы типирования. Однако серологическое типирование антигенов нейтрофилов может быть затруднено из-за отсутствия некоторых типизирующих реагентов, высокой стоимости и непродолжительного срока жизни нейтрофилов. Методы на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) являются наиболее оптимальными для типирования HNA-1, -3, -4, -5 [10], однако часто не используются в связи с отсутствием регламентирующих документов и тест-систем для типирования HNA от отечественных производителей.

Цель исследования – оценить риск HNA аллоиммунизации у доноров и больных гематологическими заболеваниями г. Санкт-Петербурга на основании изучения частот встречаемости аллелей и генотипов HNA.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования служили образцы периферической крови 303 доноров г. Санкт-Петербурга и 302 больных гематологическими заболеваниями, получавших терапию в Российском научно-исследовательском институте гематологии и трансфузиологии. Типирование HNA проводили методом аллель-специфичной ПЦР с использованием разработанных олигонуклеотидных праймеров. Геномная ДНК была выделена из цельной крови методом многоступенчатой очистки с использованием реактива цетилтриметиламмония бромид. Детекцию результатов осуществляли в режиме реального времени с использованием интеркалирующего красителя EVAGreen.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью компьютерной программы Statistica 7.

Сравнения частот встречаемости аллелей и генотипов HNA у доноров, больных гематологическими заболеваниями, и представителей других популяций, а также проверку соответствия наблюдаемых распределений равновесию Харди – Вайнберга проводили с помощью критерия согласия Пирсона χ^2 . Уровнем статистической значимости различий считали $p < 0,05$.

Критическое значение χ^2 для аллелей систем HNA-3, -4, -5 при уровне значимости отклонения 0,05 составляет 3,84. Критическое значение χ^2 для аллелей системы HNA-1 при уровне значимости отклонения 0,05 составляет 5,991.

Для оценки вероятности аллоиммунизации к антигенам HNA использовали следующие формулы:

– вероятность аллоиммунизации к аллелю «а» = $(aa + ab) \times bb$,
 – вероятность аллоиммунизации к аллелю «b» = $(bb + ab) \times aa$,
 где aa, ab, bb – частоты соответствующих генотипов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Олигонуклеотидные праймеры для типирования HNA методом аллель-специфичной ПЦР были разработаны с помощью программ Primer 3.0 и Primer-BLAST.

Последовательности олигонуклеотидных праймеров для типирования антигенов систем HNA-1, -3, -4, -5 представлены в табл. 1.

Таблица 1

Последовательность олигонуклеотидных праймеров для типирования HNA-1, -3, -4, -5			
Антиген	Ген	Прямой праймер (5'-3')	Обратный праймер (5'-3')
HNA-1a	<i>FCGR3B</i>	CCTCAATGGTACAGGGTGCTC	GCCTGGCTTGAGATGAGGTT
HNA-1b/c	<i>FCGR3B</i>	CCTCAATGGTACAGCGTGCTT	CACTGTCGTTGACTGTGGCAT
HNA-1b/d	<i>FCGR3B</i>	CCTCAATGGTACAGCGTGCTT	ACTGTCGTTGACTGTGGCAG
HNA-3a	<i>SLC44A2</i>	CTACCTCACGTACCTGAATGCT	GCAGGGCAGTCACCATCTC
HNA-3b	<i>SLC44A2</i>	CTACCTCACGTACCTGAATGCT	GCAGGGCAGTCACCATCTT
HNA-4a	<i>ITGAM</i>	CTCATGCGAGCCCATCCG	ACAAGGAGGTCTGACGGTGA
HNA-4b	<i>ITGAM</i>	CTCATGCGAGCCCATCCA	ACAAGGAGGTCTGACGGTGA
HNA-5a	<i>ITGAL</i>	ATCATCCCCACAGATCCAG	AGCTGGACCCAGTAAGCATC
HNA-5b	<i>ITGAL</i>	ATCATCCCCACAGATCCAC	AGCTGGACCCAGTAAGCATC

Примечание. Нуклеотиды, комплементарные SNP, определяющие наличие антигена, выделены жирным шрифтом.

Для анализа специфичности праймеров использовали образцы ДНК 20 доноров, последовательности аллелей HNA-1, -3, -4, -5 которых были определены методом секвенирования. Соответствие результатов секвенирования и аллель-специфичной ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени, а также методом гель-электрофореза в агарозном геле составило 100%. По результатам электрофоретического разделения неспецифические продукты ПЦР выявлены не были.

Условия проведения ПЦР в реальном времени для аллелей HNA-1, -3, -4, -5 были одинаковыми. Для анализа использовали реакционную (2,5×) смесь для проведения ПЦР в присутствии EVAGreen фирмы «Синтол» (г. Москва), в состав которой входят ПЦР (2,5×) буфер Б (6,25 ммоль $MgCl_2$, KCl,

ТрисHCl (pH 8,8)), SynTaq ДНК-полимераза, дезоксирибонуклеозидтрифосфаты, глицерол, Tween 20. Для проведения ПЦР в каждую пробирку добавляли смесь, содержащую 50–100 нг геномной ДНК, реакционную (1×) смесь фирмы «Синтол», по 0,2 мкмоль прямого и обратного праймеров. Конечный объем смеси доводили до 25 мкл бидистиллированной водой. Для проведения ПЦР использовали следующий протокол: 95° – 5 мин, 33 цикла: 95° – 20 с, 68° – 30 с.

Частоты встречаемости аллелей и генотипов HNA-1, -3, -4, -5 у доноров г. Санкт-Петербурга и больных гематологическими заболеваниями представлены в табл. 2. Отклонение наблюдаемого распределения генотипов от ожидаемого у больных гематологическими заболеваниями и доноров не было статистически значимым.

Таблица 2

Сравнение частот встречаемости генотипов и аллелей систем HNA у доноров и больных гематологическими заболеваниями							
Система	Генотип	Пациенты, n = 302	Доноры, n = 303	χ^2 p	Аллель	Пациенты, n = 302	Доноры, n = 303
HNA-1	a/a	0,142	0,142	$\chi^2 = 0,172$, $p = 0,918$	a	0,376	0,384
	a/bc/bd	0,023	0,036		bd	0,588	0,584
	a/bc	0,043	0,020		bc	0,036	0,032
	a/bd	0,411	0,442		–	–	–
	bc/bd	0,007	0,010		–	–	–
	bd/bd	0,374	0,350		–	–	–

Окончание табл. 2

Система	Генотип	Пациенты, n = 302	Доноры, n = 303	χ^2, p	Аллель	Пациенты, n = 302	Доноры, n = 303
HNA-3	a/a	0,623	0,650	$\chi^2 = 0,150,$ $p = 0,699$	a	0,795	0,804
	a/b	0,343	0,307		b	0,205	0,196
	b/b	0,033	0,043		–	–	–
HNA-4	a/a	0,788	0,802	$\chi^2 = 0,321,$ $p = 0,571$	a	0,887	0,898
	a/b	0,199	0,191		b	0,113	0,102
	b/b	0,013	0,007		–	–	–
HNA-5	a/a	0,500	0,488	$\chi^2 = 0,124,$ $p = 0,725$	a	0,699	0,708
	a/b	0,397	0,439		b	0,301	0,292
	b/b	0,103	0,073		–	–	–

Как видно из табл. 2, частоты встречаемости генотипов HNA-1, -3, -4, -5 у больных гематологическими заболеваниями, получавших терапию в Российском научно-исследовательском институте гематологии и трансфузиологии, не имели статистически значимых различий от таковых у доноров г. Санкт-Петербурга. В обследуемых нами группах частота встречаемости аллеля HNA-1bd была выше (0,584–0,588), чем HNA-1a (0,376–0,384). Частота встречаемости HNA-1bc составляла 0,032–0,036, и данный аллель был представлен в генотипах HNA-1a/bc/bd (0,023–0,036), HNA-1a/bc (0,020–0,043) и HNA-1bc/bd (0,007–0,010). Генотипы HNA-1bc/bc и HNA-1null выявлены не были. Аллель «а» систем HNA-3, -4, -5 встречался у большинства исследуемых в каждой группе (0,795–0,804; 0,887–0,898; 0,699–0,708). Распространенность HNA-5a составила 0,699–0,708.

Так как частоты встречаемости генотипов HNA-1, -3, -4, -5 у больных гематологическими заболеваниями и доноров г. Санкт-Петербурга не имели статистически значимых различий, оценку возможного риска аллоиммунизации против антигенов систем HNA рассчитывали на основании полученных данных о встречаемости аллелей и генотипов HNA в группе, объединяющей доноров и больных гематологическими заболеваниями (табл. 3).

Таблица 3

Оценка возможного риска аллоиммунизации по HNA-1, -3, -5 при трансфузиях компонентов крови

HNA 1a	HNA 1bd	HNA 1bc	HNA 3a	HNA 3b	HNA 4a	HNA 4b	HNA 5a	HNA 5b
0,233	0,143	0,064	0,037	0,231	0,01	0,163	0,080	0,250

Как видно из представленных данных, наибольшая величина расчетного риска аллоиммунизации при трансфузиях компонентов крови отмечена при отсутствии в генотипе аллелей HNA-5b, HNA-1a, HNA-3b, HNA-4b и составляла 0,250; 0,233; 0,231 и 0,163 соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные согласуются с результатами исследований распределения аллелей и геноти-

пов HNA в популяции европейцев [9] и значительно отличаются от других популяций. Так, в популяциях Юго-Восточной Азии, Китая и Японии частота встречаемости аллеля HNA-1a была статистически значимо выше и составляла 0,696; 0,667 и 0,623 соответственно ($p < 0,001$) [11]. Частота встречаемости HNA-3a составила 0,795–0,804, что значимо превышало таковую в популяции Японии (0,654) [12], и была статистически значимо ниже, чем в популяциях Замбии (0,974) и Бразилии (1,0) ($p < 0,001$) [13, 14]. Частота встречаемости HNA-4a составила 0,887–0,898, и этот показатель был значимо ниже, чем в популяциях Китая и Бразилии – 0,995 и 1,0 соответственно ($p < 0,001$) [14, 15]. Полученная частота встречаемости HNA-5a была статистически значимо выше, чем в популяции Замбии (0,5) [13], но статистически значимо ниже, чем в популяциях Китая (0,852), Японии (0,840) и Бразилии (0,855) ($p < 0,001$) [12, 14, 15].

На основании полученных частот встречаемости аллелей и генотипов рассчитали вероятность аллоиммунизации к HNA. Наибольшая величина расчетного риска аллоиммунизации при трансфузиях компонентов крови отмечена при отсутствии в генотипе аллелей HNA-5b, HNA-1a, HNA-3b, HNA-4b и составляла 0,250; 0,233; 0,231 и 0,163 соответственно, что подтверждает результаты аналогичных исследований, проведенных другими авторами в популяции белых европейцев [10].

Полученные данные могут быть полезны для прогнозирования клинических состояний, связанных с аллоиммунизацией. Однако вероятность развития иммунного ответа в высокой степени зависит от иммуногенности антигена и других факторов, что может объяснять несоответствие расчетного риска аллоиммунизации и существующих данных о специфичности выявленных аллоантител к HNA. Так, например, при низком расчетном риске аллоиммунизации к HNA-3a (0,37) такие антитела приводят к развитию ОТОПЛ. Известно, что анти-HNA-3a аллоантитела, содержащиеся в донорской плазме, являются одной из причин развития ОТОПЛ тяжелого течения с летальным исходом [12].

Несмотря на высокий расчетный риск аллоиммунизации к HNA-3b, описаны редкие случаи АНН, вызванной аллоантителами анти-HNA-3b, и в литературе не встречаются данные о случаях ОТОПЛ, вызванного такими антителами. Наиболее частой причиной развития АНН в популяции белых европейцев являются аллоантитела к HNA-1a, -1b, -1c и -2a [16], однако в литературе описаны случаи АНН, вызванной аллоантителами к HNA-1d, -3a, -3b, -4a, -4b, -5a [17, 18].

В клинической практике трансфузии гранулоцитного концентрата осуществляют пациентам при значительном снижении абсолютного количества гранулоцитов в крови при наличии инфекции, неконтролируемой антибактериальной терапией, а также при сепсисе новорожденных. В случае переливания несовместимого по антигенам нейтрофилов гемокомпонента у пациента повышается риск развития аллоиммунизации и, как следствие, отмечается отсутствие клинического эффекта трансфузии [19]. Таким пациентам требуется индивидуальный подбор по антигенам систем HNA и HLA. Наличие базы типированных по HNA доноров будет способствовать профилактике аллоиммунизации. Создание клеточной панели, типированной по антигенам нейтрофилов, поможет решить проблему диагностики аллоиммунных конфликтов в педиатрии, трансфузиологии и трансплантологии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволило изучить особенности распределения аллелей и генотипов HNA у доноров г. Санкт-Петербурга и больных гематологическими заболеваниями и оценить возможный риск HNA аллоиммунизации. Статистически значимых различий в частоте встречаемости аллелей и генотипов HNA-1, -3, -4, -5 у доноров г. Санкт-Петербурга и больных гематологическими заболеваниями не установлено. Наибольшая величина расчетного риска аллоиммунизации при трансфузиях компонентов крови отмечена при отсутствии в генотипе аллелей HNA-5b, HNA-1a, HNA-3b, HNA-4b, что подтверждает результаты аналогичных исследований, проведенных другими авторами в популяции белых европейцев. Полученные данные могут быть полезны для прогнозирования клинических состояний, связанных с аллоиммунизацией. Однако процесс иммунизации после трансфузии и (или) во время беременности связан не только с антигенной несовместимостью, но также зависит от иммуногенности антигена, генетических, эпигенетических факторов и факторов внешней среды, что может объяснять несоответствие расчетного риска аллоиммунизации и су-

ществующих данных о специфичности выявленных аллоантител к HNA.

Представленные данные могут быть полезны для профилактики аллоиммунизации, а также для популяционных исследований. Предложенный метод типирования HNA может быть использован для создания клеточной панели, типированной по антигенам нейтрофилов, с целью определения специфичности аллоантител у доноров, а также для диагностики аллоиммунных конфликтов в педиатрии, трансфузиологии и трансплантологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bux J. Human neutrophil alloantigens. *Vox Sang.* 2008; 94 (4): 277–285. DOI: 10.1111/j.1423-0410.2007.01031.x.
2. Reil A., Keller-Stanislawski B., Gunay S., Bux J. Specificities of leucocyte alloantibodies in transfusion-related acute lung injury and results of leucocyte antibody screening of blood donors. *Vox Sang.* 2008; 95 (4): 313–317. DOI: 10.1111/j.1423-0410.2008.01092.x.
3. Adu B., Dodoo D., Adukpo S., Hedley P.L., Gerds T., Larsen S.O., Christiansen M., Theisen M. Fc γ receptor IIIb (Fc γ RIIIb) polymorphisms are associated with clinical malaria in Ghanaian children. *PLoS One.* 2012; 7 (9): 46197. DOI: 10.1371/journal.pone.0046197.
4. Reil A., Sachs U.J., Siahnidou T., Flesch B.K., Bux J. HNA-1d: a new human neutrophil antigen located on Fc γ receptor IIIb associated with neonatal immune neutropenia. *Transfusion.* 2013; 53 (10): 2145–2151. DOI: 10.1111/trf.12086.
5. Lalezari P., Murphy G.B., Allen F.H. NB1, a new neutrophil-specific antigen involved in the pathogenesis of neonatal neutropenia. *Journal of Clinical Investigation.* 1971; 50 (5): 1108–1115. DOI: 10.1172/JCI106582.
6. Kissel K., Scheffler S., Kerowgan M., Bux J. Molecular basis of NB1 (HNA-2a, CD177) deficiency. *Blood.* 2002; 99 (11): 4231–4233. DOI: 10.1182/blood.v99.11.4231.
7. Curtis B.R., Cox N.J., Sullivan M.J., Konkashbaev A., Bowers K., Hansen K. et al. The neutrophil alloantigen HNA-3a (5b) is located on choline transporter-like protein 2 and appears to be encoded by an R > Q154 amino acid substitution. *Blood.* 2010; 115 (10): 2073–2076. DOI: 10.1182/blood-2009-11-248336.
8. Harris E.S., McIntyre T.M., Prescott S.M., Zimmerman G.A. The leukocyte integrins. *Journal of Biological Chemistry.* 2000; 275 (31): 23409–23412. DOI: 10.1074/jbc.R000004200.
9. Cardoso S.P., Chong W., Lucas G., Green A., Navarrete C. Determination of human neutrophil antigen-1, -3, -4 and -5 allele frequencies in English Caucasoid blood donors using a multiplex fluorescent DNA-based assay. *Vox Sang.* 2013; 105 (1): 65–72. DOI: 10.1111/vox.12016.
10. Clay M.E., Schuller R.M., Bachowski G.J. Granulocyte serology: current concepts and clinical significance. *Immunohematology.* 2010; 26 (1): 11–21.
11. Simtong P., Puapairoj C., Leelayuwat C. et al. Assessment of HNA alloimmunisation risk in Northeastern Thais, Burmese and Karen. *Transfusion Medicine.* 2018; 28 (1): 47–55. DOI: 10.1111/tme.12431.

12. Matsuhashi M., Tsuno N.H., Kawabata M., Mishima Y., Okochi N., Santoso S., Tozuka M., Takahashi K. The frequencies of human neutrophil alloantigens among the Japanese population. *Tissue Antigens*. 2012; 80 (4): 336–340. DOI: 10.1111/j.1399-0039.2012.01930.x.
13. Nielsen K.R., Koelbaek M.D., Varming K. et al. Frequencies of HNA-1, HNA-3, HNA-4, and HNA-5 in the Danish and Zambian populations determined using a novel TaqMan real time polymerase chain reaction method. *Tissue Antigens*. 2012; 80: 249–253. DOI: 10.1111/j.1399-0039.2012.01912.x.
14. Lopes L.B., Baleotti W. Jr., Suzuki R.B., Fabron A., Chiba A.K., Vieira-Filho J.P.B., Castro B.S., Kuniyoshi A.M., Bordin J.O. HNA-3 gene frequencies in Brazilians and a new polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism method for HNA-3a/3b genotyping. *Transfusion*. 2014; 54 (6): 1619–1621. DOI: 10.1111/trf.12493.
15. Xia W., Bayat B., Sachs U. et al. The frequencies of human neutrophil alloantigens in the Chinese Han population of Guangzhou. *Transfusion*. 2011; 51 (6): 1271–1277. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2010.02979.x.
16. Van den Tooren-de Groot R., Ottink M., Husikes E., van Rossum A., van der Voorn B., Slomp J., Porcelijn L. Management and outcomes of 35 cases with foetal/neonatal alloimmune neutropenia. *Acta Paediatrica*. 2014; 103 (11): e467–474. DOI: 10.1111/apa.12741.
17. Lopes L.B., Abbas S.A., Moritz E., Martins J.O., Chiba A.K., Langhi D.M. Jr, Bordin J.O. Antibodies to human neutrophil antigen HNA-3b implicated in cases of neonatal alloimmune neutropenia. *Transfusion*. 2018; 58 (5): 1264–1270. DOI: 10.1111/trf.14524.
18. Curtis B.R., Roman A.S., Sullivan M.J., Raven C.S., Larison J., Weitekamp L.A. Two cases of maternal alloimmunization against human neutrophil alloantigen-4b, one causing severe alloimmune neonatal neutropenia. *Transfusion*. 2016; 56 (1): 101–106. DOI: 10.1111/trf.13287.
19. Dankme M. B., Keashen M., Alavi J. B., Koch P. A., Eisenstaedt R. Granulocyte transfusions and outcome of alloimmunized patients with gram-negative sepsis. *Transfusion*. 1982; 22 (5): 374–378. DOI: 10.1046/j.1537-2995.1982.22583017461.x.

Сведения об авторах

Кробинец Ирина Ивановна, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, РосНИИГТ, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0002-6404-2387.

Минеева Наталья Витальевна, д-р биол. наук, профессор, рук. лаборатории изосерологии, РосНИИГТ, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0001-7137-8877.

Богданова Ирина Олеговна, лаборант-исследователь, РосНИИГТ, г. Санкт-Петербург.

Четкин Александр Викторович, д-р мед. наук, профессор, директор РосНИИГТ, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0002-7569-0697.

(✉) **Кробинец Ирина Ивановна**, e-mail: transfusion_spb@mail.ru

Поступила в редакцию 14.03.2019

Подписана в печать 25.12.2019