

ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო
უნივერსიტეტი
საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა და ჯანდაცვის
ფაკულტეტი ბიოლოგიის დეპარტამენტი



ირინე ცინცაძე

თემა: „ძნელად განსასაზღვრი სისხლის ჯგუფების
იმუნოგენეტიკური მახასიათებლები“

ბიოლოგიის დოქტორის ხარისხის მოსაპოვებლად წარმოდგენილი
სპეციალობა: გენეტიკა

ანოტაცია

ბათუმი - 2020

სადისერტაციო ნაშრომი შესრულებულია ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა და ჯანდაცვის ფაკულტეტის ბიოლოგიის დეპარტამენტში.

სამეცნიერო ხელმძღვანელები: **ლეილა ახვლედიანი;**
მარინა ნაგერვაძე

უცხოელი შემფასებელი : **ელისიო კოსტა**
პორტოს უნივერსიტეტის ფარმაციის ფაკულტეტის ბიოლოგიის მეცნიერებათა დეპარტამენტის პროფესორი

შემფასებლები : **ნინო გაჩეჩილაძე**
ივ. ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტის, ბიოლოგიის დეპარტამენტის ასოცირებული პროფესორი; აღმოსავლეთ ევროპის უნივერსიტეტის მედიცინის ფაკულტეტის სრული პროფესორი

დავით ბარათაშვილი
ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა და ჯანდაცვის ფაკულტეტის პროფესორი.

ნერიმან ცინცაძე
ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა და ჯანდაცვის ფაკულტეტის ასოცირებული პროფესორი

სადისერტაციო ნაშრომის დაცვა შედგება 28.12.2020 ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა და ჯანდაცვის ფაკულტეტის სადისერტაციო საბჭოს სხდომაზე.

Conclusions:

1. In fact, 1.9 times fewer phenotypes are found in donors from the theoretically expected 48 phenotypic combinations of the ABO, Rh, Kell and MN group antigens, that is, 25 phenotypes were identified in the donors studied. The following phenotypic combinations were not detected in the studied donors: 1. O,Rh- K+ MM; 2. O,Rh-K- MN; 3. O,Rh-K- NN; 4. A,Rh- K+ MN; 5. A,Rh- K+ MM; 6. A,Rh- K+ NN; 7. A,Rh-K- MM; 8. A,Rh-K- NN; 9. B,Rh+ K+ NN; 10. B,Rh- K+ MN; 11. B,Rh- K+ MM; 12. B,Rh- K+ NN; 13. B,Rh-K- MN; 14. B,Rh-K- MM; 15. B,Rh-K- NN; 16. AB,Rh+ K+ MN; 17. AB,Rh+ K+ NN; 18. AB,Rh+ K- NN; 19. AB,Rh+ K- MM; 20. AB,Rh- K+ MN; 21. AB,Rh- K+ MM; 22. AB,Rh- K+ NN; 23. B,Rh-K- NN.
2. The donors showed high polymorphism of the Rh system, namely: (27,8±1,53%) phenotype CcDe (n=237) was the majority. The phenotype CcDEe was represented with the distribution frequency of 19,3±1,35% (n=165); 125 donors studied by us carried the phenotype CDe (14,6±1,2); the prevalence of the phenotype cde is 13,1±1,5%, which means that 112 donors studied belonged to this phenotypic group; 87 studied donors revealed the cDEe phenotypic characteristics (10,2%); the prevalence of the phenotype cDe was 4,9% (n=42); 19 donors carried the CDEe phenotype. The prevalence of other phenotypes (CDE, Cde, CcdEe, Ccde) was significantly low.
3. The Rhesus system in blood donors was found with more diverse phenotypic variations (2.8 times more phenotypic characteristic of Rhesus) compared to the Georgian population in Adjara.
4. In newborns, antigen A from the group-specific antigens was found to have the lowest agglutination capacity.
5. In newborns with a complex history (in the case of neonatal hemolytic anemia and other types of anemia), it is almost impossible to accurately determine the group and Rh, especially when taking blood from the umbilical cord, therefore, in newborns, blood should be taken from the calcaneal vein, the erythrocytes should be thoroughly washed and typed using various alternative methods.

შესავალი

ჯგუფური ანტიგენები განსაზღვრავენ სისხლის უჯრედების ტროფიკულ და რეგულატორულ ფუნქციებს. ისინი შედიან უჯრედული რეცეპტორების შემადგენლობაში, მათი დახმარებით ხდება სისხლის მიმოქცევის სისტემაში ჰორმონების, ვიტამინების, ფერმენტების და სხვა ბიოლოგიურად აქტიური ცილების ტრანსპორტი და წარმოადგენენ უჯრედული მემბრანის ადჰესიის ძირითად სტრუქტურულ ელემენტებს (Mინეევა 2004, 2010; Westhoff ...2004; Kormoczi ... 2009) სისხლის ჯგუფური ანტიგენები განსაზღვრავენ ადამიანის, როგორც ბიოლოგიური სახეობის ადაპტაციას გარემომცველ გარემოსთან. სისხლის ჯგუფის გავრცელების სიხშირე არათანაბარია სხვადასხვა რასისა და ეთნიკური ჯგუფისათვის და ევოლუციის პროცესში ამა თუ იმ ეკოსისტემაში გენოგეოგრაფიული ადაპტაციის გამოვლინებად ითვლება (Makroo ...2013; Musa...2012).

სისხლის ჯგუფური ანტიგენების კლინიკური მნიშვნელობა განისაზღვრება მათი იმუნოგენურობით - ანტისხეულების წარმოქმნის უნარით, მათ შეუძლიათ ერითროციტების, ლეიკოციტების და თრომბოციტების დაზიანება. აღნიშნული ანტისხეულები იწვევენ პოსტტრანსფუზიურ გართულებებს, სისხლის კომპონენტების გადასხმის დროს სხვადასხვა ტიპის რეაქციებს, ნეიტროპენიას და ახალშობილთა ჰემოლიზურ დაავადებას (Cheng ... 2012).

სისხლის ჯგუფები განისაზღვრება სისხლის წითელი უჯრედის ზედაპირზე კონკრეტული ანტიგენის არსებობა არარსებობით. დღეისათვის გამოყოფენ 39-მდე ერითროციტურ ჯგუფურ სისტემას, რომელშიც გაერთიანებულია დაახლოებით 346 ანტიგენი, რომლებმაც შეიძლება გამოიწვიოს ყველაზე მძაფრი ტრანსფუზიური რეაქციების პროვოცირება (Lane...2015; Storry JR....2016; Harmening DM.,; 2019) კლინიკური თვალსაზრისით ყველაზე მნიშვნელოვანია ABO, Rh, Kell, MNSs და სხვა სისტემები.

სისხლის ჯგუფური ანტიგენების კლინიკური მნიშვნელობა განისაზღვრება მათი იმუნოგენურობით - ანტისხეულების წარმოქმნის უნარით, მათ შეუძლიათ ერითროციტების, ლეიკოციტების და თრომბოციტების დაზიანება. ერითროციტური ჯგუფური ანტიგენების მთავარი ბიოსამედიცინო მნიშვნელობა მეტწილად ცოცხალის იმუნურ თავისებურებებთან ასოცირდება. ამ ანტიგენებს განსაკუთრებული მნიშვნელობა აქვს ტრანსფუზიოლოგიაში, კერძოდ სისხლის ზუსტი დაჯგუფება ძალზე მნიშვნელოვანია, როდესაც საქმე ეხება სისხლის გადასხმის ფაქტს. ABO სისტემის ანტიგენები ასევე განიხილება, როგორც ქსოვილის ანტიგენები და შესაბამისად მნიშვნელოვანია ორგანოთა ტრანსპლანტაციაში და ეპიდემიოლოგიაში. ერითროციტურ ჯგუფსპეციფიურ ანტიგენებს ორსულობისა თუ სისხლის ტრანსფუზიის დროს, შეუთავსებლობის შემთხვევაში შეუძლიათ გამოიწვიონ იმუნოსენსიბილიზაცია და სხვადასხვა სირთულის ჰემოლიზური დაავადებები (Manoj... 2014).

გენეტიკური თვალსაზრისით მნიშვნელოვანია სისხლის ჯგუფური ანტიგენების შესწავლა პოპულაციური თავისებურებების დადგენის მიზნით (<https://www.britannica.com/science/blood-group/The-importance-of-antigens-and-antibodies>).

ადამიანები ჯგუფური ანტიგენების მიხედვით იმდენად ინდივიდუალურები არიან, რომ იგი პირადობის იდენტიფიკატორიცაა. სისხლის სხვადასხვა ჯგუფურ სისტემების ანტიგენები პოპულაციაში არათანაბრადაა განაწილებული, რაც იმას ნიშნავს, რომ სხვადასხვა პოპულაციას აქვს განსხვავებული ანტიგენების შემადგენლობა. ზოგიერთი ანტიგენი დიდ იშვიათობას წარმოადგენს ამა თუ პოპულაციისათვის, ამიტომაც დიდ სირთულეს წარმოადგენს შესაბამისი დონორის მოძიება.

ასევე მნიშვნელოვანია ჯგუფსპეციფიურობის დადგენისას დაშვებული ტექნიკური შეცდომების არსებობაც. ერითროციტური ჯგუფური ანტიგენი A, რომელიც გვხვდება A(II) და AB(IV) ჯგუფის

Attention has also been drawn to the c antigen of the rhesus system as one of the immunogenic antigens that can provoke immune reactions during pregnancy, as well as hemolytic reactions in newborns. One of 25 newborns with hemolytic jaundice we studied had the c (cc) antigen in a recessive homozygous state, while the mother had a CC version instead. It is possible that hemolytic jaundice was caused by anti-c antibodies. Anti-c antibodies have not been studied by us in this particular case either.

Characteristics of Rh antigens in newborns with severe hemolysis

None of the examined newborns had any difficulty in identifying the group with the Rh factor, which, apparently, is caused by a strong ability of agglutination during prenatal development. Most of the 25 difficult newborns are carriers of antigen D. This antigen was not detected in only two cases. (figure 20). Here I would like to note that the agglutination caused by antigen D, in all studied variants, was detected by the plate method within 2-3 minutes and was visible even with the naked eye. and agglutination corresponding to 4+ and 3+ was detected by the column agglutination method.

In contrast to antigens of the ABO system, in the case of antigen A, when using the column method of agglutination, rather low variability was observed, in particular, agglutination corresponding to 3+, 2 + was mainly detected. Agglutination of degree 1+ was also detected in a single case.

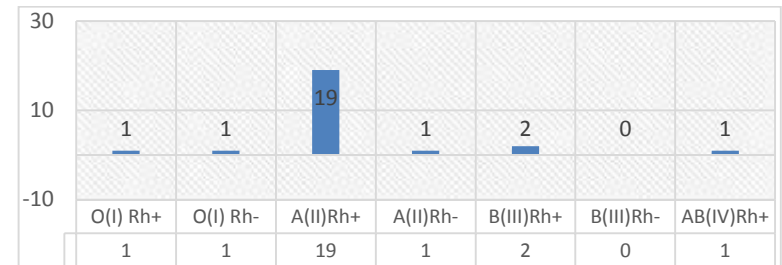


Figure № 20. Belonging to the Rhesus group in combination with antigens of the ABO

anti-A antibody titer is much higher compared to the anti-B antibody titer. A similar picture was observed in the case of donors (adults).

Newborns with severe hemolytic anemia

Here we would like to highlight newborns with severe hemolytic anemia, for whom phenotypic determination of the blood group becomes even more difficult and there is a need for genotyping. The difficulty is as follows: different group affiliation is detected using various immunoserological methods.

Of the 85 newborns examined, 25 were considered difficult due to a hemolytic reaction in them. using the Coombs test, a positive reaction was detected in a single case. Also, no incompatibility of the ABO system was found, since immune anti-A and anti-B antibodies were not detected in the maternal serum. However, an interesting nuance was revealed in a single case, in particular, a newborn (n = 4) has a blood group K +, and a mother has a K- phenotype (figure 19). It is possible that the hemolytic reaction is caused by this particular antigen. Unfortunately, we have not studied anti-Kell antigens.

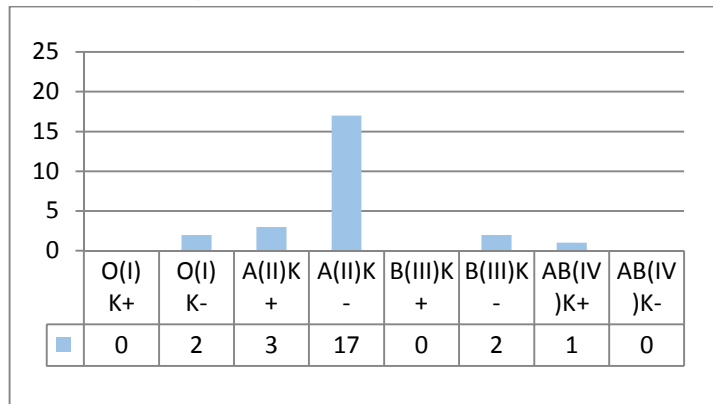


Figure № 19. K⁺ and K⁻ phenotypes in newborns with severe hemolytic anemia.

მქონე ადამიანების სისხლის წითელი უჯრედების მემბრანაზე უფრო ხშირად წარმოდგენილია ორი ქვეჯგუფით: A1 და A2. მათ შორის აღინიშნება, როგორც რაოდენობრივი, ისე ხარისხობრივი განმასხვავებელი ნიშნები. A1 ანტიგენური დეტერმინანტისაგან განსხვავებით A2 ქვეჯგუფის სპეციფიკურობის მქონე ერითროციტები ხასიათდებიან საკვლევად გამოყენებული მონოკლონური ანტი-A ანტისხეულებთან სუსტი აგლუტინაციით უნარით. ამიტომაცაა, რომ სისხლის ჯგუფური კუთვნილების დადგენის მიზნით გამოყენებული მეთოდოლოგიით დიდი ალბათობით რისკია, რომ არ მოხდეს A2 ქვეჯგუფის ერითროციტების აგლუტინაცია ფირფიტული მეთოდით. მით უფრო, როცა აგლუტინაციას ვაფასებთ შეუიარაღებელი თვალით.

ზემოთაღნიშნულიდან გამომდინარე შესაძლებელია A(II) ჯგუფის სისხლი შეცდომით მიკუთვნებული იქნეს O(I) ჯგუფად, ხოლო AB(IV) კი – B(III). მსოფლიოს უმრავლეს ტრანსფუზიურ ცენტრებში, სისხლის გადასხმის სადგურებსა და ბანკებში დონორთა სისხლი შესწავლილია ერითროციტური მინორული ანტიგენების დონეზე. ხშირად შესწავლილია დაახლოებით 12–13 ტრანსფუზიური თავლთახედვით მნიშვნელოვანი იმუნოგენური ანტიგენები და ამის მიხედვით ფასდება დონორ-რეციპიენტის შეთავსებადობის შესაძლებლობები. დღეისათვის სისხლის ტრანსფუზიის დროს მაღალი იმუნოგენურობის გამო ითვალისწინებენ ABO სისტემის ორ (A, B) და Rh სისტემის ხუთ (D, C, c, E და e) ანტიგენს. პირებში, სადაც არ გვხვდება აღნიშნული ანტიგენები მაღალია ალოიმუნოსენსიბილიზაციის თეორიული რისკი. რეგიონის მასშტაბით დონორ რეციპიენტთა შეთავსებადობა ფასდება მხოლოდ სამი ანტიგენური შემადგენლობის მსგავსება-განსხვავების მიხედვით, თუმცა არაერთი ლიტერატურული წყარო აღნიშნავს, რომ გარდა ამ სასიცოცხლოდ მნიშვნელოვანი სამი ანტიგენისა დონორ-რეციპიენტის თავსებადობა უნდა შეფასდეს

სხვა ტრანსფუზიური თვალთახედვით საშიში ანტიგენების მიხედვითაც.

კვლევისათვის საინტერესო ჯგუფს წარმოადგენს ასევე ახალშობილები, ზოგიერთ ახალშობილში ზრდასრული ადამიანებისაგან განსხვავებით A და B ანტიგენები ერითროციტებზე უფრო სუსტადაა გამოხატული, ხოლო შესაბამისი აგლუტინინები სისხლის შრატში შეიძლება არ იყოს, რაც სისხლის ჯგუფობრიობის განსაზღვრის დროს ქმნის გარკვეულ სირთულეებს.

აქტუალობა. სამეცნიერო თვალსაზრისით საინტერესო კვლევის ობიექტს წარმოადგენს სისხლის დონორთა და ახალშობილთა ბიოლოგიური მასალა. დონორთა სისხლის შემადგენლობა და ჯგუფური ანტიგენების გავრცელების თავისებურება დიდ ინტერესს იწვევდა და დღესაც იწვევს მეცნიერთა ფართო წრეში, თუმცა ამის მიუხედავად სრულყოფილად ჯერ კიდევ არაა შესწავლილი, რაც განპირობებულია ჯგუფური ანტიგენების მრავალრიცხოვნებით და მათი მრავალფეროვანი კომბინაციებით. ასევე აქტუალურია ახალშობილთა ჯგუფური შემადგენლობის შესწავლა და ე. წ. ძნელად განსასაზღვრი სისხლის ჯგუფების ფენოტიპირება სხვადასხვა მეთოდებით.

კვლევის მიზნები და ამოცანები. ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა სისხლის ჯგუფური ანტიგენების სკრინინგის თავისებურებების შესწავლა სხვადასხვა კვლევის მეთოდების გამოყენებით. სამიზნე ჯგუფად აღებული იქნა როგორც ახალშობილები, ასევე დონორები. მიზნად დავისახეთ ახალშობილებში ABO სისტემის ანტიგენ-ანტისხეულთა ექსპრესიის თავისებურებების შესწავლა. კვლევის მიზანს წარმოადგენდა აგრეთვე რეგიონის ერთ-ერთი კლინიკის სისხლის დონორთა ერითროციტური ჯგუფური ანტიგენების თავისებურებების შესწავლა.

Table № 23. serological properties of donors with AB (IV) group.

samples	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-H	A erythr.	B erythr.
1	+	+	+	+(very weak agglutination)	-	-
2	+	+	+	+(very weak agglutination)	-	-

Quantitative characteristics of natural antibodies

It was interesting for us to study the titer of natural antibodies in newborns. Here too, we randomly selected 10 cases (table 24). Of course, those samples were taken for analysis in which natural antibodies were detected. As mentioned above, they are mostly not synthesized in newborns.

Table № 24. The titer of natural antibodies in newborns.

N	Anti-A	Anti-B
1.	1:64	1:64
2.	1:64	1:64
3.	1:128	1:128
4.	1:128	1:128
5	1:256	1:128
6	1:128	1:32
7	1:64	1:32
8	1:64	1:64
9	1:64	1:128
10	1:32	1:128

A serious difference will arise if we compare the quantitative characteristics of antibodies anti- A and anti- B in newborns and donors. Unlike adults, natural antibodies were not detected at all or were present in a rather low amount in newborns. It should also be noted that the

The antigen H of newborns with the group B (III) is also determined serologically (table22). The antigen H of newborns with the group B (III) is characterized by moderate agglutination (table). Like above mentioned, the H antigen with its serological properties in newborns of group B(III) is almost equal to the agglutination ability of the H antigen in donors with B (III) group.

Table № 22. serological properties of newborns with B (III) group.

Samples	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-H	A erythr.	B erythr.
1	-	+	+	+ (Moderate level of agglutination)	+	-
2	-	+	+	+ (Moderate level of agglutination)	+	-
3	-	+	+	+ (Moderate level of agglutination)	+	-
4	-	+	+	+ (Moderate level of agglutination)	+	-
5	-	+	+	+(very weak agglutination)	+	-
6	-	+	+	+(very weak agglutination)	+	-
7	-	+	+	+(very weak agglutination)	+	-
8	-	+	+	+(very weak agglutination)	+	-
9	-	+	+	+(very weak agglutination)	+	-
10	-	+	+	+(very weak agglutination)	+	-

In the case of the two studied newborns of AB (IV) groups, the agglutination ability of the H antigen is relatively weak, as in donors (table23).

ზემოთქმული მიზნებიდან გამომდინარე დავისახეთ შემდეგი ამოცანა:

- კვლევისათვის საჭირო მეთოდების შერჩევა და მოდიფიცირება;
- ახალშობილთა და დონორთა სისხლში ABO სისტემის ჯგუფსპეციფიური ანტიგენების სკრინინგი სხვადასხვა სეროლოგიური მეთოდის გამოყენებით;
- ახალშობილთა და დონორთა პლაზმაში ABO სისტემის ჯგუფსპეციფიური ანტისხეულების სკრინინგი სხვადასხვა სეროლოგიური მეთოდის გამოყენებით;
- ახალშობილთა და დონორთა სისხლში A1, A2(H) ანტიგენების სკრინინგი;
- საკვლევი მასალაში რეზუს სისტემის ანტიგენების გამოკვლევა (D, C, c, E და e);
- Kell და MNS, სისტემის ჯგუფსპეციფიური ანტიგენების სკრინინგი ახალშობილთა და დონორთა სისხლში;
- დონორებში ოთხივე ჯგუფური სისტემის (ABO, RH, KELL, MNS) ფენოტიპური კომბინაციების სიხშირის შესწავლა.
- ABO სისტემის ბუნებრივი და იმუნური ანტი-A და ანტი-B ანტისხეულების რაოდენობრივი და თვისობრივი მახასიათებლების შეფასება;
- დონორთა ონლაინ ბაზის შექმნა;
- ანტირეზუსული ანტი-D ანტისხეულის რაოდენობრივი და თვისობრივი მახასიათებლების შეფასება;
- იშვიათი და საინტერესო ფენოტიპური კომბინაციების გამოყოფა და მათ შესახებ ინფორმაციის მიწოდება შესაბამის კლინიკის წარმოადგენლებთან.

კვლევისათვის გამოყენებული მეთოდები და მატერიალურ ტექნიკური ბაზა.

ABO სისტემის ანტიგენ-ანტისხეულებზე გამოკვლეული იქნა 85 ახალშობილის სისხლი, ასევე სისხლის წითელი უჯრედების ჯგუფურ ანტიგენებზე გამოკვლეული იქნა 1009 დონორის სისხლი. მასალა მოწოდებული იქნა ქ. ბათუმის შპს ჯანმრთელობის ცენტრ მედინას დიაგნოსტიკური ლაბორატორიიდან. მასალის დამატებითი ლაბორატორიული ანალიზი კი განხორციელდა ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის იმუნოგენეტიკის ლაბორატორიის ბაზაზე.

კვლევისას გამოყენებული იქნა იმუნოლოგიური ექსპრეს მეთოდი მონოკლონური ანტისხეულების გამოყენებით. საექსპერიმენტოდ გამოყენებული იქნა შემდეგი სპეციფიკურობის მონოკლონური ანტისხეულები: ანტი- A, -B, AB, A2 (H), -A1, D, C, c, E, e, K, k, M, N, S, s. ABO სისტემის ჯგუფსპეციფიკური ანტიგენებისა და ბუნებრივი ანტისხეულების სკრინინგის მიზნით გამოყენებული იქნა ე.წ. ჯვარედინზაცის ანუ რევერსიული მეთოდი. გარდა აღნიშნულისა ზოგიერთი დონორის შემთხვევაში ჯგუფური კუთვნილების განსაზღვრა მოხდა ასევე სვეტური აგლუტინაციის მეთოდით. გამოყენებული იქნა AHG (anti human globulin) ფირფიტები ე.წ. ID კარტები. კონკრეტულად გამოყენებული იქნება სპეციალური ID-კარტები დონორებისათვის – ABO/Rh (A, B, DVI+/A, B, DVI+) და ABO სისტემის რევერსიული ფენოტიპირებისათვის A1, A2, B/I, II, III.

ABO სისტემის ანტი-A, ანტი-B ბუნებრივი ანტისხეულების გამოვლენა მოხდა ჯვარედინი მეთოდით. მათ გამოსავლენად ვიყენებდით სტანდარტულ ერითროციტებს. აღნიშნული სისტემის ანტი-A, ანტი-B, იმუნური ანტისხეულების გამოსავლენად ჯერ აუცილებელია ბუნებრივი ანტისხეულების აქტივობის ჩაშლა. ბუნებრივი ჯგუფ სპეციფიური ანტისხეულების დათრგუნვას

As shown in the table below (table 21), H antigen in donors with group A (II) is detected serologically. In most cases (6/10) occurs its ability to moderate agglutination. 4 out of 10 donors were found to have very weak serological properties of the antigen H. Taking this factor into account, we can talk about homo- or heterozygous versions. In particular, there is a homozygous situation where a very weak agglutination of the H antigen is found which is the next stage of research.

Table № 21 serological properties of donors with A(II) group.

samples	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-H	A erythr.	B erythr.
1	+	-	+	+ (Moderate level of agglutination)	-	+
2	+	-	+	+ (Moderate level of agglutination)	-	+
3	+	-		+ (Moderate level of agglutination)	-	+
4	+	-	+	+ (Moderate level of agglutination)	-	+
5	+	-	+	+ (Moderate level of agglutination)	-	+
6	+	-	+	+ (Moderate level of agglutination)	-	+
7	+	-	+	+(very weak agglutination)	-	+
8	+	-	+	+(very weak agglutination)	-	+
9	+	-	+	+(very weak agglutination)	-	+
10	+	-	+	+(very weak agglutination)	-	+

Serological expression of the H antigen in other cases of groups A (II), B (III) and AB (IV) differs from the phenotypic group O (I). In this case, moderate or weak H-antigen agglutination was detected (figure 17). All this indicates its minimal amount in carriers of groups A (II), B (III) and AB (IV). The H antigen showed particularly weak agglutination in the case of the AB (IV) phenotypic group.

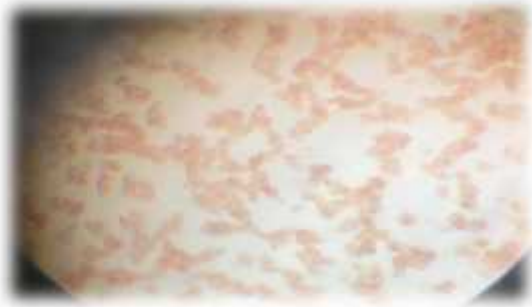


Figure № 17. Moderate agglutination of H antigen in donors with A(II), B(III) and AB (IV) phenotypic groups.



Figure № 18. Weak agglutination of H antigen in donors with A(II), B(III) and AB (IV) phenotypic groups.

ვახდენდით ტემპერატურული შოკით, როგორც ცნობილია ისინი მიეკუთვნებიან ე.წ. „სიცივის აგლუტინინებს“ და მაღალ ტემპერატურაზე ისინი ადვილად იშლებიან, ამიტომაც პაციენტთა პლაზმის დამუშავება მოხდა 30-40 წუთის განმავლობაში 70°C წყლის აბაზანის გამოყენებით. მხოლოდ ამის შემდეგ იყო შესაძლებელი ანტი-A, ანტი-B იმუნური ანტისხეულების გამოკვლევა კუმბსის ცდით.

ექსპერიმენტული ნაწილი კვლევის მასალა და მეთოდიკა

ჩვენი კვლევის ძირითად ობიექტს წარმოადგენს ორი - ახალშობილები, სისხლის დონორების - სამიზნე ჯგუფი. საკვლევ მასალად სისხლის დონორების შემთხვევაში გამოყენებული იქნა ვენური სისხლი. ახალშობილების შემთხვევაში კი ბიოლოგიური მასალა აღებული იქნა, როგორც ჭიპლარის ვენიდან, ასევე ახალშობილთა პერიფერიული ვენიდან. ერთორციტურ ჯგუფურ ანტიგენებზე გამოკვლეული იქნა 85 ახალშობილისა და 1009 დონორის სისხლის ნიმუში.

მსოფლიოს ჯანდაცვის ორგანიზაციის (WHO) დაშვებული და რეკომენდირებული ნორმების შესაბამისად დონაციაში მონაწილეობას იღებს გარკვეული ასაკობრივი ჯგუფის მქონე ადამიანები. ჩვენს მიერ შესწავლილ დონორთა ასაკი 18-60 წელია. დონორების დაშვებული წონა არის მინიმუმ 50 კგ. დონორად აღიარების აუცილებელ პირობას წარმოადგენს სისხლში ჰემოგლობინის დონე, რომელიც სქესის მიხედვით განსხვავებულ ნორმულ მონაცემს აჩვენებს. დონორი მამაკაცებისათვის ჰემოგლობინის დონე უნდა იყოს არა უმდაბლეს 130.0 გ/ლ, ხოლო დონორი ქალებისათვის კი ეს მონაცემი არა უმდაბლეს 120.0 გ/ლ-ია. მსოფლიო მასშტაბით სისხლის დონორების დიდი ნაწილი მამრობითის სქესისაა. ჩვენს მიერ შესწავლილი დონორების დიდი ნაწილი ასევე მამრობითი სქესის წარმომადგენელია. შესწავლილი

1009 დონორიდან მხოლოდ 233 ქალი დონორია. რატემა უნდა ქალი დონორების სიმცირე გამოწვეულია იმით, რომ დონაციის გამო ჰემოგლობინის დონე საგრძნობლად იკლებს ადამიანში და ქალებს მამაკაცებთან შედარებით ბევრად დაბალი აქვს ჰემოგლობინი, ასევე ჰემოგლობინის დონის შემცირება ქალებში დაკავშირებულია სხვადასხვა ფიზიოლოგიურ პროცესებთან, მათ შორის მენსტრუაციულ ციკლთანაც.

რაც შეეხება დონორების ეროვნულ კუთვნილებას. შესწავლილი სისხლის დონორების უდიდესი ნაწილი ქართველია, მარამ ერთეულ შემთხვევებში გვხვდება სომხური, აზერბაიჯანული, ოსური, რუსული და სხვა წარმომავლობის მქონე დონორები.

დონორთა და ახალშობილთა საკვლევი ბიოლოგიური მასალა სისხლის სახით აღებულია ბიოეთიკის ნორმების დაცვით. ქ. ბათუმის შპს ჯანმრთელობის ცენტრ მედინას კლინიკის ბიოეთიკის კომიტეტის დასკვნის საფუძველზე შესაძლებელი გახდა ლაბორატორიაში კვლევისათვის შემოსული სისხლის ნიმუშების გამოყენება, რაც იმას ნიშნავს, რომ არც დონორების და არც ახალშობილების შემთხვევაში სისხლის ნიმუშების შესაგროვებლად ჩვენ არ ვახდენდით დამატებით ინვაზიას. სადოქტორო ნაშრომში გაანალიზებული საკვლევი მასალა აღებულია ხუთწლიანი დინამიკით (2015-2020 წწ.).

სამეცნიერო კვლევა განხორციელდა სხვადასხვა მიმართულებით:

1. ახალშობილებში ABO სისტემის ანტიგენ-ანტისხეულთა ექსპრესიის თავისებურებების შესწავლა.
2. დონორებში ოთხივე ჯგუფური სისტემის (ABO, RH, KELL, MNS) კომბინაციის და სიხშირის მახასიათებლების შესწავლა.
3. სისხლის ქვეჯგუფების იდენტიფიკაცია და მისი მახასიათებლების შეფასება;
4. ბუნებრივი და იმუნური ანტისხეულების თვისობრივი და რაოდენობრივი მახასიათებლების შეფასება.

studying the serological properties of the H antigen in both donors and newborns.

Serological properties of the H-antigen were analyzed in 40 donors and 17 newborns studied by us. Each phenotypic group (0 (I), A (II), B (III) and AB (IV) of the ABO system) is taken from 40 donors in equal amounts (10-10). Also, 5 samples for each group were analyzed in newborns with group 0 (I), A (II), B (III), and in the case of group AB (IV), only two samples (due to the fact that out of 85 examined newborns, only two of them were carriers of the AB specificity).

In all donors of the O (I) phenotypic group taken for analysis, the H antigen showed strong agglutination, which means that the H antigen is present in large quantities in the erythrocytes of the O (I) group carriers (figure 22;table 16).

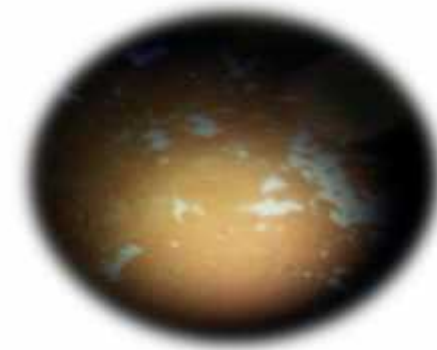


Figure № 16. Strong ability of agglutination H antigen in donors with phenotypic group O (I)

Table № 20. serological properties of donors with group 0 (I)

samples	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-H	A erythr.	B erythr.
1	-	-	-	+(strong agglutination)	+	+

Table № 19. Subgroups of antigen A in newborns.

ABO phenotypes	Subgroup	N	%
A	A1	6	7
	A2	32	37
AB	A1B	0	0
	A2B	2	2
total		2	46

It should be noted that the prevalence of the A2 and A2B phenotypes identified serologically in newborns is associated with an incomplete synthesis of blood group antigens. As we have already mentioned in the literature section, for the full expression of antigens of the ABO system, the postnatal period of development is necessary, therefore, erythrocytes of group A1 in newborns do not show a serological reaction to anti-A lectin due to incomplete synthesis. Thus, serologically the A1 subgroup reveals signs of mimicry in the A2 subgroup, which is a variable feature at the next stage of ontogenesis.

H antigen and features of its screening in newborns and donors

The H group system is considered one of the most important systems among the erythrocyte group antigens. Unlike other antigens of the erythrocyte group, this system contains only one minor -the H antigen. As it was mentioned in the literature section, the H antigenic system is a genetic system independent of the ABO system. The loci of the coding genes of antigens of the H and ABO systems are located on different non-homologous chromosomes. However, it is generally known that the H antigen plays an important and crucial role in the serological formation of antigens of the ABO system. In the synthesis of antigens, A and B, they play the role of so-called precursor substance. We were interested in

საკვლევი მასალა მოწოდებული იქნა შპს ირის ბორჩა-შვილის სახელობის ჯანმრთელობის ცენტრი მედინის ჰემატოლოგიის ლაბორატორიიდან, მასალის დამატებითი ლაბორატორიული ანალიზი კი განხორციელდა ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის იმუნოგენეტიკის ლაბორატორიის ბაზაზე.

ახალშობილთა და დონორთა ბიოლოგიური მასალის შეგროვება ხდებოდა სპეციალური ანტიკოაგულანტიანი (EDTA) სინჯარებით. ერითროციტური ჯგუფსპეციფიკური ანტიგენებისა და ანტისხეულების გამოვლენის მიზნით გამოყენებული იქნა სისხლის პლაზმა და ერითროციტური მასალა (სურ.1).



სურათი 1 დონორთა სისხლის ნიმუშები

კვლევის იმუნოლოგიური მეთოდები იმუნოლოგიური ექსპრეს მეთოდი მონოკლონური ანტისხეულების გამოყენებით.

კვლევისას გამოყენებული იქნა ექსპრეს მეთოდი მონოკლონური ანტისხეულებით. ჩვენს მიერ კვლევისას გამოყენებულ მონოკლონებს მიეკუთვნება: ანტი- A, -A1, -H(A2), AB, D, B, K, k, M, N, S,s, C, c, Cw, D, E, e. აღნიშნული მეთოდი სისხლის წითელი უჯრედების მემბრანაზე არსებული

ჯგუფსპეციფიკური ანტიგენების გამოვლენის საშუალებას იძლევა (სურ.2). ჩვენს მიერ გამოყენებულია როგორც ფირფიტული, ასევე სინჯარული მეთოდები. აღნიშნული მეთოდის გამოყენებით დონორთა ერითროციტურ მასალაში ვახდენდით A, AB, D, B, Kell, M, N, C, c, D, E, e ერითროციტური ანტიგენების თავისებურებების კვლევას ანუ სხვადასხვა სპეციფიური მონოკლონური ანტისხეულების გამოყენებით ვახდენდით სისხლის ჯგუფების ფენოტიპირებას. ზემოთხსენებული ექსპრეს ფირფიტული და სინჯარული მეთოდი კი დაფუძნებულია მსგავსი სპეციფიკურობის მქონე ანტიგენ-ანტისხეულების აგლუტინაციის უნარზე.



სურათი 2. ექსპრეს ფირფიტული მეთოდი მონოკლონური ანტისხეულების გამოყენებით

აღნიშნული მეთოდების გამოყენებით აგლუტინაციის შეფასება ხდება შეუიარაღებელი თვალით, მაგრამ ცრუ და სუსტი აგლუტინაციის გამოვლენას ვახდენდით (ოპტიკური) სინათლის მიკროსკოპის გამოყენებით. სხვადასხვა გადიდების ლინზების

donors carry antigen A, 44 of them belong to the phenotypic group A (II), and the remaining 2 are carriers of the AB (IV) phenotype.

Our research has shown that the response of erythrocytes to anti-A1 lectin in newborns is very low. In most cases, there is no reaction. In rare cases, very low agglutination is expressed. The table below shows the four variants identified in the studied samples of newborns (table 18

Table № 18 Serologic tests of samples from newborns.

samples	Anti-A	Anti_B	Anti-AB	Anti-A lectin	Anti-H lectin	Interpretation of results
1	+	-	+	-	+	A2
2	+	-	+	+ (very weak agglutination)	+	A1
3	+	+	+	-	+	A2B
4	+	+	+	+ (very weak agglutination)	+	A1B

As shown in the table below, the frequency of distribution of subgroups A1 and A2 is uneven in newborns. If A2 and A2B are considered rare phenotypes in donors, their number prevails over A1 and A1B phenotypes in newborns. 7% of the studied newborns carry subgroup A1. Subgroup A2 occurs in 37% of cases. As for the two newborns with the AB (IV) phenotype group, A2B was serologically detected in them.

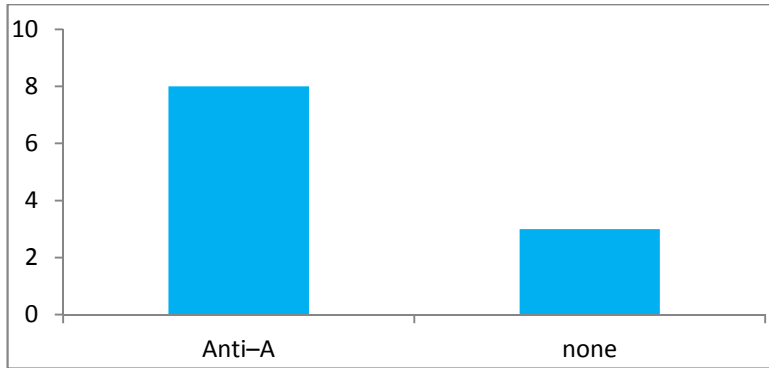


Figure № 15. the frequency of detection of antibodies in the plasma of newborns with group B (III)

Of the 85 examined newborns, only two belonged to the AB (IV) group. As it is known, the plasma of adults of the fourth group does not contain any antibodies. A similar picture was observed in newborns.

Subgroups of antigen A in newborns with the group A(II) and B(IV)

To determine the blood group of newborns, we used a serological plate and test methods. An additional study using anti-A1 and anti-H lectins was performed in each newborn with phenotypes A (II) and AB (IV). Based on serological tests, we had the opportunity to study subgroups A1/A1B, A2/A2B and weak A. The sample is considered a subgroup A1 in the case of both anti-A and A1 lectin, when the degree of agglutination is well expressed. The sample was considered a subgroup A2, when the degree of agglutination with anti-A-antibody was assessed as 4⁺, but the response to anti-A-lectin was negative. In the case of weak agglutination (1⁺ or 2⁺) with anti-A antibody and negative response to anti-A lectin the sample was considered as a weak sub-group of antigen A. We were interested in how these variations were distributed among the studied newborns. when studying subgroups, a completely different picture developed in newborns compared to donors. 46% of the studied

(4X10, 10X10 და 40X10) გამოყენებით მიკროსკოპის მხედველობის არეში ვაფიქსირებდით აგლუტინირებულ ერითროციტებს (სურ.3). აღნიშნული მიკროსკოპირების გამოყენებით შეგვეძლო სხვადასხვა ხარისხის (სუსტი, საშუალო, ძლიერი) აგლუტინაციის დაფიქსირება.

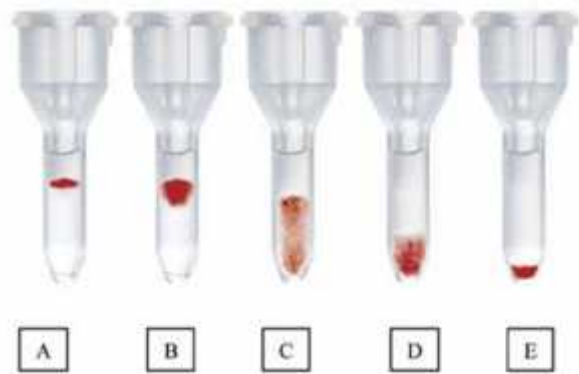


სურათი 3. სისხლის ნიმუშების მომზადება მიკროსკოპში დასათვალიერებლად

სვეტური აგლუტინაციის მეთოდი

ახალშობილთა და დონორთა ჯგუფის, რეზუსის განსაზღვრა ხდებოდა ასევე სვეტური აგლუტინაციის მეთოდით. საკვლევად გამოყენებული იქნა AHG (anti human globulin) ფირფიტები.

ID ბარათების უპირატესობა გამოიხატება იმაში, რომ სამ განზომილებაში შეიძლება დააკვირდეთ აგლუტინაციას და სუსტი აგლუტინაციის შემთხვევაშიც კი შესაძლებელია მისი დაფიქსირება. A შეესაბამება 4⁺ და აღნიშნავს ყველაზე კარგად გამოხატულ აგლუტინაციას, B შეესაბამება 3⁺ და აგლუტინაციის საშუალო ხარისხია, C შეესაბამება 2⁺, D შეესაბამება 1⁺, ხოლო E აღნიშნავს 0-ს და აგლუტინაციის არარსებობას ნიშნავს (სურ.4).



სურათი 4. აგლუტინაციის სხვადასხვა ხარისხი მიკროსინჯარებიან სვეტური გელაგლუტინაციის ბარათებზე

არსებობს ამ ბარათების ორი სახე გელის შემცველი და მინის მიკრობურთულეების შემცველი.

მძიმე ანამნეზის მქონე ახალშობილებში ვიყენებდით ორთავე ტიპის ბარათებს. ბარათზე აგლუტინაციის პრინციპი შემდეგში მდგომარეობს: მიკროსინჯარაში მოთავსებულია გელი ან მიკრობურთულეები და იმის მიხედვით რას ვსაზღვრავთ ანტიგენს თუ ანტისხეულს, დამატებულია მზა რეაგენტი (სურ. 5). თუ ანტიგენს ვსაზღვრავთ ერითროციტის ზედაპირზე, მაშინ მიკროსინჯარაში მოთავსებულია ანტისხეული და მას ვამატებთ პაციენტის ერითროციტულ მასას. თუ ანტისხეული უნდა განვსაზღვროთ პაციენტის შრატში, მაშინ თითოეულ მიკროსინჯარას ემატება სტანდარტული ერითროციტული მასა A1 და B ანტიგენების შემცველი (სურ.6), შემდეგ თითოეულ სინჯარას ვამატებთ პაციენტის შრატს ბარათი ინკუბირდება 10 წუთი ინკუბატორში (სურ. 7) და შემდეგ ცენტრიფუგირდება სპეციალურ ID ბარათების ცენტრიფუგაში (სურ. 8)

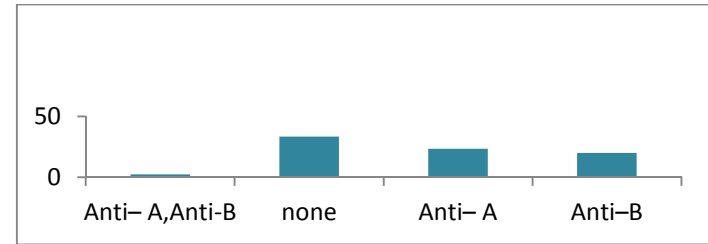


Figure № 13. Presence of natural antibodies in newborns with O (I) group

As known, only anti-B antibodies are expressed in the blood plasma of an adult with group A (II). of the 38 newborns examined, the expected result was found in 23 cases, just as it should be in adults, and none of the natural antibodies was detected in 14 newborns. There was one interesting and unexpected result when both anti-A and anti-B were found. (figure 14). It is possible that the anti-A antibody is of the immune type.

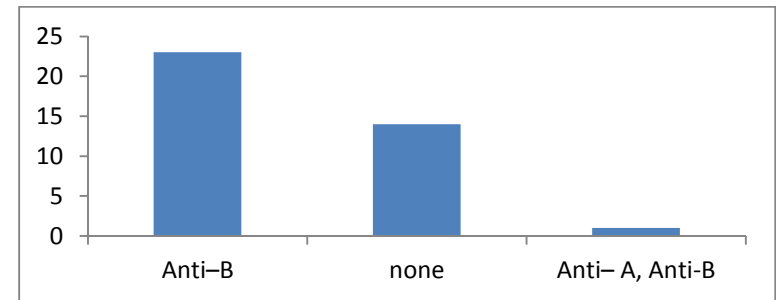
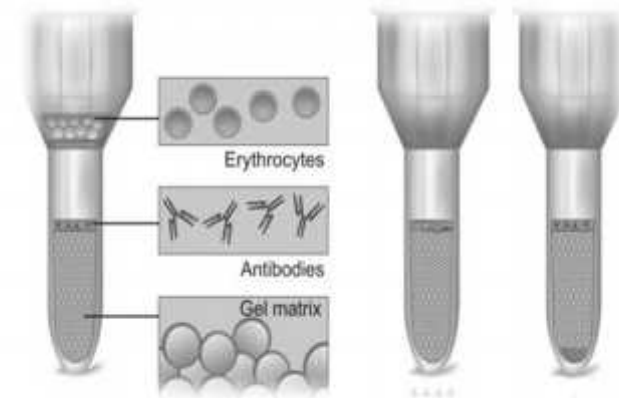


Figure № 14. the frequency of detection of antibodies in the plasma of newborns with group A (II)

Anti-A antibodies alone were to be detected in the plasma of 11 newborns with group B (III). Only 8 of them showed an antibody anti-A, and in the remaining three cases no antigen was detected (Figure 15).

Table №17 frequency of distribution of genes of ABO system in newborns

$r = \sqrt{O}$	0,6
$p = 1 - \sqrt{A + O}$	0,1
$q = 1 - \sqrt{B + O}$	0,3



სურათი 5. სვეტური აგლუტინაციის პრინციპი

Where O, A and B are the ratio of people carrying O(I), A (II) and B (III) groups to the total number of research objects .

Gene distribution frequency of the ABO system in the studied newborns was also analyzed. Their frequency was calculated using the formula used in the study of the three-allelic genetic system. r, p, q alleles was detected with the highest frequency in the studied donors and is equal to 0,6, while the prevalence of the q allele lags significantly behind and is 0.3, and the frequency of the p allele is the lowest - 0.1(table 17).

In parallel with the screening of group antigens of newborns, we were interested in the features of detecting group-specific antibodies in this target group. As known from the literature, carriers of the O (I) group have both anti-A and anti-B antibodies in their blood plasma. The expression of group-specific antigens in newborns with group O (I) differs from that in adults. 2.3% of the examined newborns with the O (I) group carried both anti-A and anti-B antibodies, while none of the antibodies was detected in 33.3% of cases, and 23.3% of newborns carried only anti-A antibody while 20% carry anti-B antibodies only (figure 13).



სურათი 6. დონორებში სისხლის ჯგუფისა და რეზუსის დადგენა გელ სვეტური აგლუტინაციით მეთოდით ID ბარათებზე



სურათი 7. ID ბარათების ცენტრიფუგა



სურათი 8. ID ბარათების ინკუბატორი

გარდა ჯგუფის და რეზუსის განსაზღვრისა ამავე ბარათებით ვატარებდით პირდაპირი კუმბსის მეთოდს (სურ.9).

In none of the cases studied, immune anti-A and anti-B antibodies were not detected. Research in this area requires a larger target group. In this regard, it is necessary to carry out more tests, since immune antibodies are produced in isolated cases associated with pregnancy with an immune conflict or incompatible blood transfusion.

Features of the determination of antigens and antibodies of the erythrocyte group in newborns

Determining the blood group of a newborn is one of the first laboratory tests carried out for a newborn after birth. Biological material can be taken from both the umbilical cord and the peripheral blood of the newborn. The collection of blood from the umbilical cord requires some care so as not to contaminate biological material, which may affect the serological expression of antigens and cause false agglutination and / or non-specific reactions which leads to misinterpretation of results.

We examined biological material of 85 newborns. Phenotypic groups of the ABO system in newborns are unevenly distributed. Of the 85 examined newborns, 34 had group I (O), 38 had group A (II), 11 had phenotypic group B (III), and 2 newborns had blood group AB (IV) (figure 12).

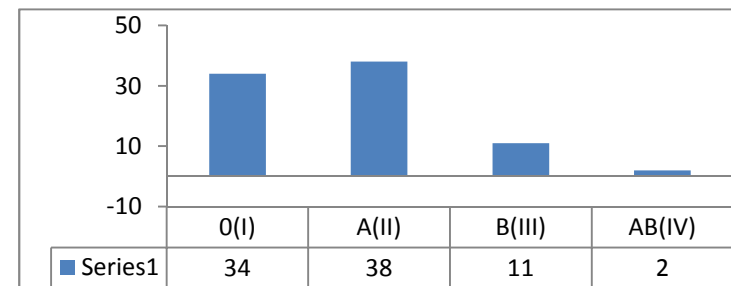


Figure №12. frequency of distribution of ABO phenotype in the studied newborns

We also studied the titer of these antibodies. In all cases, antibodies were present with a high titer (minimum 1: 512), but it should be noted that the titer of anti-A-antibody is much higher in all cases studied in comparison with anti-B-antibody (table 13,14,15,16).

Table 13. group-specific antigen-antibodies

Blood groups	Erythrocyte antigen	Natural antibody (corresponding titre)
O (I)	-	Anti-A, Anti-B
A (II)	B	Anti-B
B (III)	A	Anti - A
AB (IV)	A, B	--

Table № 14. Titer of group-specific antibodies in samples of group O (I)

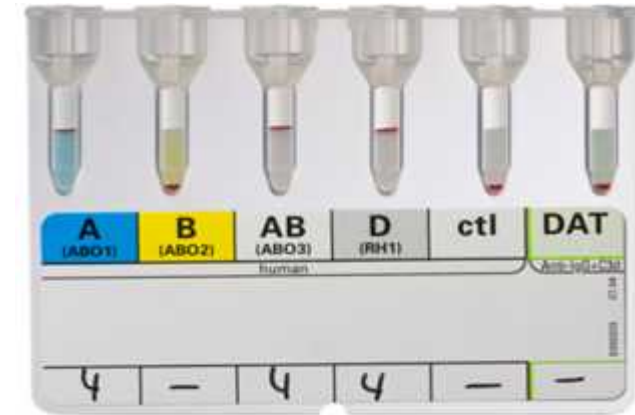
Anti-A	Anti-B
1:1024	1:1024
1:1024	1:1024
1:2048	1:512
1:1024	1:1024
1:2048	1:1024

table № 15. titer of group-specific antibodies in samples of group A (II)

	1	2	3	4	5
Anti-A	1:1024	1:1024	1:512	1:1024	1:1024

table № 16. titer of group-specific antibodies in samples of group B (III)

	1	2	3	4	5
Anti-B	1:1024	1:1024	1:512	1:512	1:1024



სურათი 9. ახალშობილთა ჯგუფის განსაზღვრისა და პირდაპირი კუმბსის მეთოდი ახალშობილთა ერითროციტულ ანტიგენებზე ანტირეზუს ანტისხეულების ადსორბციის დადგენის მიზნით

ჯვარედინიზაციის ანუ რევერსიული მეთოდი

კვლევისას გამოყენებული იქნა იმუნოსეროლოგიაში აპრობირებული ჯვარედინიზაციის მეთოდი, რომელიც ხშირად გამოიყენება ABO სისტემის ფენოტიპირებისათვის. ითვალისწინებს ერთდროულად ერითროციტის მემბრანაზე ფიქსირებული A და B ანტიგენისა და პლაზმაში ანტი-A და ანტი-B ანტისხეულების გამოვლენას. კვლევის დროს გამოყენებული იქნა ანტი-A და ანტი-B მონოკლონური ანტისხეულები და II, III ჯგუფის სტანდარტული ერითროციტები

ბუნებრივი და იმუნური ანტისხეულების კვლევის მეთოდები

ABO სისტემის ანტი-A და ანტი-B ბუნებრივი ანტისხეულების გამოვლენა ხდებოდა ზემოთ აღწერილი ჯვარედინიზაციის და/ან რევერსიული მეთოდებით. ერითროციტური ბუნებრივი ანტისხეულების გამოსავლენად ვიყენებდით A და B ჯგუფის სტანდარტულ ერითროციტებს. აღნიშნული სისტემის ანტი-A და ანტი-B იმუნური ანტისხეულების გამოსავლენად ერთ-ერთ

მნიშვნელოვან და აუცილებელი პირობას ჯგუფსპეციფიკური ბუნებრივი ანტისხეულების აქტივობის ჩაშლა წარმოადგენს.

ბუნებრივი ჯგუფსპეციფიური ანტისხეულების დათრგუნვას ვახდენდით ტემპერატურული შოკით, როგორც ცნობილია ისინი მიეკუთვნებიან ე.წ. „სიცივის აგლუტინინებს“ და მაღალ ტემპერატურაზე ისინი ადვილად იშლებიან, ამიტომაც პაციენტთა პლაზმის დამუშავება მოხდა 30-40 წუთის განმავლობაში 70° C წყლის აბაზანის გამოყენებით.

მხოლოდ ამის შემდეგ იყო შესაძლებელი ანტი-A და ანტი-B იმუნური ანტისხეულების გამოკვლევა კუმბსის ცდით.

იმუნური და ბუნებრივი ანტისხეულების შესასწავლად გამოვიყენეთ ანტი-ჰუმან გლობულინის ტესტი. იგი მოიცავს ორ მეთოდს: არაპირდაპირ და პირდაპირ ტესტს. არაპირდაპირი ანტი-ჰუმან გლობულინის ტესტით იმუნური ანტისხეულების აღმოსაჩენად გამოვიყენეთ დონორისა და ახალშობილის პლაზმა (იმუნური ანტისხეულების აღმოსაჩენად პაციენტის ბუნებრივი ანტისხეულები წინასწარ ჩავშალეთ 70°C 30-40 წუთის განმავლობაში წყლის აბაზანის გამოყენებით) და დონორის ერითროციტული სუსპენზია.

ქვემოთ მოცემულია ანტი-ჰუმან გლობულინის არაპირდაპირი ტესტის ეტაპები:

1. მოვათავსეთ ერთი წვეთი პაციენტის შრატის კვლევისათვის სინჯარაში;
2. დავამატეთ ერთი წვეთი 3-5% ერითროციტული სუსპენზია;
3. ინკუბაცია 15-60 წუთი 37°C და შევამოწმეთ აგლუტინაციაზე;
4. ერითროციტები გავრეცხეთ სამჯერ ფიზიოლოგიური ხსნარით და გადავღვარეთ ზემოთა სუპერნატანტი (1500 ბრუნზე-1-2 წუთი);
5. დავამატეთ ნალექს 2 წვეთი ანტი ჰუმან -გლობულინი და დავაცენტრიფუგეთ 1 წუთი 1500 ბრუნზე;

a case with a low percentage, when the plasma did not contain any of the above antibodies due to the fact that the frequency of distribution of the phenotypic group AB (IV) is low in the studied target group (figure 11).

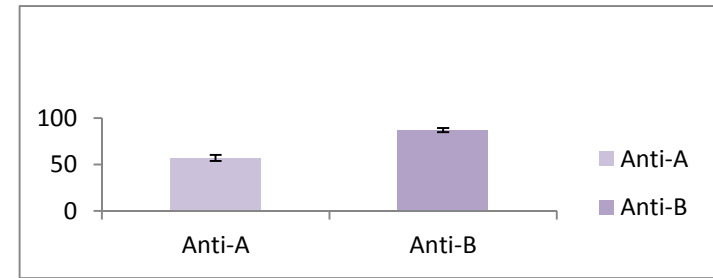


Figure №10. Frequency of distribution of natural antibodies (anti-A and anti-B) in the studied donors (n=237).

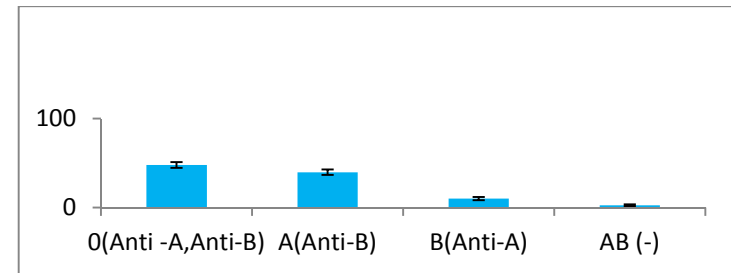


Figure №11. Frequency of distribution of natural antibodies (anti-A and anti-B), taking into account the blood group of the studied donors.

We were also interested in studying the quantitative characteristics of antibodies. (titr). To do this, we randomly selected 20 donors. Natural antibodies of 20 donors were studied and their titer was determined (5 samples were taken for each phenotypic group). The expected results were observed in all of them: both anti-A and anti-B antibodies were found in donors of blood group O (I), in the case of group A (II) only anti-B antibodies were detected while none of the group-specific antibodies was found in individuals with blood group AB (IV) (table 6).

As shown in the table, the distribution frequency of subgroups A1 and A2 is uneven. A2 and A2B are considered relatively rare phenotypes. These two phenotypes differ from A1 and A1B phenotypes by a negative response to Anti-A1 lectin. Subgroup A1 occurs in 324 cases among donors with A (II) phenotypic group. A small proportion of this group of donors (n = 25) belong to subgroup A2. As for the AB (IV) phenotypic group, two subgroups A1B and A2B were identified in the studied donors. 63% (n = 12) of nineteen donors with phenotypic group AB (IV) is characterized by phenotypic specification A1B, and 37% have A2B.

From the above, it can be noted that the A2 subgroup in the studied population is characterized by a rather low prevalence. The rate of distribution is only 4.05%. It should be noted here that among the studied A (II) and AB (IV) phenotypic groups, weak subgroups were not identified.

Natural and immune antibodies in donors

As it is known, the presence of natural group-specific antibodies is characteristic only for the ABO system. Natural antibodies (anti-A and anti-B) were detected in donors by the reverse method of determining the blood group, for which the donor plasma and standard erythrocyte masses A (II) and B (III) were used. Natural antibodies of 237 donors (anti-A and anti-B) were studied.

The distribution frequency of natural anti-A antibody in the studied donors is 57%, and for anti-B antibody - 87% (Figure 10).

10% of the donors studied by us carried only anti-A antibody, which is characteristic of the phenotypic group B (III). 39.6% of the plasma of the examined donors carried only anti-B antibodies, which are usually characteristic of donors with the A (II) phenotype. 47.6% of donor plasma contains both anti-A and anti-B antibodies, and, accordingly, these donors belong to the blood group O (I). We identified

6. შევანჟდრით კარგად და შევამოწმეთ აგლუტინაციაზე.

ხოლო პირდაპირი ანტი-ჰუმან გლობულინის ტესტით იმუნური ანტისხეულების აღმოსაჩენად გამოვიყენეთ დონორის/ახალშობილის პლაზმა და ასევე მათი ერთთროციტული სუსპენზია და მივყევით შემდეგ თანმიმდევრულ ეტაპებს:

1. დონორის/ახალშობილის ერთთროციტები ფიზიოლოგიური ხსნარით სამჯერ გავრეცხეთ და გადავასხით სუპერნატანტი;
2. მოვამზადეთ 3-5%-იანი ერთთროციტული სუსპენზია ფიზიოლოგიური ხსნარით;
3. მოვათავსეთ ერთი წვეთი ერთთროციტული სუსპენზია სინჯარაში;
4. დავამატეთ ერთი წვეთი კუმბსის შრატი და შევანჟდრით;
5. დავაცენტრიფუგეთ 1 წუთი 1500 ბრუნზე;
6. შევანჟდრით კარგად და შევამოწმეთ აგლუტინაციაზე.

სტატისტიკური მეთოდები

ABO სისტემის გენების ალელების გავრცელების სიხშირე გამოთვლილი იქნა ფორმულით, რომელიც შემოთავაზებული იქნა F. Bernstein მიერ და გამოიყენება სამალელიანი გენეტიკური სისტემის კვლევისას. 0, A და B გენების სიხშირე მოცემულ შემთხვევაში აღნიშნული იქნება r , p და q ასოებით:

$$r = \sqrt{O};$$

$$p = 1 - \sqrt{A + O};$$

$$q = 1 - \sqrt{B + O}$$

სადაც 0, A და B – 0(I), A(II) და B(III) ჯგუფის მტარებელ ადამიანთა თანაფარდობაა საკვლევ ობიექტთა საერთო რაოდენობასთან მიმართებაში.

Rh სისტემის გენებისა და ჰაპლოტიპების სიხშირე გამოთვლილი იქნა შემდეგი ფორმულების გამოყენებით :

1. $D = 1 - \sqrt{dd}$;
2. $C = 1 - \sqrt{cc}$;
3. $E = 1 - \sqrt{ee}$;
4. $c = 1 - \sqrt{CC}$;
5. $e = 1 - \sqrt{EE}$.

სადაც D, C, E, c, e – გენების მტარებელ პირთა რაოდენობაა საკვლევი მასალის რაოდენობასთან თანაფარდობაში, dd, cc, ee, CC და EE – შესაბამისი ფენოტიპების სიხშირე. Rh ჰაპლოტიპების სიხშირე გამოითვლება A. E. Mourant მიერ შემოთავაზებული ფორმულით:

1. $cde = \sqrt{ccddee}$;
2. $Cde = \frac{ddee}{2cde}$;
3. $cdE = \frac{ddEe}{2cde}$
4. $cDe = \frac{ccDee}{2cde}$;
5. $cDE = \sqrt{ccDEE + cdE^2} - cdE$;
6. $CDe = \sqrt{CCDee + Cde^2} - Cde$;
7. $CDE = \frac{CCDEe}{2(CDe + cde)}$

სადაც ccddee, Ccddee, ccddEe, ccDee, CCDee და ccDEE – შესაბამისი ფენოტიპების სიხშირეა .

RhD და Kell სისტემის ალელების კონცენტრაცია გამოთვლილი იქნა შემდეგი ფორმულით:

$$q = \sqrt{\frac{n_{aa}}{N}} , \quad p = 1 - q$$

blood donors as they are officially donors nationality is different and donors belong different ethnic groups.

Antigens A1 and A2 in blood donors

Group-specific antigen A is expressed on the erythrocyte membrane of people with two phenotypic groups. These are phenotypes A(II) and AB(IV). As discussed in the literature section, the A antigen is generally present in several subgroups that show varying prevalence (Saboor M...2010; Mohieldin E.....2015).

These are: variations of A1, A2 and weak A antigens. In the next step All with phenotypes A (II) and AB (IV) were tested using A1 lectin. The sample is considered a subgroup A1 in the case of both anti-A and A1 lectin, when the degree of agglutination is well expressed. The sample was considered a subgroup A2, when the degree of agglutination with anti-A-antibody was assessed as 4+, and the response to anti-A-lectin was negative. The sample was considered as a weak sub-group of antigen A in the case of weak agglutination (1+ or 2+) with anti-A antibody and negative response to anti-A lectin. We were interested in how these variations were distributed among the studied donors.

Of the 1009 donors studied, 349 are carriers of phenotypic group A (II) while 19 donors carry AB (IV) group specification. This means that 36.23% of the donors studied have antigen A on the erythrocyte membrane. The vast majority of them carry this antigen in the form of A1 variation (tabela12).

Table № 12. prevalence of A and AB sub-groups of phenotypes among donors (n=368).

ABO phenotypes	Subgroup	n	%
A	A1	324	32,11
	A2	25	2,47
AB	A1B	12	1,18
	A2B	7	0,69
Total		368	36,45

Table №11 . CC, Cc,cc, EE, Ee, ee phenotypes combination with Rh+ and Rh- case.

	Rh+	Rh-
CC	17,42%±1,29	0,46%±0,2
Cc	49,06%±1,7	1,76%±0,4
Cc	17,42%±1,29	13,3%±1,1
EE	5,1%±0,7	0,23%±0,1
Ee	31,8%±1,5	0,9%±0,3
Ee	47,44%±1,7	14,43%±1,2

In our previous work we studied the distribution of these genotypes in Adjara population (M. Nagervadze, 2011). As they are potential recipients. The distribution frequency of CC genotype in Adjara population was equaled to 8%. Implying that carriers of this genotype don't consist in c antigen and during transfusion only 17,88 % of the cases they received the blood from CC donors. In the majority of cases they are at high risk of immunosensibilization by anti-c antibodies, because theoretically 82,12% of cases they received the blood from Cc and cc donors. The immunization risk by anti-c antibodies is 82,2% cases. Only 17,88% of the cases of transfusion with CC genotypic donors are safe.

We have found differences in the distribution of Rh phenotypes between blood donors and Adjara population, for instance, there are more phenotypic variation among blood donors than Adjara population. Six Rh-phenotypic groups with various frequency distributions were fixed for Adjara region population (18). In the same region example of one clinic blood donors we allocated 2,8 times more Rh phenotypic characteristics (Figure 2). We think that this differences reason is that on the study of Rh antigens in Adjara population level we took our attention on the nationality. All participants were Georgens. In case of

სადაც n_{aa} აღნიშნული ლოკუსების მიხედვით რეცესიული ჰომოზიგოტებია (dd da kk), N - გამოკვლეულ პირთა საერთო რაოდენობა.

MN სისტემის ალელების კონცენტრაციის დასადგენად გამოყენებული იქნა შემდეგი ფორმულები:

$$P = \frac{n_A + \frac{1}{2}n_{AB}}{N}, \quad q = \frac{n_B + \frac{1}{2}n_{AB}}{N}$$

სადაც n_A - M ფენოტიპის მტარებელთა რაოდენობაა, n_B - MN ფენოტიპებისა, ხოლო n_{AB} - N ფენოტიპის მტარებელთა რაოდენობაა.

სადაც n_A - M ფენოტიპის მტარებელთა რაოდენობაა;

n_{AB} - MN ფენოტიპებისა, ხოლო n_B - N ფენოტიპების მტარებელთა რაოდენობა.

ანტიგენებისა და გენების სიხსირის ცდომილებები გამოთვლილი იქნა ფორმულით :

$$M = \sqrt{P(100 - P) / n} \quad (\text{Ypna, 1975}), \text{ სადაც } P - \text{ანტიგენების}$$

სიხშირე %, n - საკვლევი ობიექტების რაოდენობა.

დამოუკიდებლობის ხი-კვადრატ კრიტერიუმი (Chi-square Test of Independence) - გამოიყენება იმის დასადგენათ, არის თუ არა კავშირი ორ თვისობრივ ცვლადს შორის. χ^2 - სტატისტიკა ზომავს ჯამურ განსხვავებას დაკვირვებულ და მოსალოდნელ სიხშირებს შორის. χ^2 - სტატისტიკის დიდი მნიშვნელობა მიუთითებს იმაზე, რომ დაკვირვებულ და მოსალოდნელ სიხშირებს შორის არის დიდი განსხვავება, რაც იმას ნიშნავს, რომ ცვლადებს შორის არსებობს კავშირი.

გადასაწყვეტია საკმარისად დიდია თუ არა მიღებული χ^2 მნიშვნელობა ნულოვანი ჰიპოთეზის უარყოფისათვის? ამისათვის უნდა ვიპოვოთ კრიტერიუმის კრიტიკული (CV) მნიშვნელობა,

რომელიც დამოკიდებულია თავისუფლების ხარისხზე და მნიშვნელოვნების დონეზე (ცხრ.1). χ^2 - სტატისტიკის თავისუფლების ხარისხი გამოითვლება ფორმულით : $df=(a-1)(b-1)$, სადაც a და b შეუღლების ცხრილის სტრიქონებისა და სვეტების რაოდენობაა. თუ χ^2 - ის გამოთვლილი მნიშვნელობა მეტია კრიტიკულ მნიშვნელობაზე, ეს გვაძლევს საფუძველს უარყოფით ნულოვანი ჰიპოთეზა და დავასკვნათ, რომ არსებობს კავშირი ორ ცვლადს შორის.

ცხრილი 1. კრიტერიუმის კრიტიკული (CV) მნიშვნელობა

df	0,995	0,99	0,975	0,95	0,90	0,10	0,05	0,025	0,01	0,005
1	0,001	0,004	0,016	2,706	3,841	5,024	6,635	7,879
2	0,010	0,020	0,051	0,103	0,211	4,605	5,991	7,378	9,210	10,597
3	0,072	0,115	0,216	0,352	0,584	6,251	7,815	9,348	11,345	12,838
4	0,207	0,297	0,484	0,711	1,064	7,779	9,488	11,143	13,277	14,860
5	0,412	0,554	0,831	1,145	1,610	9,236	11,070	12,833	15,086	16,750

კვლევის შედეგები და ანალიზი

Rh, Kell და MN ანტიგენების კომბინაცია დონორებში O, A, B, AB – ჯგუფებისათვის.

როგორც მეორე თავში ავლნიშნეთ 1009 სისხლის დონორში შესწავლილი იქნა ოთხი ჯგუფური სისტემის ფენოტიპური კომბინაციები. ოთხი ჯგუფური სისტემის კომბინაციების მიხედვით ჩვენს მიერ გამოყოფილი იქნა თეორიულად მოსალოდნელ 48 ფენოტიპური ვარიაცია (ჯგუფი) (ცხრ.2).

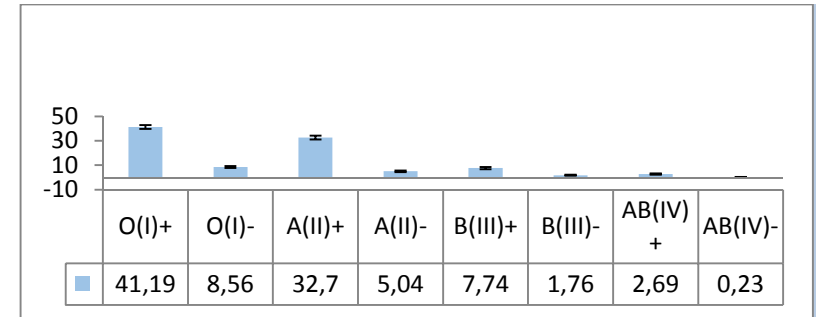


Figure № 9. Frequency of ABO and Rh blood group phenotypes in studied donors (n=852).

Today in our clinics two antigens (A, B) of ABO system and D antigens for Rh system are taken into account during a blood transfusion. For the individuals where those antigens do not occur the theoretical risk of alloimmunization is high. In the viewpoint of transfusion c antigen, among resus system antigens, is also significant. c antigen clinically is the most important Rh antigen after the D antigen. Numerous data about alloimmunization caused by this antigen are presented in the scientific literature.

The Distribution frequency of c antigens within world population is 80-82%. 18-20 % of humans don't have this antigen and are revealed in CC state. Individuals with just this genotype belong to high-risk group of alloimmunization.

We took our attention to cc and Cc genotypic donors, because in both cases their erythrocyte membrane contains c antigens. As we see in our study frequency of cc genotype in the studied donors is 30,72% (ccD+ 17,42% and ccD- 13,3%), Cc genotype frequency was more high and equals 50,82 (ccD+ - 49,06% and CcD- - 1,76%). As we discussed above the recipient who has CC genotype the sensitization by anti-c antibodies is higher. The frequency of CC genotype in studied donors was 17,88% (Table №11).

mentioned phenotypical groups were: O (I), Rh+; O (I), Rh-; A (II), Rh+; A (II), Rh-; B (III), Rh+; R (III), Rh-; AB (IV), Rh +; AB (IV), Rh-. As it is showed from the figure № 5 majority (41,19%) of the studied donors were O (I), Rh+ (n=351). 32,7 % donors belonged to A (II), Rh+ phenotypical group. The frequency of B (III), Rh+ phenotypes was 7,74%. The less frequently (2,69%) from Rh positive phenotypes is spread Rh-; AB (IV), Rh + (Figure 9).

Table № 10 Haplotypes of the Rhesus system in the studied donor

Frequency of phenotypes	
$cde = 0,33$	\sqrt{ccddee}
$Cde = 0,1$	$\frac{ddee}{2cde}$
$cdE = 0,1$	$\frac{ddEe}{2cde}$
$cDe = 0,13$	$\frac{ccDee}{2cde}$
$cDE = 0,23$	$\sqrt{ccDEE + cdE^2} - cdE;$
$CDe = 0,1$	$\sqrt{CCDee + Cde^2} - Cde$
$CDE = 0,02$	$\frac{CCDEe}{2(CDe + cde)}$

ცხრილი 2. Rh, Kell და MN ანტიგენების კომბინაცია დონორებში O, A, B, AB – ჯგუფებისათვის

N	ფენოტიპური კომბინაციები	დონორთა რაოდენობა 1009	პროცენტობა და ცდომილება	Df	χ^2	CV	P
1	O,Rh+ k+ MN	125	12,3% ±1,03	47	3221,16	62.83	P-ს მნიშვნელობა არის < .00001. შედეგით მნიშვნელოვანია p < .05-ზე.
	O,Rh+ k+ MM	96	9,51% ±0,9				
	O,Rh+ K+ NN	31	3,07% ±0,5				
2	O,Rh+ K- MN	38	3,7% ±0,5				
	O,Rh+ K- NN	2	0,19% ±0,1				
3	O,Rh+ K- MM	112	11,10% ±0,9				
	O,Rh- k+ MN	47	4,65% ±0,6				
	O,Rh- k+ MM	0	0				
4	O,Rh- k+ NN	6	0,59% ±0,2				
	O,Rh-K- MN	0	0				
	O,Rh-K- MM	47	4,65% ±0,6				
5	O,Rh-K- NN	0	0				
	A,Rh+ k+ MN	37	3,66% ±0,5				
	A,Rh+ k+ MM	111	11% ±0,9				
6	A,Rh+ K+ NN	27	2,67% ±0,5				
	A,Rh+ K- MN	56	5,55% ±0,7				
	A,Rh+ K- NN	7	0,69% ±0,2				
7	A,Rh+ K- MM	95	9,41% ±0,9				
	A,Rh- k+ MN	0	0				
	A,Rh- k+ MM	0	0				
8	A,Rh- k+ NN	0	0				
	A,Rh-K- MN	16	1,58% ±0,3				
	A,Rh-K- MM	0	0				
9	A,Rh-K- NN	0	0				
	B,Rh+ k+ MN	27	2,67% ±0,5				
	B,Rh+ k+ MM	26	2,57% ±0,5				
10	B,Rh+ K+ NN	0	0				
	B,Rh+ K- MN	33	3,27% ±0,5				
	B,Rh+ K- NN	7	0,69% ±0,2				
11	B,Rh+ K- MM	16	1,58% ±0,3				
	B,Rh- k+ MN	0	0				
	B,Rh- k+ MM	0	0				
	B,Rh- k+ NN	0	0				

12	B,Rh-K- MN	0	0				
	B,Rh-K- MM	0	0				
	B,Rh-K- NN	0	0				
13	AB,Rh+ k+ MN	0	0				
	AB,Rh+ k+ MM	27	2,67% ±0,5				
	AB,Rh+ K+ NN	0	0				
14	AB,Rh+ K- MN	18	1,78% ±0,4				
	AB,Rh+ K- MM	0	0				
	AB,Rh+ K- NN	0	0				
15	AB,Rh- k+ MN	0	0				
	AB,Rh- k+ MM	0	0				
	AB,Rh- K+ NN	0	0				
16	AB,Rh- K- MN	1	0,09% ±0,09				
	AB,Rh- K- MM	1	0,09% ±0,09				
	AB,Rh- K- NN	0	0				

აღნიშნული კომბინაციების მიხედვით ABO სისტემის თითოეულ O, A, B, AB ჯგუფში გამოყოფილია 12 ფენოტიპური კომბინაცია. მაგალითად, სისხლის O (I) ფენოტიპური ჯგუფი სხვა ჯგუფურ სისტემებთან მიმართებაში წარმოქმნის შემდეგ ფენოტიპურ კომბინაციებს:

1.O,Rh+ K+ MN; 2. O,Rh+ K+ MM; 3.O,Rh+ K+ NN; 4.O,Rh+ K- MN; 5.O,Rh+ K- NN; 6.O,Rh+ K- MM; 7.O,Rh- k+ MN; 8.O,Rh- k+ MM; 9.O,Rh- k+ NN; 10. O,Rh-K- MN; 11. O,Rh-K- MM; 12. O,Rh-K- NN .

მსგავსი კომბინაცია გამოყოფილი სისხლის A(II) ფენოტიპური ჯგუფისთვის. ესენია: 1. A,Rh+ K+ MN; 2.A,Rh+ K+ MM; 3. A,Rh+ K+ NN; 4.A,Rh+ K- MN; 5.A,Rh+ K- NN; 6.A,Rh+ K- MM; 7. A,Rh- K+ MN; 8. A,Rh- K+ MM; 9. A,Rh- K+ NN; 10.A,Rh-K- MN; 11.A,Rh-K- MM; 12. A,Rh-K- NN.

თეორიულად მსგავსი ფენოტიპური ჯგუფების გამოყოფა შეიძლება B(III) ფენოტიპისათვის: 1.B,Rh+ K+ MN; 2.B,Rh+ K+ MM; 3. B,Rh+ K+ NN; 4.B,Rh+ K- MN; 5.B,Rh+ K- NN; 6.B,Rh+ K- MM; 7.B,Rh- K+ MN; 8.B,Rh- K+ MM; 9.B,Rh- K+ NN; 10.B,Rh-K- MN; 11.B,Rh-K- MM; 12.B,Rh-K- NN.

AB(IV) ფენოტიპურ ჯგუფს სხვა ჯგუფურ სისტემებთან მიმართებაში თეორიულად შეუძლია წარმოქმნას 12 კომბინაცია,

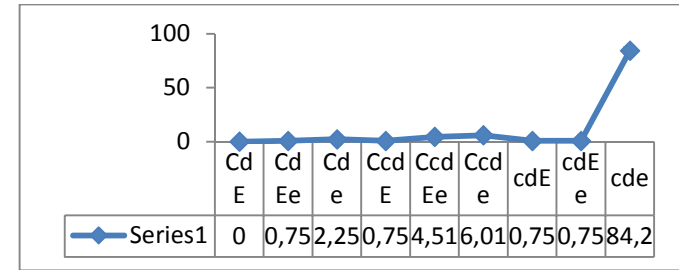


Figure № 8. Phenotype variation in Rh negative donors.

Table № 9. Rh negative phenotypes Chi-square analysis of proportions.

Rh negative phenotype	(O-E)/E	df	χ^2	CV	P
CdE	14,7	8	727	15,51	The P-Value is < .00001. The result is significant at p < .05.
CdEe	12,76				
Cde	9,31				
CcdE	12,76				
CcdEe	5,1				
Ccde	3,05				
cdE	12,76				
cdEe	12,76				
cde	644				

In this case statistically revealed a high number of chi-square criteria and it is equal to 727. This is much higher than the critical value (CV) of the criterion of degree of freedom (d.f.=8), which is equal to 15,51. The P-Value is < .00001. The result is significant at p < .05 (Table 10).

The haplotypes of the Rh system were calculated by us in the studied donors. Seven haplotypes were isolated in the target group. They are: *cde*, *Cde*, *cdE*, *cDe*, *cDE*, *CDE*, *CDE*. Among them, the *cde*

haplotype is most often present in donors and is equal to 0.33. the lowest frequency of distribution shows the *CDE* haplotype (table10)

In our work we analyzed the combination of ABO blood groups and Rh phenotypes. We allocated eight phenotypical groups with combination ABO blood group and D positive and D negative groups. The above

In this case we used the one-variable chi-square criterion as it is mentioned above. Statistically revealed a high number of chi-square criteria, which indicates the unequal distribution of phenotypes. In this particular case the value χ^2 is quite effective for rejecting the null hypothesis ($E=0$). The value of χ^2 in the case is equal to 651. This is much higher than the critical value (CV) of the criterion of degree of freedom ($d.f.=8$), which is equal to 15,51. The P-Value is $< .00001$. The result is significant at $p < .05$ (Table8).

Rh positive phenotype	(O-E)/E	df	χ^2	CV	P
CDE	70,11	8	651	15,51	The P-Value is $< .00001$. The result is significant at $p < .05$.
CDEe	46,32				
CDe	25,6				
CcDE	46,32				
CcDEe	90,96				
CcDee	309				
cDE	44,21				
cDEe	0,65				
ccDee	17,9				

Table 8. Rh positive phenotypes Chi-square analysis of proportions.

In contrast of Rh positive donors in the case of Rh negative dominant phenotypical characteristics was only one. This is cde phenotype. Totally in the studied donors we had 143 Rh negative donors, among them 112 donors had cde phenotypes. We can say that this phenotype is more common for Rh negative blood donors. The prevalence of this phenotype was 84,2 %. Three phenotypes (Ccde, CcdEe and Cde) prevalence was 7,8 times less than cde phenotype and totally was 12,77 % (Ccde- 6,01%; CcdEe - 4,51% and Cde - 2,25%). What about other four phenotypes (CddEe - 0,75%, CcdE-0,75, cdE - 0,75%, cdEe- 0,75%) total frequency in the studied donors was only 3% (Figure 8).

მათ შორისაა: 1.AB,Rh+ K+ MN; 2.AB,Rh+ K+ MM; 3.AB,Rh+ K+ NN; 4.AB,Rh+ K- MN; 5.AB,Rh+ K- NN; 6.AB,Rh+ K- MM; 7.AB,Rh- K+ MN; 8.AB,Rh- K+ MM; 9.AB,Rh- K+ NN; 10.AB,Rh-K- MN; 11.AB,Rh-K- MM; 12.AB,Rh-K- NN.

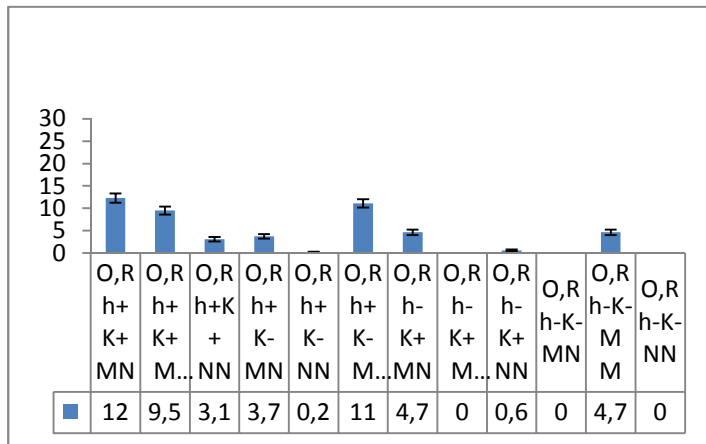
როგორც ზემოთ მოცემული ცხრილიდან (ცხრ.6) ჩანს თეორიულად მოსალოდნელი 48 ფენოტიპური კომბინაციიდან პრაქტიკულად გვხვდება 1,9-ჯერ ნაკლები ფენოტიპი ანუ შესწავლილ დონორებში ჯამში გამოვლინდა 25 ფენოტიპი, რაც შეეხება დანარჩენ 23 ფენოტიპურ კომბინაციას ჩვენს მიერ შესწავლილ დონორებში პრაქტიკულად არ გამოვლინდა. შესწავლილ დონორებში არ გამოვლინდა შემდეგი ფენოტიპური კომბინაციები: 1. O,Rh- K+ MM; 2. O,Rh-K- MN; 3. O,Rh-K- NN; 4. A,Rh- K+ MN; 5. A,Rh- K+ MM; 6. A,Rh- K+ NN; 7. A,Rh-K- MM; 8. A,Rh-K- NN; 9. B,Rh+ K+ NN; 10. B,Rh- K+ MN; 11. B,Rh- K+ MM; 12. B,Rh- K+ NN; 13. B,Rh-K- MN; 14. B,Rh-K- MM; 15. B,Rh-K- NN; 16. AB,Rh+ K+ MN; 17. AB,Rh+ K+ NN; 18. AB,Rh+ K- NN; 19. AB,Rh+ K- MM; 20. AB,Rh- K+ MN; 21. AB,Rh- K+ MM; 22. AB,Rh- K+ NN; 23. B,Rh-K- NN.

როგორც სტატისტიკურმა კვლევამ აჩვენა χ^2 რაოდენობრივი მაჩვენებელი საკმაოდ მაღალია და 3221,16-ს უტოლდება მაშინ, როცა 48 კატეგორიისათვის არსებული თავისუფლების ხარისხის Df (47) კრიტიკული მნიშვნელობა (CV) საკმაოდ დაბალია და **62.83**-ის ექვივალენტურია. რაც იმას ნიშნავს, რომ ფენოტიპური ჯგუფების გავრცელების სიხშირე არათანაბარია შესწავლილ სამიზნე ჯგუფში. P-ს მნიშვნელობა არის $< .00001$. შედეგი მნიშვნელოვანია $p < .05$ -ზე.

ჩვენს მიერ მიღებული მონაცემები გავანალიზეთ ABO სისტემის ჯგუფურ სისტემასთან კავშირში. O(I) ფენოტიპური ჯგუფის კომბინაციები სხვა სისტემებთან თეორიულად გამოყოფილი 12 შესაძლებლობიდან (სურ.10.) პრაქტიკულად დაფიქსირდა 9 ფენოტიპური კომბინაცია. სამი ფენოტიპი (1. O,Rh-

K+ MM; 2. O,Rh-K- MN; 3. O,Rh-K- NN) პრაქტიკულად არ გამოვლინდა შესწავლილ დონორებში. როგორც ჩამონათვლიდან ჩანს აღნიშნული სამი ფენოტიპური კომბინაცია ეხება პირველი ჯგუფის რეზუს უარყოფით ფენოტიპებს, ერთ შემთხვევაში მათთან კომბინაციაში იმყოფება K+ ფაქტორი.

O, Rh+ ფენოტიპური ჯგუფიდან ექვსივე კომბინაცია გვხვდება დონორებში, მაგრამ განხვავებული პრევალენტობით. ორი მათგანის (O, Rh+, K+, MN და O, Rh+, K-, MM) გავრცელების სიხშირე ყველაზე მაღალი და თითქმის თანაბარია (12,3% და 11,1%). O, Rh+, K-, NN ფენოტიპური კომბინაციის გავრცელების სიხშირე ყველაზე დაბალია O, Rh+ ფენოტიპებს შორის და 0,19%-ის ექვივალენტურია.



სურათი 10. MN, KELL ანტიგენების კომბინაციის გავრცელება O RH+ და ORH- დონორებში.

A(II) ფენოტიპურ ჯგუფს რაც შეეხება პირველ ჯგუფისაგან განსხვავებით აქ კომბინაციების ვარიაციები მცირდება. 12 თეორიულად მოსალოდნელი კომბინაციიდან დაფიქსირდა

them. No Du variation was observed in any of these 4 cases and accordingly, the primary phenotype of rhesus did not change.

From Rh positive donors as we already mentioned above have nine varied phenotypes and their frequency was quite different. Among Rh positive donors two (CcDEe – 22,9% and CcDe – 32,9) phenotypes were spread with high frequency. The Majority (55,8%) Rh positive donors had this 2 phenotype characteristic on the cell. Another two phenotypes (CCDe – 17,38% and cDEe -12,1%) frequency equals 29,48%. The Rest of the five phenotypes (CDE, CDEe, CcDE, cDE, cDe) prevalence was 14,47% (Figure 7)

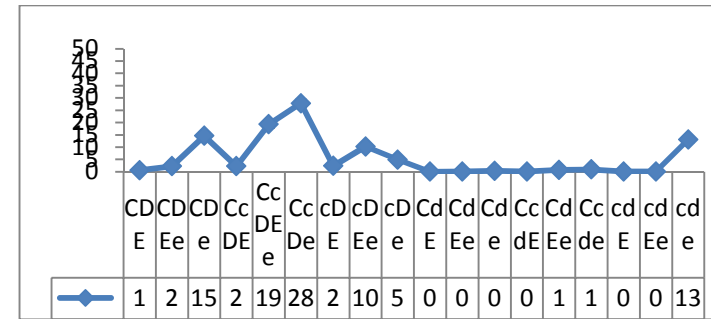


Figure №6. Frequency of Rh blood group phenotypes in studied donors (n=852).

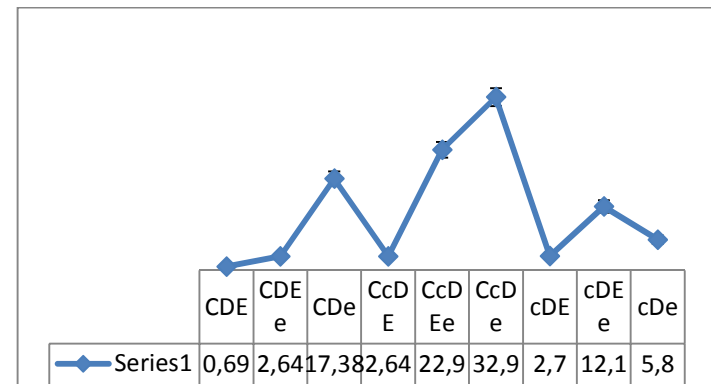
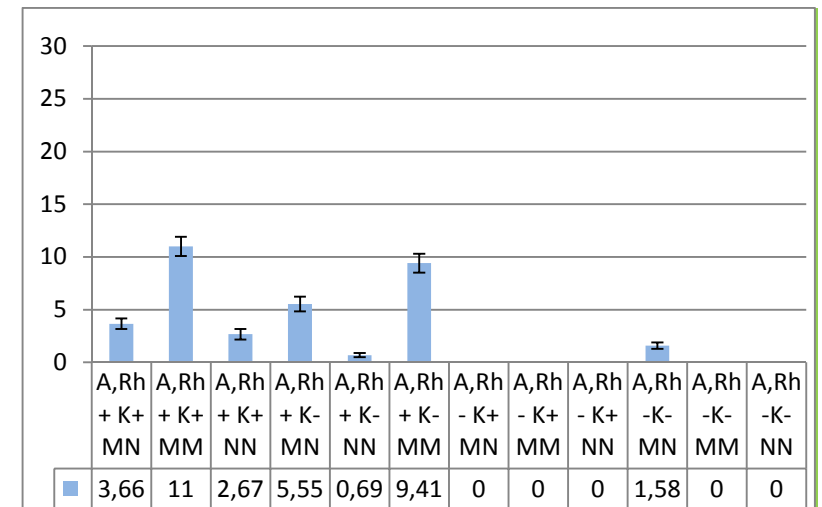


Figure 7. Phenotype variation in Rh positive donors.

ccD-ee D-C-E-c-e+	52	0	22	0	9	0	4	0	87
CdE D-C+E+c-e-	16	0	22	0	3	0	1	0	42
CCddEe D-C+E+c-e	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cde D-C+E-c-e+	0	1	0	2	0	0	0	0	3
CcddEE D-C+E+c-e-	0	1	0	0	0	0	0	0	1
CcdEe D-C+E+c-e+	0	4	0	2	0	0	0	0	6
Ccde D-C+E-c-e+	0	4	0	3	0	1	0	0	8
cdE D-C-E+c-e-	0	1	0	0	0	0	0	0	1
cdEe D-C-E+c-e+	0	0	0	1	0	0	0	0	1
cde D-C-E-c-e+	0	62	0	34	0	14	0	2	112
Total	351	73	279	43	66	15	23	2	852

As mentioned in the literature section there are some errors in determining rhesus phenotype. Errors in determining the Rh factor are associated with a weak variation Du of the antigen D. According to the recommendations, additional studies should be carried out for all those cases where the Cde and cdE phenotypes are detected during the primary phenotyping of erythrocytes, since the Du antigen is most often found together with the C or E antigen. The studied donors had three cases of the Cde phenotype and one case of the cdE phenotype. The Du antigen has latent antigenic determinants that are expressed on the surface of erythrocytes, so we used an indirect Coombs test to detect

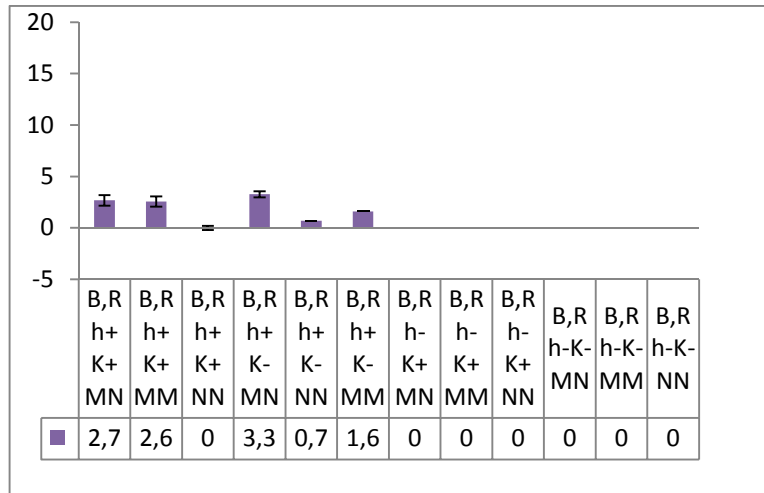
თითქმის 2-ჯერ ნაკლები შემთხვევები. ამ ჯგუფში პრაქტიკულად სულ გვაქვს 7 კომბინაცია, აქედან 6 კომბინაცია ეხება A(II), Rh+ ანუ რაც იმას ნიშნავს, რომ თეორიულად მოსალოდნელი ფენოტიპური ჯგუფების რაოდენობა დაემთხვა პრაქტიკულად არსებულს (1.A,Rh+ K+ MM 11%; 2.A,Rh+ K- MM 9,41%; 3.A,Rh+ K- NN0,69%; 4. A,Rh+ K+ MN 3,66%; 5. A,Rh+ K+ NN 2,67% ; 6. A,Rh+ K- MN 5,55%). რაც შეეხება A(II), Rh- ფენოტიპურ ჯგუფს აქ 6 თეორიულად მოსალოდნელი კომბინაციიდან პრაქტიკულად გამოვლინდა მხოლოდ ერთი ფენოტიპი (A,Rh-K-MN). მისი გავრცელების სიხშირე 1,58 %-ია (სურათი 11).



სურათი 11. MN, KELL ანტიგენების კომბინაციის გავრცელება A,Rh-; A,Rh+, დონორებში.

B (III) ფენოტიპური ჯგუფის შემთხვევაში კიდევ უფრო შემცირდა პრაქტიკულად ფენოტიპურად გამოვლენილი კომბინაციების ვარიაციები. 12 თეორიულად შესაძლო კომბინაციიდან B (III) ფენოტიპური ჯგუფის შემთხვევაში გვხვდება მხოლოდ 5. ესენია: (1. B,Rh+ K- MN 3,27%; 2. B,Rh+ K+ MM 2,57%;3.

BRh+ K+ MN 2,67%;4. B,Rh+ K- MM 1,58%;5. B,Rh+ K- NN 0,69%). როგორც 12 სურათიდან ჩანს ყველა პრაქტიკულად გამოვლენილი ფენოტიპური კომბინაციები განეკუთვნება B,Rh+ ფენოტიპს, ხოლო B,Rh- ფენოტიპურ ჯგუფში თეორიულად არსებული 6 შესაძლო კომბინაციიდან არც ერთი არ გამოვლინდა.



სურათი 12. MN, KELL ანტიგენების კომბინაციის გავრცელება B,Rh-; B,Rh+, დონორებში.

კიდევ უფრო საგრძობლად შემცირდა შესწავლილ დონორებში AB (IV) ფენოტიპური ჯგუფების კომბინაციათა რაოდენობა. აქ თეორიულად მოსალოდნელი 12 კომბინაციიდან გამოვლინდა მხოლოდ 4 ვარიანტი საკმაოდ დაბალი პრევალენტობით. კერძოდ: 1.AB,Rh+K+MM - 2,67%; 2.ABRh+K-MN - 1,78%. როგორც ვხედავთ ორივე ფენოტიპური კომბინაცია მიეკუთვნება AB,Rh+. ანუ კვლევისას ჩვენს მიერ ასევე დაფიქსირებული იქნა AB,Rh- 2 ფენოტიპი ერთეული სახით. ესენია AB,Rh-K-MN და AB,Rh-K-MM (სურ. 13). თითოეულის გავრცელების სიხშირე სულ რაღაც 0,09 %-ს შეადგენს.

Rh positive and rest of them (nine) are Rh negative. The Rh positive phenotypes are: CDE; CDEe; CDe; CcDE; CcDEe; CcDe; ccDE; cDEe and cDe. Rh negative phenotypes are CdE; CdEe; Cde; CcdE; CcdEe; Ccde; cdE; cdEe; cde. We allocated 17 Rh phenotypes among studied donors. Only one phenotypes CdE, which belongs Rh negative group was not presents in studied donors. Other 17 phenotypes showed different frequency (Table 3, Figure 2). Some of them were only in single case, for example: cdEe, cdE, CdEe phenotypes had only one donor. Majority of the phenotype in the studied donors (27,8±1,53%) was CcDe (n=237). CcDEe - 19,3±1,35% (n=165); 125 donors have CDe phenotype (14,6±1,2); The frequency of cde was 13,1±1,5%, which means that 112 studied donors belonged to this phenotype group; 87 studied donors had cDEe phenotype characteristics (10,2%); The frequency of cDe was 4,9% (n=42); 19 donors had CDEe phenotype. Other phenotypes (CDE, Cde, CcdEe, Ccde) frequency was very low (Table 7, Figure 6).

Table №7. The numbers of Rh phenotypes in the studied donors (n=852).

Rh phenotype	O(I), Rh+	O(I) Rh-	A(II) Rh+	A(II) Rh-	B(III) Rh+	B(III) Rh-	AB(IV) Rh+	AB(I V)Rh-	Total
CDE D+C+E+c-e-	3	0	2	0	0	0	0	0	5
CDEe D+C+E+c-e+	6	0	9	0	3	0	1	0	19
CDe D+C+E-c-e	64	0	48	0	12	0	1	0	125
CcDEe D+C+E+c-e+	9	0	9	0	1	0	0	0	19
CcD-ee D+C+E+c-e+	65	0	76	0	17	0	7	0	165
cDE D+C-E+c-e-	125	0	84	0	20	0	8	0	237
cDEe D+C-E+c-e+	11	0	7	0	1	0	1	0	20

The frequency of distribution of Rh alleles in the studied donors was analyzed. Two alleles of the RhC gene occur with the following frequency: C – 0,48, c – 0,54. Their number is equal to 1 in the studied target group. The distribution of two alleles of the RhE gene is as follows: E - 0,61 , e -0,40. RhD reveals a rather high frequency of distribution and it is 0,64 (figure5).

As we see from Figure № 10 and Table №7 C antigen most common is present in the combination with D antigen. 65, 8 % case we had CD+ combination (n=561). A Similar situation is with E antigen combination with D antigen. E antigen in most cases is presented with a combination of D antigen. 36, 9% of the studied donors (n=306) had ED+ combination. A miserable number of studied donors had CD - (2,23%; n=19) and ED - (1,17%; n=9) combinations.

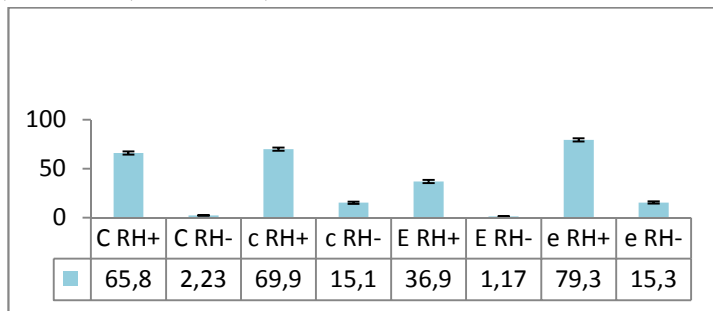
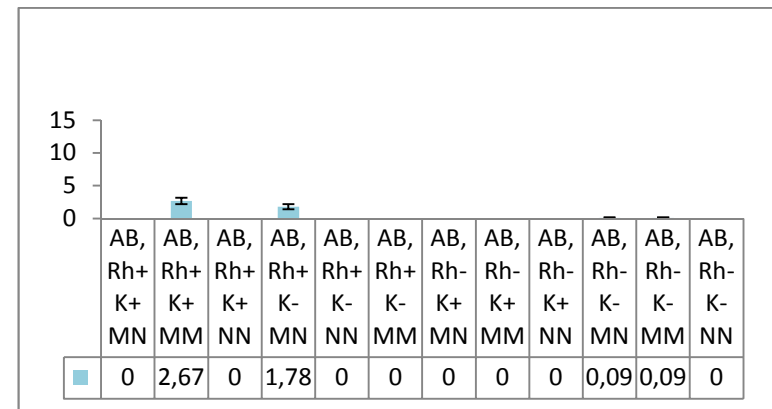


Figure № 5. C, c, E, e antigens combination in D positive and D negative donors

The Rh blood group system has two sets of nomenclatures: one developed by Ronald Fisher and R. R. Race, the other by Wiener. Both systems reflected alternative theories of inheritance. The Fisher–Race system, which is more commonly in use today, uses the CDE nomenclature. In our study we used Fisher and Race nomenclature.

We have studied the Rh phenotypes prevalence in blood donors. According to RHD, RHC and RHE gene locuses there are 18 theoretically possible phenotypical groups. Among them half (nine) are

ოთხი ერთროციტური ჯგუფური სისტემის ანტიგენების მიხედვით ფენოტიპური კომბინაციების კვლევისას დაფიქსირდა საკმაოდ მაღალი პოლიმორფულობა O (I) ჯგუფის შემთხვევაში. მას მოსდევს A (II) ფენოტიპური ჯგუფის კომბინაციები. მესამე ადგილს ფენოტიპური ვარიაციების სიმრავლით იჭერს B (III) ფენოტიპური ჯგუფი, ხოლო AB (IV) ფენოტიპური ჯგუფისთვის კი დამახასიათებელია დაბალი პოლიმორფულობა. ანუ შეიძლება დავასკვნათ, რომ ჩვენს მიერ შესწავლილ დონორებში პოლიმორფულობის მახასიათებლები გადანაწილდა შემდეგი თანმიმდევრობით: O>A >B> AB.



სურათი 13. MN, KELL ანტიგენების კომბინაციის გავრცელება AB, Rh-; AB, Rh+, დონორებში.

შესწავლილ დონორებში ასევე გამოკვლეული იქნა ABO სისტემის გენების გავრცელების სიხშირე. მათი სიხშირე გამოთვლილი იქნა ფორმულით, რომელიც გამოიყენება სამალელიანი გენეტიკური სისტემის კვლევისას.

r, p, q ალელების სიხშირის კვლევისას შესწავლილ დონორებში ყველაზე მაღალი სიხშირით გამოვლინდა r ალელი. მისი გავრცელება შესწავლილ სამიზნე ჯგუფში 0,7-ს უტოლდება,

მას ბევრად ჩამორჩება q ალელის გავრცელების მაჩვენებელი, რომელიც 0.22-ის ტოლია, ხოლო p ალელის სიხშირის რაოდენობრივი მაჩვენებელი ყველაზე დაბალია და 0.008 შეადგენს (ცხრ.3).

ცხრილი 3. ABO სისტემის გენების გავრცელების სიხშირე

ABO სისტემის ალელები	სიხშირე
$r = \sqrt{O}$	0,7
$p = 1 - \sqrt{A + O}$	0,22
$q = 1 - \sqrt{B + O}$	0,08

სადაც 0, A და B – 0(I), A(II) და B(III) ჯგუფის მატარებელ ადამიანთა თანაფარდობაა საკვლევს ობიექტთა საერთო რაოდენობასთან მიმართებაში.

ასევე გავანალიზეთ შესწავლილ დონორებში Kell სისტემის ალელების სიხშირე. აღნიშნულ სამიზნე ჯგუფში გამოვლინდა p(K) და q(k) განსხვავებული სიხშირე. გავრცელების მაღალი სიხშირით (0,77) გვხვდება p(K) ალელი მას ბევრად ჩამორჩება q(k)ალელის გავრცელების სიხშირე, რომელიც 0,22 შეადგენს (ცხრ. N°4).

Table №5. Prevalence and Chi-square analysis of C, c, E, e antigens in studied donors.

Rh antigens expressed on cell	Prevalence of antigens	Df	χ^2	CV	P
C	68,03%±1,5	3	211,46	7,815	The P-Value is < .00001. The result is significant at p < .05.
c	85%±1,22				
E	38,07 %±1,6				
e	94,6 %±0,77				

The prevalence of Rh system antigens is looks like so: e antigen – 94,6%, c antigen - 85%, C-68,03, E antigen - 38,07%. What about the D antigen majority (84%) of studied donors are Rh positive (n=719), 133 (16%) donors are Rh negative. In this case we used the one-variable chi-square criterion. Statistically revealed a high number of chi-square criteria. In this particular case the value χ^2 is quite effective for rejecting the null hypothesis (E=0). The value of χ^2 in the case is equal to 211,46. These numbers are much higher than the critical value (CV) of the criterion of degree of freedom (d.f.=3), which is equal to 7,815. The P-Value is < .00001. The result is significant at p < .05 (Table 6).

Table N 6 Frequency of distribution of alleles of the Rh system in donors.

Rh system genes	Frequency
D	$1 - \sqrt{dd} = 0.64$
C	$1 - \sqrt{cc} = 0.48$
E	$1 - \sqrt{ee} = 0.61$
c	$\sqrt{CC} = 0.54$
e	$1 - \sqrt{EE} = 0.40$

the frequency of distribution of the q allele is significantly lower and equal to 0.28.

Table №4. Allele frequency of the MN system in the studied donors.

	Q	P
MN	$\frac{n_A + \frac{1}{2}n_{AB}}{N} = 0,72$	$\frac{n_B + \frac{1}{2}n_{AB}}{N} = 0,28$

where n_A means the number of carriers of the phenotype M, n_{AB} indicates MN phenotypes n_B means the number of carriers of the phenotype N .

We believe that the availability of data from our study will improve the safety of blood transfusion, expand the donor database and allow clinics to quickly find rare combinations of blood groups in order to reduce the risk of post-transfusion complications.

The features of antigen prevalence of Rhesus system in donor population

The blood of 852 donors (aged ≥ 18 years) has been investigated on erythrocyte blood group antigens. The Rh blood group system consists of 49 defined blood group antigens (5). among which the five antigens D, C, c, E, and e are the most important. Study of Rhesus (Rh) blood group antigens, phenotype, and Rh antibodies is very useful in routine and advanced clinical practice in blood transfusion centers. We study the prevalence of these five Rh antigens in blood donors (n=852) of both sex (male/female) and different age (18-55 y.) (Table №5).

ცხრილი 4. Kell სისტემის ალელების სიხშირე დონორებში

	Q	P
Kell	$\sqrt{\frac{n_{aa}}{N}} = 0.22$	$1-q \ 0.78$

სადაც n_{aa} აღნიშნული ლოკუსის მიხედვით რეცესიული ჰომოზიგოტია (kk), N - გამოკვლეული პირების საერთო რაოდენობა.

MN სისტემის ალელებიც Kell სისტემის ალელების მსგავსად გავრცელების სიხშირეც არაერთგვაროვანია. როგორც ქვემოთ მოცემული ცხრილიდან (ცხრ. 5) ჩანს p ალელის გავრცელების სიხშირე 0,72-ის ტოლია, ხოლო q ალელის გავრცელების სიხშირე კი ბევრად დაბალია და 0,28- უტოლდება.

ცხრილი 5. MN სისტემის ალელების გავრცელების სიხშირე დონორებში

	Q	P
MN	$\frac{n_A + \frac{1}{2}n_{AB}}{N} = 0,72$	$\frac{n_B + \frac{1}{2}n_{AB}}{N} = 0,28$

სადაც n_A - M ფენოტიპის მატარებელთა რაოდენობაა, n_{AB} - MN ფენოტიპებისა, ხოლო n_B - N ფენოტიპების მატარებელთა რაოდენობაა.

ვფიქრობთ, რომ ჩვენი კვლევის შედეგად მიღებულ მონაცემთა არსებობა გაზრდის ტრანსფუზიის უსაფრთხოების დონეს, გააფართოებს დონორთა მონაცემთა ბაზას და კლინიკებს საშუალებას მისცემს სწრაფად იპოვონ სისხლის ჯგუფის იშვიათი კომბინაცია, რაც პოსტტრანსფუზიური გართულებების რისკს გამორიცხავს.

რეზუს სისტემის ანტიგენების გავრცელების თავისებურებანი დონორთა პოპულაციაში

ჩვენს მიერ რეზუს სისტემის ანტიგენებზე გამოკვლეული იქნა 852 დონორი. როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, სისხლის ჯგუფის რეზუს სისტემა შედგენა 49 განსაზღვრული სისხლის ჯგუფური ანტიგენისგან (Dean, L. 2005.). რომელთაგან ყველაზე მნიშვნელოვანია ხუთი D, C, c, E, და e ანტიგენი. სისხლის ჯგუფის რეზუს ანტიგენების, ფენოტიპისა და რეზუს ანტისხეულების კვლევა ძალიან სასარგებლოა სისხლის ტრანსფუზიის ცენტრების რუტინულ და მოწინავე კლინიკურ პრაქტიკაში. ჩვენ ვსწავლობდით აღნიშნული ხუთი რეზუს სისტემის ანტიგენის გავრცელებას ორივე სქესის (მდედრობითი/მამრობითი) და სხვადასხვა ასაკის (18-55) სისხლის დონორში (n=852) (ცხრ. 6)

ცხრილი 6. C, c, E, e ანტიგენის გავრცელება შესწავლილ დონორებში და X-კვადრატის სტატისტიკური ანალიზი

ანტიგენი უჯრედების ზედაპირზე	ანტიგენების გავრცელება	Df	χ^2	CV	P
C	68,03%±1,5	3	211,46	7,815	P-ს მნიშვნელობა არის < .00001. შედეგი მნიშვნელოვანია p < .05-ზე.
c	85%±1,22				
E	38,07 %±1,6				
e	94,6 %±0,77				

table №2. Gene distribution frequency of the ABO system

Alleles of the ABO system	Frequency
$r = \sqrt{O}$	0.7
$p = 1 - \sqrt{A + O}$	0,22
$q = 1 - \sqrt{B + O}$	0, 08

Where 0, A and B are the ratio of people carrying 0(I), A (II) and B (III) groups to the total number of research objects .

Alleles of the Kell system were also analyzed in the studied donors. Different frequencies of p (K) and q (k) were found in the target group. P (K) occurs with a high distribution frequency (0.77), and the frequency of the q (k) allele lags significantly behind and is 0.22. Table №.3

table №3. Allele frequency of the Kell system in the studied donors

	q	P
Kell	$\sqrt{\frac{n_{aa}}{N}} = 0.22$	1-q 0.78

where n_{aa} is a recessive homozygote according to this locus and (kk), N is the total number of examined individuals.

Like the alleles of the Kell system, the frequency of distribution of the alleles of the MN system is also heterogeneous. As shown in the table below (Table N4), the frequency of distribution of the p allele is 0.72, and

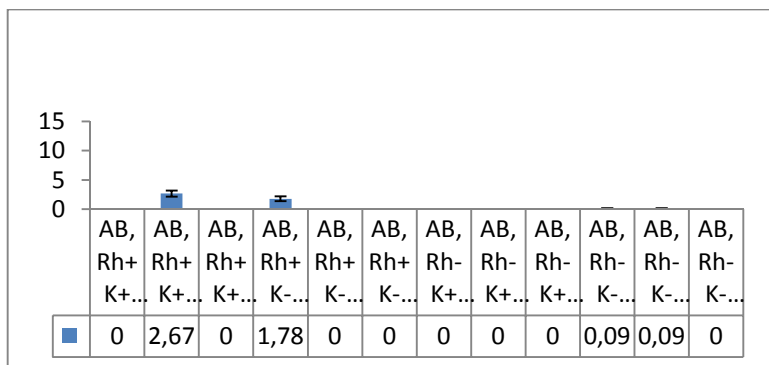


Figure №4. The distribution of MN, KELL antigen combination in AB,Rh-; AB,Rh+, donors.

We consider, that the existence of this data will really promote the increase of safety level of transfusion, will expand the database of the donors and will enable the clinics to easily detect the rarest combinations of blood groups in order to avoid post transfusion complications.

Gene distribution frequency of the ABO system in the studied donors was also analyzed. Their frequency was calculated using the formula used in the study of the three-allelic genetic system. In the study of the frequency of the r, p, q alleles, the r allele was detected with the highest frequency in the studied donors. Its distribution in the target group is 0.7, while the distribution of the q allele lags significantly behind and is 0.22, and the quantitative indicator of the frequency of the p allele is the lowest - 0.008 (Table 2).

რეზუს სისტემის ანტიგენის გავრცელება ასე გამოიყურება: ანტიგენი e- 94,6%, ანტიგენი c- 85%, C-68,03, ანტიგენი E - 38,07%. რაც შეეხება ანტიგენს D, გამოკვლეულ დონორთა უმეტესობა (84%) არის რეზუს დადებითი ფაქტორის მატარებელი(n=719), 133 (16%) დონორი არის რეზუს უარყოფითი. სტატისტიკურად გამოვლინდა X-კვადრატის კრიტერიუმის მაღალი რიცხვი. ამ კონკრეტულ შემთხვევაში $\chi^2 = 211,46$. ეს რიცხვები გაცილებით დიდია ვიდრე თავისუფლების ხარისხის კრიტერიუმის (d.f.=3) კრიტიკული მნიშვნელობა(CV), რომელიც 7,815-ს ტოლია. P-ს მნიშვნელობა არის < .00001. შედეგი მნიშვნელოვანია p < .05-ზე

ცხრილი 7. რეზუს სისტემის ალელის გავრცელების სიხშირე დონორებში

რეზუს სისტემის გენები	სიხშირე
D	$1 - \sqrt{dd} = 0.64$
C	$1 - \sqrt{cc} = 0.48$
E	$1 - \sqrt{ee} = 0.61$
c	$\sqrt{CC} = 0.54$
e	$1 - \sqrt{EE} = 0.40$

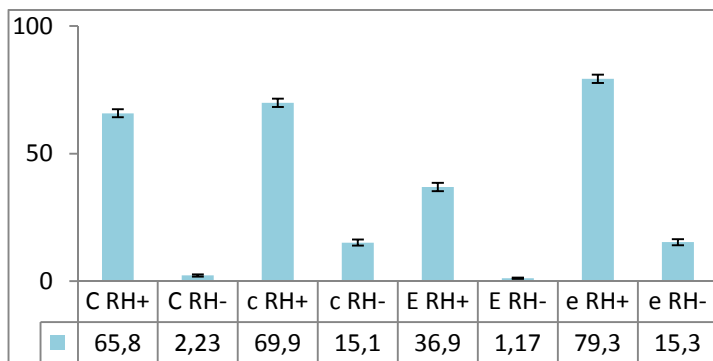
სადაც D, C, E, c, e D,- გენების მატარებელ პირთა რაოდენობაა საკვლევ მასალასთან თანაფარდობაში გენების მატარებელ პირთა

რაოდენობაა საკვლევი მასალის რაოდენობასთან თანაფარდობაში, DD, CC, ee, cc და EE – შესაბამისი ფენოტიპების სიხშირე.

შესწავლილ დონორებში გავანალიზეთ რეზუს სისტემის ალელების გავრცელების სიხშირე. RhC გენის ორი ალელი გვხვდება შემდეგნაირი სიხშირით: C – 0,48, c – 0,54. მათი რაოდენობა შესწავლილ სამიზნე ჯგუფში 1-ის ტოლია. RhE გენის ორი ალელის გავრცელება კი შემდეგნაირად გამოიყურება: E - 0,61 , e - 0,40. გავრცელების საკმაოდ მაღალ სიხშირეს ავლენს RhD – 0,64 (სურ.14).

როგორც სურათი №19 და ცხრილიდან №7 ვხედავთ, ანტიგენი C ყველაზე ფართოდ წარმოდგენილია D ანტიგენტან კომბინაციით. ჩვენ გვქონდა CD+ კომბინაციის 65, 8 %-აინი შემთხვევა (n=561). ანალოგიური მდგომარეობა გვაქვს E და D ანტიგენების კომბინაციის შემთხვევაში. E ანტიგენი უმეტეს შემთხვევაში წარმოდგენილია D ანტიგენტან კომბინაციით.

შესწავლილ დონორთა (n=306) 36, 9%-ს გააჩნდა ED+ კომბინაცია. შესწავლილ დონორთა ძალიან მცირე რაოდენობას ჰქონდა CD - (2,23%; n=19) და ED - (1,17%; n=9) კომბინაციები.



სურათი 14. C, c, E, e ანტიგენების სიხშირე D დადებით და D უარყოფით დონორებთან კომბინაციით (%).

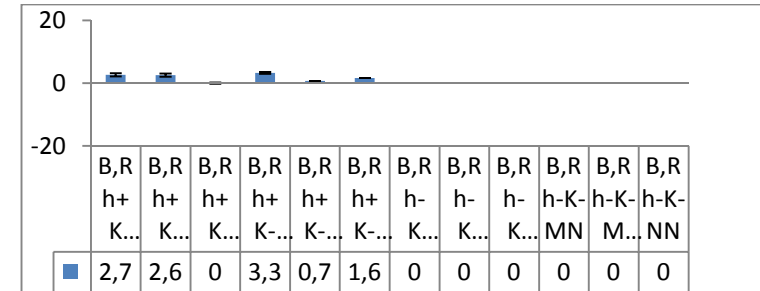


Figure №3. The distribution of MN, KELL antigen combination in B,Rh-; B,Rh+ donors.

The amount of variations of phenotypic group combinations has decreased even more in AB (IV) donors. In this case, out of 12 possible combinations, we have only identified 4, but with a very low prevalence. More specifically: 1.AB,Rh+K+MM - 2,67%; 2.ABRh+K-MN - 1,78%. As it is visible, both phenotypic combinations belong to AB,Rh+. While research, we have also found 2 phenotypic units of AB,Rh-, they are: AB,Rh-K-MN და AB,Rh-K-MM(fig. №4). The distribution frequency for each of them is only 0,09%.

While observing the phenotypic combinations due to antigens of four erythrocyte group systems, a comparatively high polymorphism has been found in case of O (I). It is followed by combinations of A (II) phenotypic group. B (III) phenotypic group holds the third place in a row with the multitude of variations, and AB (IV) is characterised by low polymorphism. Hereby, we can conclude that in the donors we have studied, the polymorphism characteristics have been distributed in the following sequence: O>A >B> AB.

Different from the first group, the variations of combinations of A(II) phenotypic group is much less. Out of 12 theoretically possible cases, we have found nearly half of them. Actually, this group has only 7 combinations and 6 out of them is connected to A(II), Rh+. This means that the amount of theoretically possible phenotypic groups coincides with the actual amount (1.A,Rh+ K+ MM 11%; 2.A,Rh+ K- MM 9,41%; 3.A,Rh+ K- NN0,69%; 4. A,Rh+ K+ MN 3,66%; 5. A,Rh+ K+ NN 2,67% ; 6. A,Rh+ K- MN 5,55%).

As for the A(II), Rh- phenotypic group, only one phenotype(A,Rh-K-MN) has been found out of possible six. The distribution frequency is 1, 58%. (Fig. №2)

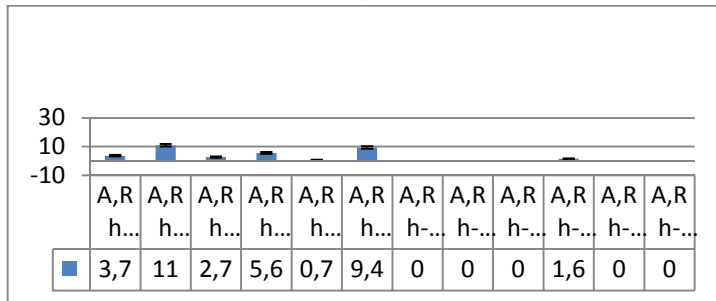


Figure №2. The distribution of MN, KELL antigen combinations in A,Rh-; A,Rh+, donors.

In case of B (III) phenotype group, the actual amount of the variations of phenotypic combinations has decreased even more. In case of phenotypic group B (III) only 5 phenotypic groups have been identified instead of 12 theoretically possible combinations. They are: (1. B,Rh+ K- MN 3,27%; 2. B,Rh+ K+ MM 2,57%;3. BRh+ K+ MN 2,67%;4. B,Rh+ K- MM 1,58%;5. B,Rh+ K- NN 0,69%). As seen from the picture №8, all the practically identified phenotypic combinations are of B,Rh+ phenotype and in case of B,Rh-, none of the 6 possible combinations has been detected.

სისხლის ჯგუფის რეზუს სისტემას გააჩნია ნომენკლატურის ორი ნაირსახეობა: ერთი შემუშავებულია რონალდ ფიშერისა და რ.რ. რეისის მიერ და მეორე კი - უიენერის მიერ. ორივე სისტემა ასახავდა მემკვიდრეობითობის ალტერნატიულ თეორიებს. ფიშერ-რეისის სისტემა, რომელიც დღეს უფრო ფართოდ გამოიყენება, იყენებს CDE ნომენკლატურას (Scott ML 2004). ჩვენც კვლევაში გამოვიყენეთ ფიშერისა და რეისის ნომენკლატურა.

ჩვენ შევისწავლეთ რეზუს ფენოტიპის გავრცელება სისხლის დონორებში. RHD, RHC და RHE გენის ადგილმდებარეობის მიხედვით, არსებობს 18 თეორიულად შესაძლო ფენოტიპური ჯგუფი. მათ შორის ნახევარი (ცხრა) არის რეზუს დადებითი და დანარჩენი (ცხრა) - რეზუს უარყოფითი. რეზუს დადებითი ფენოტიპებია: CDE; CDEe; CDe; CcDE; CcDEe; CcDe; ccDE; cDEe და cDe. რეზუს უარყოფითი ფენოტიპებს კი მიეკუთვნება შემდეგი: CdE; CdEe; Cde; CcdE; CcdEe; Ccde; cdE; cdEe; cde. ჩვენს მიერ შესწავლილ დონორებში გამოვყოფილი იქნა 17 რეზუს ფენოტიპი. შესწავლილ დონორებში არ დაფიქსირებულა მხოლოდ ერთი ფენოტიპი CdE, რომელიც განეკუთვნება რეზუს უარყოფით ჯგუფს.

დანარჩენი 17 ფენოტიპი აჩვენს გავრცელების სხვადასხვა სიხშირეს. ზოგიერთი მათგანი ვლინდებოდა მხოლოდ ერთეულ შემთხვევებში, მაგალითად: cdEe, cdE, CdEe ფენოტიპი გააჩნდა მხოლოდ ერთეულ დონორს.

შესწავლილ დონორებში (27,8±1,53%) უმრავლესობა იყო CcDe (n=237) ფენოტიპი. ფენოტიპი CcDEe წარმოდგენილი 19,3±1,35% გავრცელების სიხშირე (n=165); ჩვენს მიერ შესწავლილ 125 დონორი ატარებდა CDe ფენოტიპი (14,6±1,2); cde ფენოტიპის სიხშირეა 13,1±1,5%, რაც იმას ნიშნავს, რომ 112 შესწავლილი დონორი მიეკუთვნებოდა ამ ფენოტიპის ჯგუფს; 87 შესწავლილ დონორში შეინიშნებოდა cDEe ფენოტიპის მახასიათებლები (10,2%); cDe-ს ფენოტიპის სიხშირე იყო 4,9% (n=42); 19 დონორს

გააჩნდა CDEe ფენოტიპი. სხვა ფენოტიპების (CDE, Cde, CcdEe, Ccde) სიხშირე კი მნიშვნელოვნად დაბალი იყო (ცხრ. 8, სურ. 15).

ცხრილი 8. რეზუს ფენოტიპების რიცხვი შესწავლილ დონორებში (n=852)

Rh phenotype	O(I), Rh+	O(I) Rh-	A(II) Rh+	A(II) Rh-	B(III) Rh+	B(III) Rh-	AB(IV) Rh+	AB(IV) Rh-	Total
CDE D+C+E+c-e-	3	0	2	0	0	0	0	0	5
CDEe D+C+E+c-e+	6	0	9	0	3	0	1	0	19
CDe D+C+E-c-e	64	0	48	0	12	0	1	0	125
CdDEe D+C+E+c-e+	9	0	9	0	1	0	0	0	19
CcD-ee D+C+E+c-e+	65	0	76	0	17	0	7	0	165
cDE D+C-E+c-e-	125	0	84	0	20	0	8	0	237
cDEe D+C-E+c-e+	11	0	7	0	1	0	1	0	20
ccD-ee D+C-E-c-e+	52	0	22	0	9	0	4	0	87
CdE D-C+E+c-e	16	0	22	0	3	0	1	0	42
CCddEe D-C+E+c-e	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cde D-C+E-c-e+	0	1	0	2	0	0	0	0	3
CcddEE D-C+E+c-e-	0	1	0	0	0	0	0	0	1
CcdEe D-C+E+c-e+	0	4	0	2	0	0	0	0	6
Ccde D-C+E-c-e+	0	4	0	3	0	1	0	0	8

AB,Rh+ K- MM; 20. AB,Rh- K+ MN; 21. AB,Rh- K+ MM; 22. AB,Rh- K+ NN; 23. B,Rh-K- NN.

As shown by a statistical study, the quantitative indicator X2 is quite high and is equal to 3221.16, while the critical value (CV) of the current degree of freedom (Df) for 48 categories is quite low and is equivalent to 62.83. this means that the frequency of distribution of phenotypic groups in the studied target group is uneven. The P-Value is < .00001. The result is significant at p < .05.

The data we have gathered has been analyzed in relation with ABO group system. O(I) phenotypic group combinations in relation with other system has actually produced only 9 phenotypic combinations out of 12 theoretical probabilities(fig. №1). Three phenotypes (1. O,Rh- K+ MM; 2. O,Rh-K- MN; 3. O,Rh-K- NN) have not been observed in the donors. As it seen from the list, the mentioned three combinations are connected to O Rh - phenotypes and in one case K+ is present in the combination with them.

All the six combinations from the O, Rh+ phenotypic group are found in the donors, but with a different prevalence. The distribution frequency of two of them (O, Rh+, K+, MN and O, Rh+, K-, MM) is very intense and nearly equal to each other (12,3% და 11, 1 %).The distribution frequency of O, Rh+, K-, NN phenotypic combination is the least intense among the O, Rh+ phenotypes and is equivalent to 0,19% (fig.1)

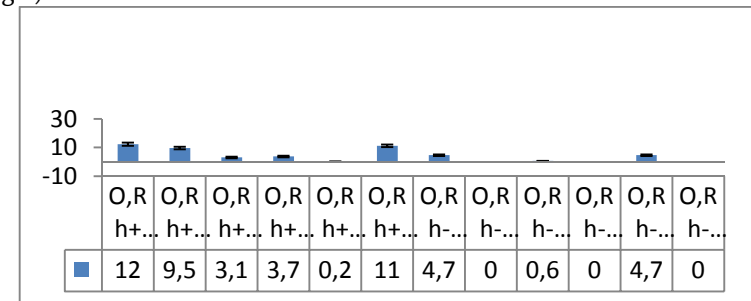


Figure № 1. The distribution of MN, KELL antigen combinations in O RH+ and ORH- donors.

According to the mentioned combinations, 12 phenotypic combinations have been identified in each O, A, B, AB group of ABO system. For example, O (I) phenotypic group of blood produces the following combinations in correlation with the other group systems:

1.O,Rh+ K+ MN; 2. O,Rh+ K+ MM; 3.O,Rh+ K+ NN; 4.O,Rh+ K- MN; 5.O,Rh+ K- NN; 6.O,Rh+ K- MM; 7.O,Rh- k+ MN; 8.O,Rh- k+ MM; 9.O,Rh- k+ NN; 10. O,Rh-K- MN; 11. O,Rh-K- MM; 12. O,Rh-K- NN .

Similar combinations have been identified for A(II) blood phenotypic group. These combinations are the following: 1. A,Rh+ K+ MN; 2.A,Rh+ K+ MM; 3. A,Rh+ K+ NN; 4.A,Rh+ K- MN; 5.A,Rh+ K- NN; 6.A,Rh+ K- MM; 7. A,Rh- K+ MN; 8. A,Rh- K+ MM; 9. A,Rh- K+ NN; 10.A,Rh-K- MN; 11.A,Rh-K- MM; 12. A,Rh-K- NN. It is theoretically possible, that we can identify similar phenotypic groups for B(III) phenotypes: 1.B,Rh+ K+ MN; 2.B,Rh+ K+ MM; 3. B,Rh+ K+ NN; 4.B,Rh+ K- MN; 5.B,Rh+ K- NN; 6.B,Rh+ K- MM; 7.B,Rh- K+ MN; 8.B,Rh- K+ MM; 9.B,Rh- K+ NN; 10.B,Rh-K- MN; 11.B,Rh-K- MM; 12.B,Rh-K- NN. AB(IV) phenotypic group can produce 12 combinations in correlation with the other group systems. Among them one can find:

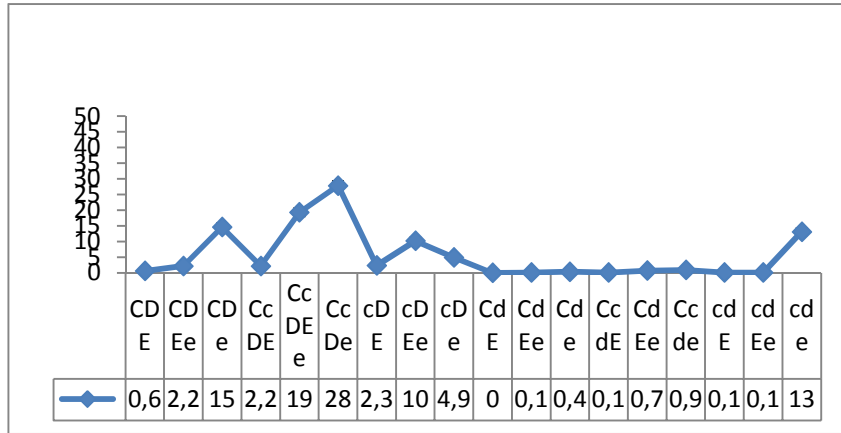
1.AB,Rh+ K+ MN; 2.AB,Rh+ K+ MM; 3.AB,Rh+ K+ NN; 4.AB,Rh+ K- MN; 5.AB,Rh+ K- NN; 6.AB,Rh+ K- MM; 7.AB,Rh- K+ MN; 8.AB,Rh- K+ MM; 9.AB,Rh- K+ NN; 10.AB,Rh-K- MN; 11.AB,Rh-K- MM; 12.AB,Rh-K- NN. As it is seen from Table N 6, out of 48 theoretically possible phenotypic combinations, we can actually find 1,9 times less phenotypes and the real amount is 25 phenotypes. As for the remaining 23 phenotypic combinations, they have not been observed in the donors we studied. These are: 1. O,Rh- K+ MM; 2. O,Rh-K- MN; 3. O,Rh-K- NN; 4. A,Rh- K+ MN; 5. A,Rh- K+ MM; 6. A,Rh- K+ NN; 7. A,Rh-K- MM; 8. A,Rh-K- NN; 9. B,Rh+ K+ NN; 10. B,Rh- K+ MN; 11. B,Rh- K+ MM; 12. B,Rh- K+ NN; 13. B,Rh-K- MN; 14. B,Rh-K- MM; 15. B,Rh-K- NN; 16. AB,Rh+ K+ MN; 17. AB,Rh+ K+ NN; 18. AB,Rh+ K- NN; 19.

cdE D-C-E+c+e-	0	1	0	0	0	0	0	0	1
cdEe D-C-E+c+e+	0	0	0	1	0	0	0	0	1
cde D-C-E-c+e+	0	62	0	34	0	14	0	2	112
Total	351	73	279	43	66	15	23	2	852

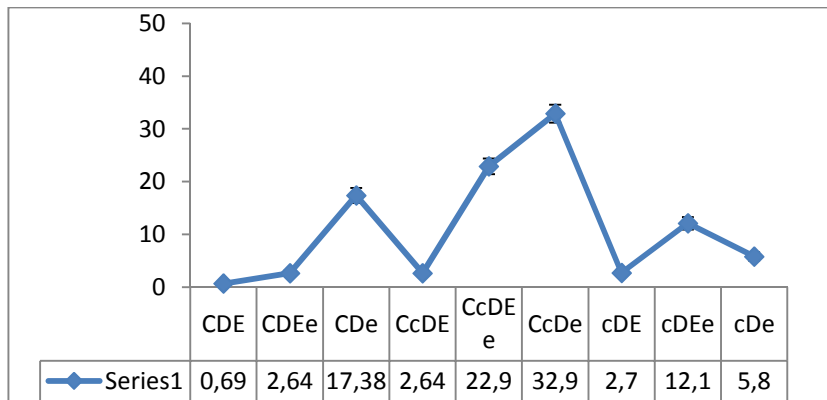
როგორც ლიტერატურულ ნაწილში აღვნიშნეთ გარკვეული ცდომილებები არსებობს რეზუს ფენოტიპის დადგენის დროს. რეზუს ფაქტორის განსაზღვრისას დაშვებული შეცდომები უკავშირდება D ანტიგენის სუსტ - Du ვარიაციას. არსებული რეკომენდაციებით დამატებითი კვლევა უნდა ჩატარდეს ყველა იმ შემთხვევაში, როცა ერითროციტების პირველადი ფენოტიპირებისას გამოვლინდება Cde და cdE ფენოტიპები, რამდენადაც Du ანტიგენი უფრო ხშირად გვხვდება C ან E ანტიგენთან ერთად. შესწავლილ დონორებში სამ შემთხვევაში გამოვლინდა Cde და ერთ შემთხვევაში cdE ფენოტიპი. Du ანტიგენს გააჩნია ფარული ანტიგენური დეტერმინანტები, რომლებიც ერითროციტების ზედაპირზე არ არის ექსპრესირებული, ამიტომ მათ აღმოსაჩენად გამოვიყენეთ კუმბსის არაპირდაპირ ცდა. აღნიშნული 4 შემთხვევიდან არც ერთ შემთხვევაში არ დაფიქსირებულა Du ვარიაცია და შესაბამისად არ შეცვლილა რეზუსის პირველადი ფენოტიპი.

როგორც ზემოთ უკვე აღვნიშნეთ, რეზუს დადებით დონორებს გააჩნიათ ცხრა ფენოტიპური ვარიაცია და მათი სიხშირე საკმაოდ განსხვავდებოდა. რეზუს დადებით დონორებს შორის მაღალი სიხშირის გავრცელება ჰქონდა ორ (CcDEe – 22,9% და CcDe – 32,9) ფენოტიპს. რეზუს დადებითი დონორების უმრავლესობას (55,8%) ერითროციტის ზედაპირზე ჰქონდა ამ ორი ფენოტიპის მახასიათებელი. სხვა ორი ფენოტიპის (CCDe – 17,38%

and cDEe -12,1%) სიხშირე უტოლდება 29,48%-ს. დანარჩენი ხუთი ფენოტიპის (CDE, CDEe, CcDE, cDE, cDe) გავრცელების სიხშირე (CDE, CDEe, CcDE, cDE, cDe) გავრცელების სიხშირე იყო 14,47% (სურ.16).



სურათი 15. სისხლის ჯგუფის რეზუს ფენოტიპების სიხშირე შესწავლილ დონორებში (n=852)



სურათი 16. ფენოტიპური ვარიაცია რეზუს დადებით დონორებში

7	A,Rh- k+ MN	0	0			
	A,Rh- k+ MM	0	0			
	A,Rh- k+ NN	0	0			
8	A,Rh-K- MN	16	1,58% ±0,3			
	A,Rh-K- MM	0	0			
	A,Rh-K- NN	0	0			
9	B,Rh+ k+ MN	27	2,67% ±0,5			
	B,Rh+ k+ MM	26	2,57% ±0,5			
	B,Rh+ K+ NN	0	0			
10	B,Rh+ K- MN	33	3,27% ±0,5			
	B,Rh+ K- NN	7	0,69% ±0,2			
	B,Rh+ K- MM	16	1,58% ±0,3			
11	B,Rh- k+ MN	0	0			
	B,Rh- k+ MM	0	0			
	B,Rh- k+ NN	0	0			
12	B,Rh-K- MN	0	0			
	B,Rh-K- MM	0	0			
	B,Rh-K- NN	0	0			
13	AB,Rh+ k+ MN	0	0			
	AB,Rh+ k+ MM	27	2,67% ±0,5			
	AB,Rh+ K+ NN	0	0			
14	AB,Rh+ K- MN	18	1,78% ±0,4			
	AB,Rh+ K- NN	0	0			
	AB,Rh+ K- MM	0	0			
15	AB,Rh- k+ MN	0	0			
	AB,Rh- k+ MM	0	0			
	AB,Rh- K+ NN	0	0			
16	AB,Rh-K- MN	1	0,09% ±0,09			
	AB,Rh-K- MM	1	0,09% ±0,09			
	AB,Rh-K- NN	0	0			

this system, it is first necessary to disrupt the activity of natural antibodies. Natural group-specific antibodies are suppressed by temperature shock; as you know, they are associated with "cold agglutinins" and are easily dissipate at high temperatures; Therefore, plasma processing of patients took 30-40 minutes in a water bath at 70C. It was only then that it became possible to investigate immune anti A and anti B antibodies using the Combs experiment.

Result The Combination of Rh, Kell and MN Antigens in Donors for the groups - O, A, B, AB

As we have already mentioned in the second chapter, four types of group system phenotypic combinations have been studied in 1009 blood donors. Based on four group system combinations, we have identified theoretically possible 48 phenotypic groups. (Table N 1)

Table № 1 - The combination of Rh, Kell and MN antigens in donors for O, A, B, AB groups.

N	Phenotypic combinations	Number of donors (1009)	Percentage and Error	Df	χ^2	C V	P	
1	O,Rh+ k+ MN	125	12,3% ±1,03	47	32	62.	The P-Value is < .00001. The result is significant at p < .05.	
	O,Rh+ k+ MM	96	9,51% ±0,9					21,
	O,Rh+ K+ NN	31	3,07% ±0,5					
2	O,Rh+ K- MN	38	3,7% ±0,5					
	O,Rh+ K- NN	2	0,19% ±0,1					
	O,Rh+ K- MM	112	11,10% ±0,9					
3	O,Rh- k+ MN	47	4,65% ±0,6					
	O,Rh- k+ MM	0	0					
	O,Rh- k+ NN	6	0,59% ±0,2					
4	O,Rh-K- MN	0	0					
	O,Rh-K- MM	47	4,65% ±0,6					
	O,Rh-K- NN	0	0					
5	A,Rh+ k+ MN	37	3,66% ±0,5					
	A,Rh+ k+ MM	111	11% ±0,9					
	A,Rh+ K+ NN	27	2,67% ±0,5					
6	A,Rh+ K- MN	56	5,55% ±0,7					
	A,Rh+ K- NN	7	0,69% ±0,2					
	A,Rh+ K- MM	95	9,41% ±0,9					

როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, ამ შემთხვევისთვის ჩვენ გამოვიყენეთ ერთცვლადიანი X-კვადრატის კრიტერიუმი. სტატისტიკურად გამოვლინდა X-კვადრატის კრიტერიუმის მაღალი რიცხვი, რაც ფენოტიპების არათანაბარ განაწილებაზე მიუთითებს. ამ კონკრეტულ შემთხვევაში χ^2 -ის მნიშვნელობა საკმაოდ ეფექტურია ნულოვანი ჰიპოტეზის (E=0) უარყოფისთვის. ამ შემთხვევაში χ^2 უდრის 651-ს. ეს გაცილებით მეტია, ვიდრე დიდია თავისუფლების ხარისხის კრიტერიუმის (d.f.=8) კრიტიკული მნიშვნელობა(CV), რომელიც 15,51-ის ტოლია. P-ს მნიშვნელობა არის < .00001. შედეგი მნიშვნელოვანია p < .05-ზე. (ცხრ.9).

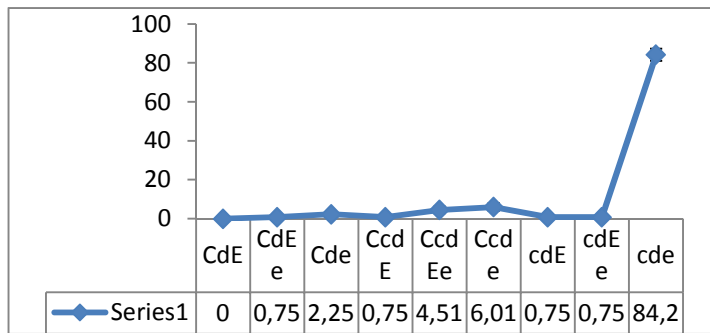
ცხრილი 9. რეზუს დადებითი ფენოტიპების X-კვადრატის პროპორციული ანალიზი

Rh დადებითი ფენოტიპი	(O-E)²/E	df	χ^2	CV	P
CDE	70,11	8	651	15,51	P-ს მნიშვნელობა არის < .00001. შედეგი მნიშვნელოვანია p < .05-ზე.
CDEe	46,32				
CDe	25,6				
CcDE	46,32				
CcDEe	90,96				
CcDee	309				
cDE	44,21				
cDEe	0,65				
ccDee	17,9				

რეზუს დადებითი დონორებისგან განსხვავებით, რეზუს უარყოფითი დომინანტური (ყველაზე მეტად გავრცელებული) ფენოტიპური მახასიათებელი იყო მხოლოდ ერთი. ეს არის ფენოტიპი cde. ჯამში, შესწავლილ დონორებში გამოვლინდა 143 რეზუს უარყოფითი და მათგან 112 დონორს ჰქონდა ფენოტიპი cde. შეგვიძლია ვთვათ, რომ ეს ფენოტიპი უფრო მეტადაა

მახასიათებელი რეზუს უარყოფითი სისხლის დონორებისთვის. ამ ფენოტიპის გავრცელება იყო 84,2%.

სამი ფენოტიპის (Ccde, CcdEe და Cde) გავრცელების სიხშირე იყო 7,8-ჯერ ნაკლები cde ფენოტიპთან შედარებით და სულ ჯამში 12,77 % (Ccde- 6,01%; CcdEe - 4,51% და Cde – 2,25%) შეადგენდა. რაც შეეხება სხვა ოთხ ფენოტიპს (CddEe – 0,75%, CcdE-0,75, cdE – 0,75%, cdEe- 0,75%) მათი საერთო გავრცელების სიხშირე შესწავლილ დონორებში იყო მხოლოდ 3% (სურ.17).



სურათი 17. ფენოტიპური ვარიაციები რეზუს უარყოფით დონორებში

ცხრილი 10. რეზუს უარყოფითი ფენოტიპების X-კვადრატის პროპორციული ანალიზი

Rh უარყოფითი ფენოტიპი	(O-E) ² /E	df	χ^2	CV	P
CdE	14,7	8	727	15,51	P-ს მნიშვნელობა არის < .00001. შედეგი მნიშვნელოვანია p < .05-ზე.
CdEe	12,76				
Cde	9,31				
CcdE	12,76				
CcdEe	5,1				
Ccde	3,05				
cdE	12,76				
cdEe	12,76				
cde	644				

Only of 233 donors out of 1009 are the female. This is caused by the fact that the hemoglobin level goes down after the donation and women themselves have naturally lower hemoglobin level compared to men, which is caused by menstrual cycle.

As for the nationalities, most of them are Georgians, but there are people from Armenia, Azerbaijan Ossetia, Russia and others.

The material for the research has been taken adhering to the ethic norms. Based on the conclusion of the Clinic Bioethics Committee, we were able to use the laboratory and this means that we did not have to do an additional invasion for collecting blood samples of the donors and newborns. The research material for the doctoral thesis has been taken in the dynamics of five years (2015-2020).

The blood of 85 newborns was tested for antigen-antibodies of the ABO system, and the blood of 1009 donors - for group antigens of red blood cells. The material of the diagnostic laboratory was provided to Batumi health Center Medina Ltd. Laboratory analysis was carried out on the basis of the laboratory of immunogenetics at Batumi Shota Rustaveli State University.

The study used an express method of immunoserology using monoclonal antibodies. Monoclonal antibodies of the following specificity were used for the experiment: anti -A, -B, AB, A2 (H), -A1, D, C, c, E, e, K, k, M, N, S, s. For the screening of group-specific antigens and natural antibodies of the ABO system, the so-called crossing or reverse method was used. In addition, the donor group in some cases was also determined by column agglutination methods. AHG (anti human globulin) plates –so-called ID cards were used. In particular, special ID cards ABO/Rh (A, B, DVI+/A, B, DVI+) for donors and A1, A2, B/I, II, III for reverse phenotyping of the ABO system were used.

Natural anti-A and anti-B antibodies of the ABO system were determined by crossing methods. Standard erythrocytes were used to detect them. To determine the anti-A and anti-B immune antibodies of

- screening of group-specific antigens of ABO system in the blood of newborns and donors using various serological methods;
- screening of group-specific antigens of ABO system in the plasma of newborns and donors using various serological methods;
- screening of A1, A2(H) antigens in the blood of newborns and donors;
- the study of Rh antigens (D, C, c, E and e) in research material;
- screening of group-specific antigens of Kell and MNS system in the blood of newborns and donors;
- the study of the frequency of combinations of phenotypes in donors with all four group systems (ABO, RH, KELL, MNS)
- assessment of the quantitative and qualitative characteristics of natural and immune anti-A and anti-B antibodies of the ABO system;
- creation of an online donor database;
- assessment of the quantitative and qualitative characteristics of anti-Rhesus anti-D antibody;
- highlighting rare and interesting combinations of phenotypes and providing information about them to the clinic representatives.

Used research methods and material and technical base.

The subjects of our study are blood donors and newborns. The material of the research is vein blood and the blood of the newborn, which has been taken either from the vein of umbilical cord or from the peripheral vein. The blood samples of 85 newborns and 1009 donors have been studied for the erythrocyte group antigens.

According to the recommended norms and regulations of WHO (World Health Organization), only people from the certain age group can donate blood. The age range of the observed patients is 18-60. The minimum weight of the patients is 50 kg. One of the most necessary factors is also the level of hemoglobin. Hemoglobin level for the male donors should be at least 130.0mg all and for the female donors 120 g. Most of the observed donors are the males.

ამ შემთხვევაში სტატისტიკურად გამოვლინდა X-კვადრატის კრიტერიუმის მაღალი რიცხვი და იგი უდრის 727-ს. ეს გაცილებით მეტია, ვიდრე დიდია ვიდრე თავისუფლების ხარისხის კრიტერიუმის (d.f.=8) კრიტიკული მნიშვნელობა(CV), რომელიც 15,51-ის ტოლია. P-ს მნიშვნელობა არის < .00001. შედეგი მნიშვნელოვანია $p < .05$ -ზე. (ცხრ. 10).

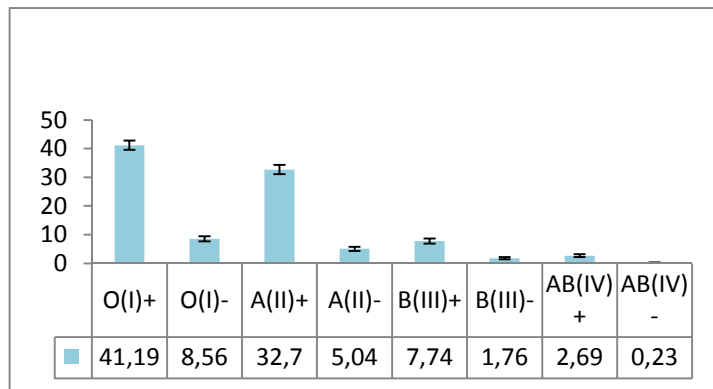
შესწავლილ დონორებში ჩვენს მიერ გამოთვლილი იქნა რეზუს სისტემის ჰაპლოტიპები. სამიზნე ჯგუფში გამოყოფილი იქნა შვიდი ჰაპლოტიპი. ესენია: *cde*, *Cde*, *cdE*, *cDe*, *cDE*, *CDe*, *CDE*. მათგან ყველაზე მეტად დონორებში წარმოდგენილია *cde* და იგი 0,33-ს უტოლდება. ყველაზე დაბალი გავრცელების სიხშირით კი წარმოდგენილია *CDE* ჰაპლოტიპი (ცხრ. 11).

ცხრილი 11. რეზუს სისტემის ჰაპლოტიპები შესწავლილ დონორებში

ფენოტიპების სიხშირე
$cde = 0,33 \quad \sqrt{ccddee}$
$Cde = 0,1 \quad \frac{ddee}{2cde}$
$cdE = 0,1 \quad \frac{ddEe}{2cde}$
$cDe = 0,13 \quad \frac{ccDee}{2cde}$
$cDE = 0,23 \quad \sqrt{ccDEE + cDE^2} - cDE;$
$CDe = 0,1 \quad \sqrt{CCDee + Cde^2} - Cde$
$CDE = 0,02 \quad \frac{CCDEe}{2(CDe + cde)}$

უარყოფით ჯგუფებთან კომბინაციაში. ზემოთ ხსენებული ფენოტიპური ჯგუფები იყო: O (I), Rh+; O (I), Rh-; A (II), Rh+; A (II), Rh-; B (III), Rh+; R (III), Rh-; AB (IV), Rh +; AB (IV), Rh-.

როგორც ნაჩვენებია მე-21 სურათზე, შესწავლილ დონორთა უმრავლესობა (41,19%) იყო O (I), Rh+ (n=351). დონორთა 32,7 % მიეკუთვნებოდა A (II), Rh+ ფენოტიპურ ჯგუფს. B (III), Rh+ ფენოტიპების სიხშირე იყო 7,74%. რეზუს დადებით ფენოტიპებს შორის ნაკლები სიხშირით ვრცელდება AB (IV), Rh + (სურ.18).



სურათი 18. ABO და Rh სისხლის ჯგუფის ფენოტიპების სიხშირე შესწავლილ დონორებში (n=852)

დღეისათვის სისხლის ტრანსფუზიის დროს ჩვენი კლინიკები ითვალისწინებენ ABO სისტემის ორ A და B და რეზუს სისტემისთვის D ანტიგენებს. იმ პირებისთვის, ვისაც არ აღენიშნება ეს ანტიგენები, ალოიმუნური სენსიბილიზაციის თეორიული რისკი ძალიან მაღალია. ტრანსფუზიის თვალსაზრისით, ანტიგენი “c” ასევე მნიშვნელოვანია რეზუს სისტემის ანტიგენებს შორის. D ანტიგენის შემდეგ, ანტიგენი c კლინიკურად ძალიან მნიშვნელოვანი რეზუს ანტიგენია. სამეცნიერო ლიტერატურაში მოცემულია უმარავი მონაცემი ამ ანტიგენით გამოწვეული ალოიმუნური სენსიბილიზაციის შესახებ

system (A,B) and five antigens of Rh system((D, C, c, E and e) are considered due to high immunogenicity in blood transfusion. In theory, there is a risk of high alloimmune sensitization in people who do not have these antigens. The compatibility between the donor and the recipient in the region is assessed only by the similarity or difference of the three antigenic compositions, however, no literature mentions that, in addition to these three vital antigens, the compatibility between the donor and the recipient should be assessed by other dangerous antigens in terms of transfusion.

newborns create an interesting study group; in contrast to adults, antigens A and B in some newborns are poorly expressed in comparison with erythrocytes, and the corresponding agglutinins may not be present in the blood serum, which causes certain difficulties in determining the blood group. From a scientific point of view, the biological material of donors and newborns is an interesting object of research. The composition of donor’s blood and the distribution of group antigens are still of great interest to a wide range of scientists, but they are not yet fully explored due to the multiplicity of group antigens and the variety of their combinations. It is also relevant to study of group composition and phenotyping so called hard-to-define blood groups of newborns using various method.

Research goals and objectives

The aim of our research was to study the screening characteristics of blood group antigens using various research methods. Both newborns and donors were targeted. The aim of our work was to study the features of antigen-antibody expression of the ABO system in newborns as well as the characteristics of expression of the erythrocyte group antigens in donors in one of the regional polyclinics. Based on the above goals, we set the following objectives:

- Selecting and modifying research methods;

are therefore of particular importance in organ transplantation and epidemiology. Specific antigens of the erythrocyte group can cause immune sensitization and hemolytic diseases of various complexity during pregnancy or blood transfusion in case of incompatibility (Manoj... 2014). From the point of view of genetics, the study of blood group antigens is important for determining population characteristics (<https://www.britannica.com/science/blood-group/The-importance-of-antigens-and-antibodies>). Humans are so individualized by group antigens that they also serve as identifiers.

Antigens of different systems of blood groups are unevenly distributed in the population. This means that populations differ in the composition of antigens. Some antigens are very rare in a particular population and therefore it is difficult to find a compatible donor.

Technical mistake made in determining group specifics is also important. Erythrocyte group antigen A, which occurs on the membrane surface of human red cells with blood groups A (II) and AB (IV), is commonly represented in two subgroups: A1 and A2. Among them, both quantitative and qualitative distinctive features are noted. In contrast to the A1 antigenic determinant, erythrocytes with a specificity of the A2 su-group are characterized by weak agglutinating ability with the monoclonal anti-A antibodies used in the study. Therefore, the method for determining group affiliation creates a high probability of the risk of agglutination of erythrocytes of the A2 subgroup by the plate method. Especially when agglutination is assessed with the naked eye. Based on the above, it is possible that blood group A (II) may be mistakenly assigned to group O (I) and AB (IV) -to B (III). In most transfusion centers in the world, the blood of donors at transfusion stations and blood banks is examined at the level of minor erythrocyte antigens. Often about 12-13 immunogenic antigens important for blood transfusion is studied and the probability of compatibility between donor and recipient are assessed accordingly. Currently, two antigens of ABO

(Makroo.. 2013, Cheikh ..2012). c ანტიგენის გავრცელების სიხშირე მსოფლიოს მოსახლეობაში არის 80-82%. ადამიანთა 18-20 % ის არ გააჩნია ეს ანტიგენი და ვლინდება of CC მდგომარეობაში. მხოლოდ ამ გენოტიპის მატარებელი ინდივიდები მიეკუთვნებიან ალოიმუნური სენსიბილიზაციის მაღალ რისკ ჯგუფს.

ჩვენ ყურადღება გავამახვილეთ cc და Cc გენოტიპურ დონორებზე, რადგან ორივე შემთხვევაში მათი ერთთროციტის მემბრანები შეიცავენ c ანტიგენებს. როგორც კვლევაში ვხედავთ, cc გენოტიპის სიხშირე შესწავლილ დონორებში არის 30,72% (ccD+ 17,42% და ccD- 13,3%), Cc გენოტიპის სიხშირე უფრო მაღალი იყო უტოლდება 50,82 (ccD+ - 49,06% და CcD- - 1,76%). როგორც ზემოთ განვიხილეთ, რეციპიენტში, რომელსაც აქვს CC გენოტიპი, მაღალია სენსიბილიზაცია ანტი-c ანტისხეულებით. CC გენოტიპის სიხშირე შესწავლილ დონორებში იყო 17,88% (ცხრ.12).

ცხრილი 12. CC, Cc, cc, EE, Ee, ee გენოტიპების კომბინაცია Rh+ and Rh- შემთხვევებთან

	Rh+	Rh-
CC	17,42%±1,29	0,46%±0,2
Cc	49,06%±1,7	1,76%±0,4
Cc	17,42%±1,29	13,3%±1,1
EE	5,1%±0,7	0,23%±0,1
Ee	31,8%±1,5	0,9%±0,3
Ee	47,44%±1,7	14,43%±1,2

2011 წელს (ნაგერვაძე.. 2011) შესწავლილი აღნიშნული გენოტიპების გავრცელება აჭარის მოსახლეობაში, რადგანაც ისინი არიან პოტენციური რეციპიენტები.

აღნიშნული კვლევის მიხედვით CC გენოტიპის გავრცელების სიხშირე აჭარის მოსახლეობაში უდრიდა 8%-ს. იგულისხმება, რომ ამ გენოტიპის მატარებლები არ შეიცავენ c ანტიგენს და ტრანსფუზიის დროს მხოლოდ შემთხვევების 17,88 % -ში ისინი სისხლს ღებულობენ CC დონორებიდან. შემთხვევების უმრავლესობაში, ისინი ანტი-c ანტისხეულებით გამოწვეული ალოიმუნური სენსიბილიზაციის მაღალი რისკის ქვეშ არიან, რადგან თეორიულად შემთხვევების 17,88 % -ში ისინი სისხლს ღებულობენ CC და cc დონორებიდან. ანტი- c ანტისხეულებით გამოწვეული იმუნიზაციის რისკის შემთხვევა არის 82,2%. CC გენოტიპის დონორებთან ტრანსფუზიის შემთხვევების მხოლოდ 17,88% არის უსაფრთხო.

ჩვენ აღმოვაჩინეთ რეზუს ფენოტიპების გავრცელების განსხვავებები სისხლის დონორებსა და აჭარის მოსახლეობას შორის, მაგალითად, სისხლის დონორებს შორის უფრო მეტი ფენოტიპური ვარიაცია, ვიდრე აჭარის მოსახლეობაში. აჭარის რეგიონის მოსახლეობაში დაფიქსირდა ექვსი რეზუს ფენოტიპური ჯგუფი სხვადასხვა გარცელების სიხშირით. ამავე რეგიონში, ერთი კლინიკის სისხლის დონორების მაგალითზე ჩვენ გამოვყავით 2,8-ჯერ მეტი რეზუს ფენოტიპური მახასიათებელი. მიგვაჩნია, რომ ამ განსხვავებების მიზეზი არის ის, რომ აჭარის მოსახლეობის დონეზე რეზუს ანტიგენების კვლევისას ყურადღება გავამახვილეთ ეროვნებაზე. წინა კვლევაში მონაწილე ყველა ადამიანი ეროვნებით ქართველია. სისხლის დონორების შემთხვევაში, რადგან ისინი არიან ოფიციალური დონორები, ეროვნება განსხვავებულია და დონორები მიეკუთვნებიან სხვადასხვა ეთნიკურ ჯგუფებს.

A1 და A2 ანტიგენები დონორებში

ჯგუფსპეციფიკური A ანტიგენი წარმოდგენილია ორი ფენოტიპური ჯგუფის მქონე ადამიანთა ერითროციტების მემბრანაზე. ესენია A(II) და AB(IV) ფენოტიპები. როგორც ლიტერატურულ ნაწილში იყო განხილული A ანტიგენი

Introduction

Group antigens determine the trophic and regulatory functions of blood cells. They are part of cellular receptors, through which hormones, vitamins, enzymes and other biologically active proteins are transported in the circulatory system and are the main structural elements of cell membrane adhesion (Минеева 2004, 2010; Westhoff ...2004; Kormoczi ... 2009). Blood group antigens determine the adaptation of a human as a biological species to the environment. The frequency of distribution of blood groups is not the same for different races and ethnic groups and is considered a manifestation of the genetic-geographical adaptation of a particular ecosystem in the process of evolution. (Makroo ...2013; Musa...2012). The clinical significance of blood group antigens is determined by their immunogenicity - their ability to create antibodies; they can damage erythrocytes, leukocytes, and thrombocytes. These antibodies cause post-transfusion difficulties, various types of transfusion reactions, neutropenia, and hemolytic disease in newborns. (Cheng ... 2012). Blood groups are determined by the absence or presence of a specific antigen on the surface of red blood cells. Currently, about 39 systems of erythrocyte groups are distinguished, which include about 346 antigens that can provoke the most severe transfusion reactions. (Lane...2015). From a clinical point of view, ABO, Rh, Kell, MNSs and other systems are the most important. The clinical significance of blood group antigens is determined by their immunogenicity - their ability to create antibodies; they can damage erythrocytes, leukocytes, and thrombocytes. These antibodies cause post-transfusion difficulties, various types of transfusion reactions.

The main biomedical value of the antigens of the erythrocyte group is largely related to the living immune properties. These antigens are of particular importance in blood transfusion, in particular, the exact blood grouping is very important when it comes to blood transfusion. The antigens of the ABO system are also considered tissue antigens and

The dissertation was completed at the Department of Biology of the Faculty of Natural Sciences and Health at Batumi Shota Rustaveli State University

Scientific supervisors :

Leila Akhvlediani;
Marina Magervadze.

Foreign appraiser :

Elisio Costa
Professor of the Department of Biological Sciences, Faculty of Pharmacy University of Port

Appraisers:

Nino Gachechiladze
Associate Professor of the Department of Biology, Faculty of Exact and Natural Sciences, Ivane Javakhishvili Tbilisi State University; Professor at the Faculty of Medicine, Eastern European University.

Davit baratashvili
Professor at the Faculty of Natural Sciences and Health, Batumi Shota Rustaveli State University

Neriman Tsintsadze
Associated Professor at the Faculty of Natural Sciences and Health, Batumi Shota Rustaveli State University

The thesis will be defended on **28. 12. 2020** , the session of the Disertation Board of the Faculty of natural science and healthy care, Batumi Shota Rustaveli State University

ძირითადად წარმოდგენილია რამდენიმე ქვეჯგუფის სახით, რომლებიც განსხვავებულ პრევალენტობას ავლენენ (Saboor M...2010; Mohieldin E.....2015).

ესენია: A1, A2 და სუსტი A ანტიგენური ვარიაციები. A(II) და AB(IV) ფენოტიპების მქონე ყველა მომდევნო ეტაპზე დაიტესტა ანტი- A1 ლექტინის გამოყენებით. როცა აგლუტინაციის ხარისხი კარგადაა გამოხატული, როგორც ანტი-A, ასევე A1 ლექტინის შემთხვევაში ნიმუში ჩათვლილია A1 ქვეჯგუფად. როცა აგლუტინაციის ხარისხი ანტი - A ანტისხეულთან 4+ შევასდა, მაგრამ უარყოფითი რეაქცია დაფიქსირდა ანტი - A ლექტინთან ნიმუში ჩათვლილი იქნა, როგორც A2 ქვეჯგუფი. როცა სუსტი აგლუტინაცია (1+ ან 2+) ვლინდება ანტი - A ანტისხეულთან და უარყოფითი რეაქცია ფიქსირდება ანტი - A ლექტინთან ნიმუში ჩათვლილი იქნა როგორც A ანტიგენის სუსტი ქვეჯგუფი. დავინტერესდით როგორ იყო აღნიშნული ვარიაციების გადანაწილება შესწავლილ დონორებში.

ჩვენს მიერ შესწავლილი 1009 დონორიდან A(II) ფენოტიპურ ჯგუფის მატარებელია 349 დონორი, ხოლო 19 დონორი ატარებს AB(IV) ჯგუფურ სპეციფიკაციას, რაც იმას ნიშნავს, რომ 36,23% შესწავლილი დონორებს ერითროციტის მემბრანაზე გააჩნიათ A ანტიგენი. მათგან დიდი უმრავლესობა აღნიშნულ ანტიგენს ატარებს A1 ვარიაციის სახით (ცხრ.13).

ცხრილი 13. A და AB ფენოტიპების ქვეჯგუფების გავრცელება სისხლის დონორებში (n=368)

ABO ფენოტიპები	ქვეჯგუფი	n	%
A	A1	324	32,11
	A2	25	2,47
AB	A1B	12	1,18
	A2B	7	0,69
ჯამში		368	36,45

როგორც მოცემული ცხრილიდან ჩანს A1 და A2 ქვეჯგუფების გავრცელების სიხშირე არათანაბარია. A2 და A2B შედარებით იშვიათ ფენოტიპებადაა ჩათვლილი. აღნიშნული 2 ფენოტიპი A1 და A1B ფენოტიპისაგან განსხვავდება ანტი-A1 ლექტინთან უარყოფითი რეაქციით. A(II) ფენოტიპური ჯგუფის მქონე დონორებში 324 შემთხვევაში გვხვდება A1 ქვეჯგუფი. აღნიშნული ჯგუფის დონორთა მცირე ნაწილი (n=25) ატარებს A2 ქვეჯგუფს. რაც შეეხება AB(IV) ფენოტიპურ ჯგუფს შესწავლილ დონორებში გამოვლინდა ორი ქვეჯგუფით A1B და A2B. ცხრამეტეტი AB(IV) ფენოტიპური ჯგუფის მქონე დონორთა 63% (n=12) ხასიათდება A1B ფენოტიპური სპეციფიურობით, ხოლო 37% კი - A2B.

აღნიშნულიდან გამომდინარე შეიძლება ავლნიშნოთ, რომ A2 ქვეჯგუფი შესწავლილ პოპულაციაში საკმაოდ დაბალი პრევალენტობით ხასიათდება. მისი გავრცელების სიხშირე მხოლოდ 4,05%-ია. აქვე გვინდა ავლნიშნოთ, რომ ჩვენს მიერ შესწავლილ A(II) და AB(IV) ფენოტიპური ჯგუფების შემთხვევაში სუსტი ქვეჯგუფები არ გამოვლენილა.

ბუნებრივი და იმუნური ანტისხეულები დონორებში

როგორც ცნობილია სისხლის მხოლოდ ABO სისტემისთვისაა დამახასიათებელი ბუნებრივი წარმოშობის ჯგუფსპეციფიკური ანტისხეულების არსებობა. ბუნებრივი ანტისხეულების (ანტი-A ანტი-B) გამოვლენა დონორებში ხდებოდა სისხლის ჯგუფის განსაზღვრის რევერსიული მეთოდით, რომლის დროსაც გამოიყენებოდა დონორის პლაზმა და A(II) და B(III) სტანდარტული ერითროციტური მასა. ბუნებრივი ანტისხეულები (ანტი-A ანტი-B) შეწავლილი იქნა 237 დონორში.

ბუნებრივი ანტი-A ანტისხეულის გავრცელების სიხშირე საკვლევ დონორის სისხლში 57 %-ია, ხოლო ანტი-B ანტისხეულისა კი 87%-ია (სურ. 19).

Batumi Shota Rustaveli State University
Faculty of Natural Sciences and Health
Department of Biology



Irine Tsintsadze

Topic: „The immunogenetic features of “hard defined” blood groups”

A dissertation submitted for the degree of Doctor of Biological Sciences
specialty: Genetics

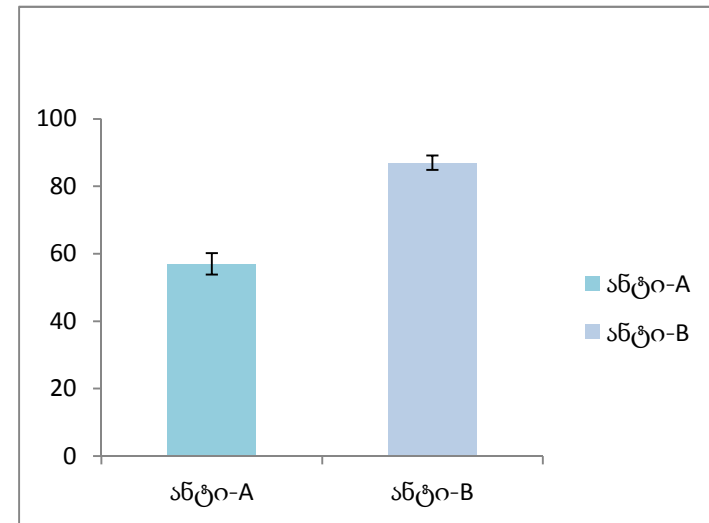
Annotation

Batumi-2020

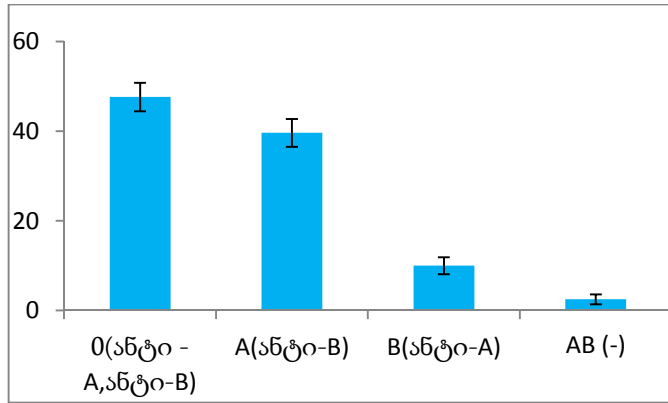
4. ახალშობილებში ჯგუფსპეციფიკური ანტიგენებიდან ყველაზე დაბალი აგლუტინაციის უნარით A ანტიგენი გამოვლინდა.

5. რთული ანამნეზის მქონე ახალშობილებში (ახალშობილთა ჰემოლიზურ ანემიისა და სხვა ტიპის ანემიების შემთხვევაში) ჯგუფის და რეზუსის ზუსტი განსაზღვრა თითქმის შეუძლებელია, მით უფრო თუ სისხლი აღებულია ჭიპლარის ვენიდან, ამიტომ ახალშობილებში სისხლი აღებული უნდა იქნეს ქუსლის ვენიდან, ერთროციტები კარგად გაირეცხოს და ტიპირება ჩატარდეს სხვადასხვა ალტერნატიული მეთოდით.

ჩვენს მიერ შესწავლილი დონორთა 10 % ატარებს მხოლოდ ანტი-A ანტისხეულს, რაც მახასიათებელია B(III) ფენოტიპური ჯგუფისათვის. შესწავლილ დონორთა 39,6 % პლაზმა ატარებს მხოლოდ ანტი-B ანტისხეულს, რაც ჩვეულებრივ ახასიათებთ A(II) ფენოტიპის მქონე დონორებს. 47,6 % დონორთა პლაზმაში კი ერთდროულად მოიპოვება როგორც ანტი-A, ასევე ანტი-B ანტისხეული და შესაბამისად აღნიშნული დონორები სისხლის O (I) ჯგუფის მქონენი არიან. დაბალი პროცენტული მაჩვენებლით ჩვენს მიერ გამოვლენილია ისეთი შემთხვევა, როცა დონორთა პლაზმაში არც ერთი ზემოთხსენებული ანტისხეული არ მოიპოვება გამომდინარე იქედან, რომ შესწავლილ სამიზნე ჯგუფში AB (IV) ფენოტიპური ჯგუფის გავრცელების სიხშირე დაბალია (სურ. 20).



სურათი 19. ბუნებრივი ანტისხეულების (ანტი-A ანტი-B) გავრცელების სიხშირე შესწავლილ დონორებში (n=237)



სურათი 20. ბუნებრივი ანტისხეულების (ანტი-A ანტი-B) გავრცელების სიხშირე ჯგუფური კუთვნილების გათვალისწინებით შესწავლილ დონორებში

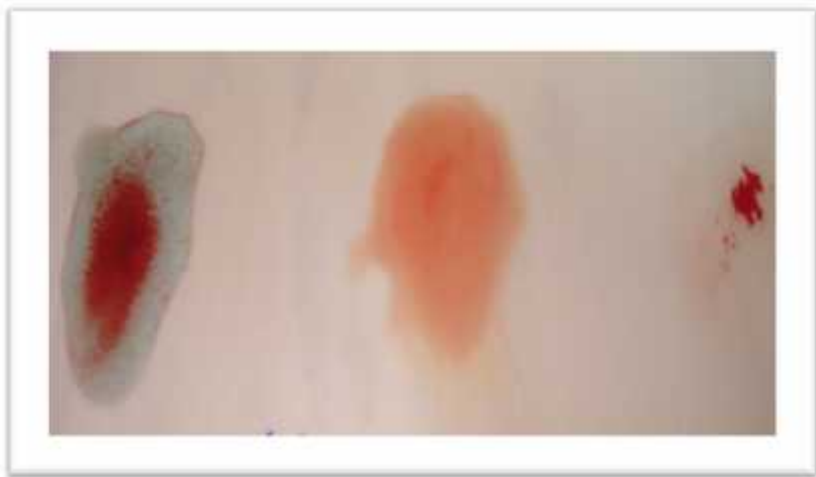
დავინტერესდით ასევე შეგვესწავლა ბუნებრივი ანტისხეულების რაოდენობრივი მახასიათებლები (ტიტრი). ამისათვის რანდომულად შევარჩიეთ 20 დონორი. 20 დონორში შესწავლილი იქნა ბუნებრივი ანტისხეულები და განსაზღვრული იქნა მათი ტიტრი (თითოეული ფენოტიპური ჯგუფისთვის აღებული გვქონდა 5 საკვლევი ნიმუში). ყველა მათგანში დაფიქსირებული იქნა მოსალოდნელი შედეგი, კერძოდ O (I) ჯგუფის დონორებში გამოვლინდა როგორც ანტი-A, ასევე ანტი-B ანტისხეული, A(II) ჯგუფის შემთხვევაში ანტი-B, B(III) - ანტი - A ანტისხეული, ხოლო AB (IV) ჯგუფის წარმომადგენლებში არც ერთი ჯგუფსპეციფიური ანტისხეული არ იქნა დაფიქსირებული. ჩვენს მიერ შესწავლილი იქნა აღნიშნული ანტისხეულების ტიტრიც. ყველა შესწავლილ შემთხვევაში ანტისხეულები წარმოდგენილი იყო მაღალი ტიტრით (მინიმუმ 1:512), მაგრამ აღსანიშნავია, რომ ანტი-A ანტისხეულის ტიტრი ანტი-B ანტისხეულთან შედარებით გაცილებით მაღალია ყველა შესწავლილ შემთხვევაში (ცხრ. 14, 15, 16,17).

დასკვნები

1. დონორებში ABO, Rh, Kell და MN ჯგუფური ანტიგენების თეორიულად მოსალოდნელი 48 ფენოტიპური კომბინაციიდან პრაქტიკულად გვხვდება 1,9-ჯერ ნაკლები ფენოტიპი ანუ შესწავლილ დონორებში ჯამში გამოვლინდა 25 ფენოტიპი. შესწავლილ დონორებში არ გამოვლინდა შემდეგი ფენოტიპური კომბინაციები: 1. O,Rh- K+ MM; 2. O,Rh-K- MN; 3. O,Rh-K- NN; 4. A,Rh- K+ MN; 5. A,Rh- K+ MM; 6. A,Rh- K+ NN; 7. A,Rh-K- MM; 8. A,Rh-K- NN; 9. B,Rh+ K+ NN; 10. B,Rh- K+ MN; 11. B,Rh- K+ MM; 12. B,Rh- K+ NN; 13. B,Rh-K- MN; 14. B,Rh-K- MM; 15. B,Rh-K- NN; 16. AB,Rh+ K+ MN; 17. AB,Rh+ K+ NN; 18. AB,Rh+ K- NN; 19. AB,Rh+ K- MM; 20. AB,Rh- K+ MN; 21. AB,Rh- K+ MM; 22. AB,Rh- K+ NN; 23. B,Rh-K- NN.

2. დონორებში გამოვლინდა რეზუს სისტემის მაღალი პოლიმორფულობის მახასიათებელი, კერძოდ: (27,8±1,53%) უმრავლესობა იყო CcDe (n=237) ფენოტიპი. ფენოტიპი CcDEe წარმოდგენილი 19,3±1,35% გავრცელების სიხშირე (n=165); ჩვენს მიერ შესწავლილ 125 დონორი ატარებდა CDe ფენოტიპს (14,6±1,2); cde ფენოტიპის სიხშირეა 13,1±1,5%, რაც იმას ნიშნავს, რომ 112 შესწავლილი დონორი მიეკუთვნებოდა ამ ფენოტიპურ ჯგუფს; 87 შესწავლილ დონორში აღინიშნებოდა cDEe ფენოტიპის მახასიათებლები (10,2%); cDe-ს ფენოტიპის სიხშირე იყო 4,9% (n=42); 19 დონორს გააჩნდა CDEe ფენოტიპი. სხვა ფენოტიპების (CDE, Cde, CcdEe, Ccde) სიხშირე კი მნიშვნელოვნად დაბალი იყო;

3. სისხლის დონორებში რეზუს სისტემა უფრო მრავალფეროვანი ფენოტიპური ვარიაციით გამოვლინდა (2,8-ჯერ მეტი რეზუს ფენოტიპური მახასიათებელი), ვიდრე აჭარის რეგიონის ქართულ პოპულაციაში;



სურათი 31. ცრუ აგლუტინაცია

ბიოლოგიური მასალა: პერიფერიული ვენური სისხლი აღებული ახალშობილის ქუსლის ვენიდან მიკროსინჯარებში სვეტური გელ-აგლუტინაციის მეთოდის გამოყენებით დაფიქსირდა B(III) Rh (+) (4+), ხოლო ფაიფურის ფირფიტაზე კი O (I) Rh(+). ამრიგად, მიუხედავად იმისა, რომ ჯგუფის და რეზუსის განსაზღვრის მეთოდის სამი სხვადასხვა ნაირსახეობა იქნა გამოყენებული, შედეგი ხშირ შემთხვევაში განსხვავებული იყო. ეს ქმნიდა ძალიან დიდ სირთულეს მძიმე ახალშობილისათვის რადგან, გვიანდებოდა სისხლის გადასხმა რომელსაც ეს ახალშობილები საჭიროებდნენ დონორის შერჩევის სირთულიდან გამომდინარე. ცრუ შედეგები ძირითადად ფიქსირდებოდა ჭიპლარის ვენიდან აღებული სისხლის ტიპირებისას.

ცხრილი 14. ჯგუფსპეციფიკური ანტიგენ-ანტისხეულები

სისხლის ჯგუფი	ერიტროციტური ანტიგენი	ბუნებრივი ანტისხეული (შესაბამისი ტიტრით)
O (I)	-	ანტი-A, ანტი-B
A (II)	B	ანტი-B
B (III)	A	ანტი-A
AB (IV)	A, B	--

ცხრილი 15. ჯგუფსპეციფიკური ანტისხეულების ტიტრი O (I) ჯგუფის ნიმუშებში

N	ანტი-A	ანტი-B
1.	1:1024	1:1024
2.	1:1024	1:1024
3.	1:2048	1:512
4.	1:1024	1:1024
5	1:2048	1:1024

ცხრილი 16. ჯგუფსპეციფიკური ანტისხეულების ტიტრი A (II) ჯგუფის ნიმუშებში

	1	2	3	4	5
ანტი-A	1:1024	1:1024	1:512	1:1024	1:1024

ცხრილი 17. ჯგუფსპეციფიკური ანტისხეულების ტიტრი B (III) ჯგუფის ნიმუშებში

	1	2	3	4	5
ანტი-B	1:1024	1:1024	1:512	1:512	1:1024

შესწავლი დონორთა არც ერთ შემთხვევაში არ გამოვლენილა იმუნური ანტი-A და ანტი-B ანტისხეული. ამ მიმართულებით კვლევა მოითხოვს უფრო მეტ სამიზნე ჯგუფს. ამ მხრივ აუცილებელია მეტი ანალიზების ჩატარება, რადგანაც იმუნური ანტისხეულების წარმოქმნა ხდება ერთეულ შემთხვევებში, რაც დაკავშირებულია იმუნოკონფლიქტურ ორსულობასთან ან შეუთავსებელი სისხლის ტრანსფუზიასთან.

ახალშობილებში ერთროციტური ჯგუფური ანტიგენებისა და ანტისხეულების გამოვლენის სპეციფიკური თავისებურებები

ახალშობილის სისხლის ტიპის დადგენა ერთ-ერთი პირველი ლაბორატორიული ტესტია, რომელიც დაბადების შემდეგ ახალშობილს უტარდება. ბიოლოგიური მასალა შეიძლება აღებული იქნას, როგორც ჭიპლარის ვენიდან, ასევე ახალშობილის პერიფერიული სისხლიდან. ჭიპლარის სისხლის შეგროვების დროს გარკვეული სიფრთხილეა საჭირო რათა არ მოხდეს ბიოლოგიური მასალის შერება, დედისა და ახალშობილის სისხლის, რამაც შეიძლება იმოქმედოს ანტიგენების სეროლოგიურ გამოვლინებაზე და გამოიწვიოს ცრუ აგლუტინაცია და/ან არასპეციფიკური რეაქცია. რაც შედეგების არასწორ ინტერპრეტირებას იწვევს.

ჩვენს მიერ შესწავლილი იქნა 85 ახალშობილის ბიოლოგიური მასალა. შესწავლილი ახალშობილების სისხლის ნიმუშებში ABO სისტემის ფენოტიპური ჯგუფები არათანაბრად განაწილებული. შესწავლილი 85 ახალშობილიდან 34 იყო I (O) ჯგუფის მატარებელი, 38 ახალშობილი A (II) ჯგუფური სპეციფიურობის მატარებელია, 11 – B (III) ფენოტიპურ ჯგუფურ თავისებურებებს ფლობს, 2 კი AB (IV) ჯგუფის სისხლის მატარებელი ახალშობილია (სურ. 21).

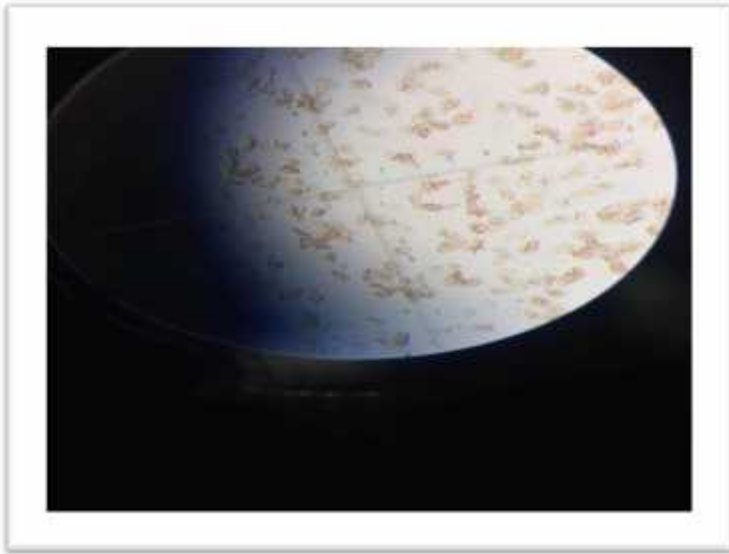
(I), Rh(-). მეთოდის სამი ნაირსახეობის განსხვავებულმა შედეგმა საგრძნობლად გაართულა ახალშობილის სისხლის ჯგუფის დადგენა და შესაბამისად, დონორის სისხლის შერჩევა გადასხმისათვის. ახალშობილის ჯგუფის დაზუსტების მიზნით შესწავლილი იქნა დედის ჯგუფობრიობა. დედას აღმოაჩნდა O(I) Rh(-) სისხლი. სისხლის ჯგუფის დამემკვიდრების თავისებურებებიდან გამომდინარე ახალშობილი ვერ იქნებოდა AB(IV) Rh(+). აღნიშნული ახალშობილის სისხლის ნიმუშიდან გამოყოფილი იქნა დნმ-ის ნიმუში მისი შემდგომი შესწავლის მიზნით.

ახალშობილი № 3.

ბიოლოგიური მასალა: ჭიპლარის სისხლი. ე. წ. სვეტური გელ-აგლუტინაციის მიკროსინჯარების გამოყენებით დაფიქსირდა O(I), Rh(+) (3+); მინის ბურთულებით სვეტური აგლუტინაციისას მიკროსინჯარებიანი ბარათების გამოყენებით კი - O(I) საექვო, Rh(+) (1+); აბსოლიტურად განსხვავებული შედეგი მივიღეთ ფაიფურის ფირფიტაზე მონოკლონური ანტისხეულებით კვლევისას, სადაც ახალშობილს განესაზღვრა - A(II), Rh(+). პარალელურ რეჟიმში გამოყენებული იქნა პერიფერიული ვენური სისხლი ახალშობილის ქუსლის ვენიდან, სადაც ყველა შემთხვევაში დაფიქსირდა O(I), Rh(+) ფენოტიპური კუთვნილება.

ახალშობილი № 4.

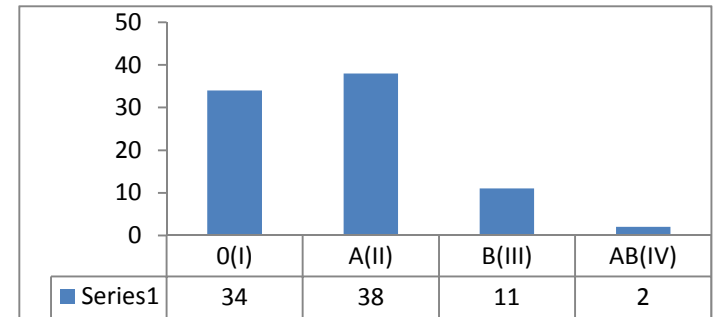
ბიოლოგიური მასალა: ჭიპლარის სისხლი. მიკროსინჯარებით სვეტური გელ-აგლუტინაციის გამოყენებით დაფიქსირდა B(III) (3+), Rh(+) (4+), იგივე დაფიქსირდა მინის ბურთულებით აგლუტინაციისას; ფაიფურის ფირფიტაზე მონოკლონური ანტისხეულებით კვლევისას კი - AB (IV) Rh (+). ფიზიოლოგიური ხსნარის დამატების შემდგომ აგლუტინაციის ეფექტი გაქრა (სურ. 31).



სურათი 30. სუსტი აგლუტინაცია

ახალშობილი № 2.

ბიოლოგიური მასალა: ჭიპლარის სისხლი. ე. წ. სვეტური გელ-აგლუტინაციის მიკროსინჯარების გამოყენებით დაფიქსირდა 0(I), Rh(+) (3+); მინის ბურთულებით სვეტური აგლუტინაციისას მიკროსინჯარებიანი ბარათების გამოყენებით კი - 0(I), Rh(+) (2+); აბსოლიტურად განსხვავებული შედეგი მივიღეთ ფაიფურის ფირფიტაზე მონოკლონური ანტისხეულების კვლევისას, სადაც ახალშობილს განესაზღვრა - AB(IV) Rh(+). ასევე აღსანიშნავია, ისიც რომ განსხვავებული შედეგი მივიღეთ როცა გამოყენებული იქნა პერიფერიული ვენური სისხლი (ახალშობილის ქუსლის ვენიდან), ამ შემთხვევაში მიკროსინჯარებში სვეტური გელ-აგლუტინაციის გამოყენებით დაფიქსირდა 0(I), Rh(+) (1+); მიკროსინჯარებში სვეტური მინის ბურთულებით აგლუტინაციის გამოყენებით კი - 0(I), Rh(+) (2+); ხოლო ფაიფურის ფირფიტაზე - 0



სურათი 21. ABO ფენოტიპის გავრცელების სიხშირე შესწავლილ ახალშობილებში

ცხრილი 18. ABO სისტემის გენების გავრცელების სიხშირე ახალშობილებში

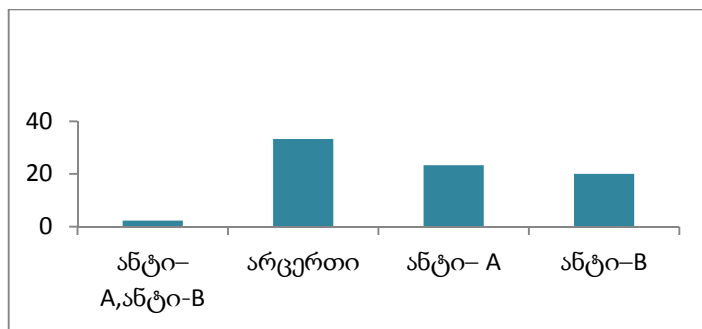
ABO სისტემის ალელები	სიხშირე
$r = \sqrt{O}$	0,6
$p = 1 - \sqrt{A + O}$	0,1
$q = 1 - \sqrt{B + O}$	0,03

სადაც 0, A და B – 0(I), A(II) და B(III) ჯგუფის მატარებელ ადამიანთა თანაფარდობაა საკვლევს ობიექტთა საერთო რაოდენობასთან მიმართებაში.

შესწავლილ ახალშობილებში ასევე გამოკვლეული იქნა ABO სისტემის გენების გავრცელების სიხშირე. მათი სიხშირე გამოთვლილი იქნა ფორმულით, რომელიც გამოიყენება სამალელიანი გენეტიკური სისტემის კვლევისას. r, p, q ალელების სიხშირე შესწავლილ დონორებში ყველაზე მაღალი სიხშირით გვხვდება და ის 0,6 უტოლდება, მას ბევრად ჩამორჩება q ალელის

გავრცელების მაჩვენებელი, რომელიც 0.3-ის ტოლია, ხოლო p ალელის სიხშირე ყველაზე დაბალია და 0.1 შეადგენს (ცხრ.18).

ახალშობილთა ჯგუფური ანტიგენების სკრინინგის პარალელურად დავინტერესდით გვენახა ჯგუფსპეციფიური ანტისხეულების გამოვლინების თავისებურებანი აღნიშნულ სამიზნე ჯგუფში. როგორც ლიტერატურული წყაროებიდან ცნობილია, O(I) ჯგუფის მატარებლებს სისხლის პლაზმაში გააჩნიათ, როგორც ანტი-A, ასევე, ანტი-B ბუნებრივი ანტისხეულები. O(I) ჯგუფის ახალშობილების შემთხვევაში ზრდასრული ადამიანებისაგან განსხვავებით ჯგუფსპეციფიური ანტიგენების გამოვლინება განსხვავებულია. ჩვენს მიერ გამოკვლეული O(I) ჯგუფის ახალშობილების 2,3% ატარებს როგორც ანტი-A ასევე ანტი-B ანტისხეულებს, ხოლო 33,3% შემთხვევაში საერთოდ არ დაფიქსირდა არც ერთი ანტისხეული, ახალშობილთა 23,3% ატარებს მხოლოდ ანტი- A ანტისხეულს, ხოლო 20% მხოლოდ ანტი-B ანტისხეულებს (სურ. 27).



სურათი 22. ბუნებრივი ანტისხეულების არსებობა O(I) ჯგუფის ახალშობილებში

როგორც ცნობილია A(II) ჯგუფის მატარებელი ზრდასრული ადამიანის სისხლის პლაზმაში აღნიშნება მხოლოდ ანტი-B ანტისხეული. ჩვენს მიერ გამოკვლეული A(II) ჯგუფის მატარებელ 38 ახალშობილიდან 23 გამოვლინდა მოსალოდნელი შედეგი, ისე როგორც, ზრდასრულებში უნდა იყოს, ხოლო 14

კვლევისას გამოვლენილი ცალკეული შემთხვევების ანალიზი

საჭიროდ ჩავთვალეთ ნაშრომში გაგვეხილა შესწავლილ ახალშობილთა ცალკეული შემთხვევები. ქვემოთ მოტანილია ჩვენს მიერ გამოვლენილი ოთხი საინტერესო შემთხვევა, სადაც ახალშობილის სისხლის ჯგუფის განსაზღვრის სირთულესთან გვეკონდა საქმე და ისინი მიეკუთვნებოდნენ. ე. წ. ძნელად განსასაზღვრ სისხლის ჯგუფის ვარიანტებს.

ახალშობილი № 1

ბიოლოგიური მასალა: ახალშობილის ჭიპლარის ვენური სისხლი. კვლევისას გამოყენებული იქნა იმუნოსეროლოგიური მეთოდი შემდეგი სპეციფიურობის მქონე მონოკლონური ანტისხეულებით: ანტი-A, -A1 ლექტინი, -H ლექტინი, -B, -AB, -D, -E, -e, -C, -c, -K, -k. ასევე გამოყენებული იქნა ამ მეთოდის 2 ნაირსახეობა: სვეტური გელ-აგლუტინაცია მიკროსინჯარებში და მინის ბურთულებით აგლუტინაცია მიკროსინჯარებში ბარათებზე.

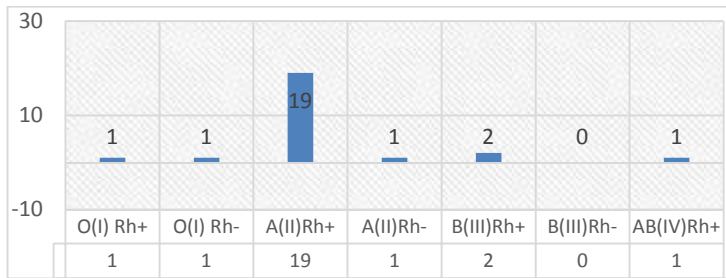
Rh და kell სისტემის ანტიგენების აგლუტინაცია თანამოსახლე მონოკლონური ანტისხეულებით ფაიფურის ფირფიტაზე იყო კარგად გამოხატული, რაც შეეხება ABO სისტემის ანტიგენების კვლევას აქ გამოვლინდა B ანტიგენის ძლიერი აგლუტინაცია. სვეტური აგლუტინაციით (როგორც გელ აგლუტინაციის ხარისხი 4+ შეესაბამებოდა, ხოლო ფირფიტული მეთოდით ძლიერი ხარისხის აგლუტინაციის შეფასება შეუიარაღებელი თვალითაც შეიძლებოდა.

რაც შეეხება, აგლუტინაციის რეაქციას ანტი-A, ანტი-A1, ანტი-H მონოკლონურ ანტისხეულებთან, დასაწყისში რეაქცია საერთოდ არ ჩანდა შეუიარაღებელი თვალით, მაგრამ აგლუტინაციის გამოვლინების დროის ფაქტორის გაზრდით (5 წთ დაყოვნების შემდეგ) და ფიზიოლოგიური ხსნარის დამატებით და სინათლის მიკროსკოპში (10X4) დათვალიერებით გამოვლინდა ძალიან დაბალი ხარისხის (სუსტი) აგლუტინაცია (სურ. 30). ცდა დადგმული იქნა ანტი-A მონოკლონზე 2 ჯერ.

რეზუს სიტემის ანტიგენების თავისებურებანი მძიმე ჰემოლიზის მქონე ახალშობილებში

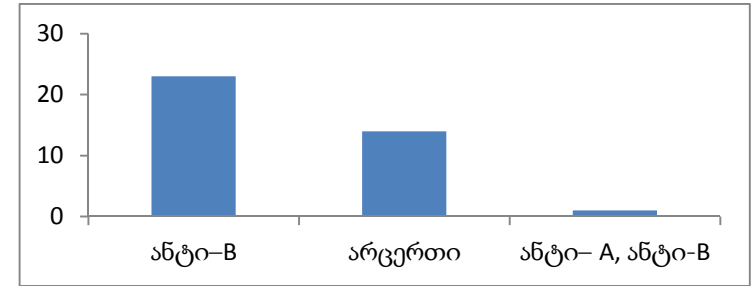
შესწავლილ ახალშობილებში არც ერთ შემთხვევაში არ გვექონია რეზუს ფაქტორთან ჯგუფის განსაზღვრის სირთულე, რაც როგორც ჩანს გამოწვეულია D ანტიგენის ძლიერი აგლუტინობელობის ჩამოყალიბების უნარით პრენატალური განვითარების პერიოდში. 25 რთული ახალშობილიდან დიდი უმრავლესობა ატარებდა D ანტიგენს. მხოლოდ ორ შემთხვევაში არ გამოვლინდა აღნიშნული ანტიგენი (სურ.29). აქვე გვინდა ავღნიშნოთ, რომ ყველა შესწავლილ ვარიანტში D ანტიგენით გამოწვეული აგლუტინაცია ფაიფურის ფირფიტაზე ვლინდებოდა 2-3 წუთის განმავლობაში და მისი შემჩნევა შესაძლებელი იყო შეუარადებელი თვალითაც, ხოლო სვეტური აგლუტინაციის მეთოდის (გამოყენებული იქნა ამ მეთოდის 2 ნაირსახეობა: სვეტური გელ-აგლუტინაცია მიკროსინჯარებში და მინის ბურთულებით აგლუტინაცია მიკროსინჯარებში) გამოყენებით ვლინდებოდა 4+ და 3+ შესაბამისი აგლუტინაცია.

განსხვავებით ABO სისტემის ანტიგენებისა. სვეტური აგლუტინაციის მეთოდის გამოყენებისას A ანტიგენის შემთხვევაში შეინიშნებოდა საკმაოდ დაბალი ვარიაბელურობის უნარი, კერძოდ აქ ძირითადად გვხვდებოდა 3+, 2+ აგლუტინაცია. ერთეულ შემთხვევაში ასევე გამოვლინდა 1+ ხარისხის აგლუტინაცია.



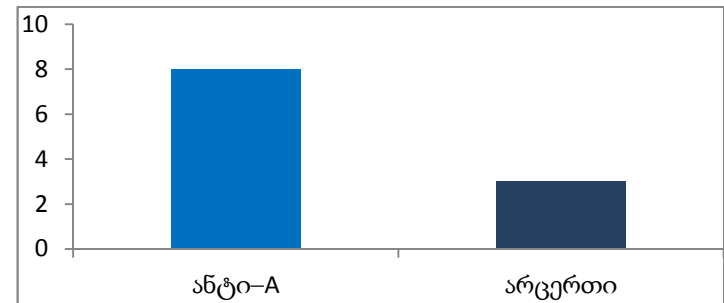
სურათი 29. რეზუს ჯგუფური კუთვლინება ABO სისტემის ანტიგენებთან კომბინაციაში

ახალშობილში არ გამოვლინდა არც ერთი ბუნებრივი ანტისხეული. ერთ შემთხვევაში გამოვლინდა საინტერესო და მოულოდნელი შედეგი, დაფიქსირდა როგორც ანტი-A, ასევე ანტი-B ანტისხეული (სურ 23). არ არის გამორიცხული, რომ ანტი-A ანტისხეული იმუნური ტიპისა იყოს.



სურათი 23. A(II) ჯგუფის ახალშობილების სისხლის პლაზმაში ანტისხეულების გამოვლენის სიხშირე

B(III) ჯგუფის მატარებელ ახალშობილებიდან, რომელთა რაოდენობა 11 შეადგენდა უნდა გამოვლენილიყო პლაზმაში მხოლოდ ანტი-A ანტისხეული. მათგან მხოლოდ 8 ახალშობილში გამოვლინდა ანტი - A ანტისხეული, ხოლო დანარჩენ სამ შემთხვევაში აღნიშნული ანტიგენი არ გამოვლინდა (სურ.24).



სურათი 24. B (III) ჯგუფის ახალშობილების სისხლის პლაზმაში ანტი-A ანტისხეულის გამოვლენის სიხშირე

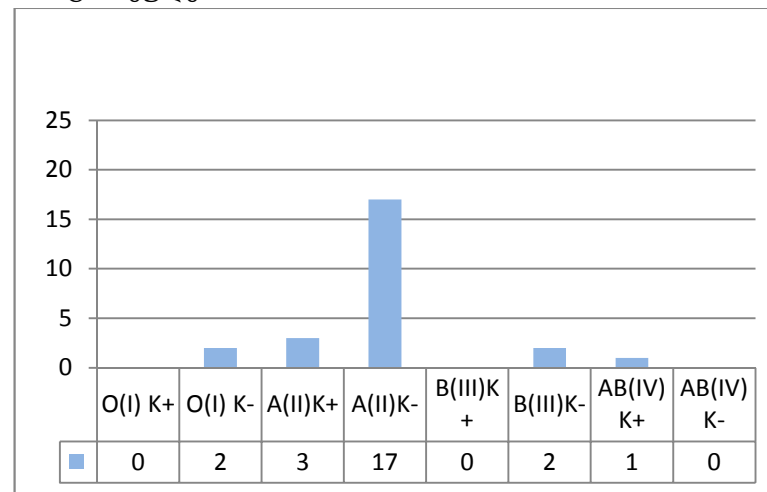
85 გამოკვლეული ახალშობილიდან მხოლოდ ორს აღმოაჩნდა AB(IV) ჯგუფის სისხლი. როგორც ცნობილია, ზრდასრულებში მეოთხე ჯგუფის მქონე პირთა პლაზმაში არცერთი ანტისხეული არ არის. მსგავსი სურათი გამოვლინდა ახალშობილებშიც.

A ანტიგენის ქვეჯგუფები A(II) და AB (IV) ჯგუფის მქონე ახალშობილებში

ახალშობილთა სისხლის ჯგუფობრიობის განსაზღვრისას ვიყენებდით სეროლოგიურ ფირფიტულ და სინჯარულ მეთოდებს. ყოველ A(II) და AB (IV) ფენოტიპის მქონე ახალშობილებში კვლევა დამატებითად წარიმართებოდა ანტი A1 ლექტინისა და ანტი-H ლექტინის გამოყენებით. სეროლოგიურ რეაქციებზე დაყრდნობით შესაძლებლობა გვქონდა მოგვეხდინა A1/A1B, A2/A2B და სუსტი A ქვეჯგუფების კვლევა. როცა აგლუტინაციის ხარისხი კარგადაა გამოხატული, როგორც ანტი-A, ასევე A1 ლექტინის შემთხვევაში ნიმუში ჩათვლილია A1 ქვეჯგუფად. როცა აგლუტინაციის ხარისხი ანტი - A ანტისხეულთან 4⁺ შეფასდა, მაგრამ უარყოფითი რეაქცია დაფიქსირდა ანტი - A ლექტინთან ნიმუში ჩათვლილი იქნა, როგორც A2 ქვეჯგუფი. როცა სუსტი აგლუტინაცია (1⁺ ან 2⁺) ვლინდება ანტი - A ანტისხეულთან და უარყოფითი რეაქცია ფიქსირდება ანტი - A ლექტინთან ნიმუში ჩათვლილი იქნა, როგორც A ანტიგენის სუსტი ქვეჯგუფი. დავინტერესდით როგორ იყო აღნიშნული ვარიაციების გადანაწილება შესწავლილ ახალშობილებში. დონორებისაგან განსხვავებული სურათი გამოიკვეთა ახალშობილებში აღნიშნული ქვეჯგუფების კვლევისას. შესწავლილი დონორების 46% ატარებს A ანტიგენს, მათგან 44 მოდის A (II) ფენოტიპურ ჯგუფზე, ხოლო დანარჩენი 2 კი AB (IV) ფენოტიპის მატარებელია.

ჩვენმა კვლევამ აჩვენა, რომ ახალშობილების ერთროციტების რეაქცია ანტი- A1 ლექტინზე ძალიან დაბალია. უმეტეს შემთხვევაში რეაქცია არ ვლინდება. იშვიათ შემთხვევაში ძალიან

გამოწვეული. სამწუხაროდ ჩვენს მიერ ვერ იქნა შესწავლილი ანტი-Kell ანტისხეულები.



სურათი №28. K⁺ და K⁻ ფენოტიპები მძიმე ჰემოლიზური ანემიის მქონე ახალშობილებში

ასევე ყურადღება იქნა გამახვილებული რეზუს სისტემის c ანტიგენზე, როგორც ერთ-ერთ იმუნოგენურ ანტიგენზე, რომელსაც ორსულობის დროს ასევე შეუძლია იმუნური რეაქციების პროვოცირება და ახალშობილებში ჰემოლიზური რეაქციების გამოწვევა. ჩვენს მიერ შესწავლილი ჰემოლიზური სიყვითლის მქონე 25 ახალშობილიდან ერთი ახალშობილი, რომელსაც ჰქონდა c (cc) ანტიგენი რეცესიულ ჰომოზიგოტურ მდგომარეობაში, ხოლო დედას არ გააჩნდა აღნიშნული ანტიგენი და ის CC ვარიანტი იყო. სავსებით დასაშვებია, რომ ჰემოლიზური სიყვითლე ამ ახალშობილებში ანტი-c ანტისხეულებით იყო გამოწვეული. ამ კონკრეტულ შემთხვევაშიც ჩვენს მიერ არ იქნა შესწავლილი ანტი-c ანტისხეულები.

თუკი შევადარებთ ახალშობილთა და დონორთა ანტი-A და ანტი-B ანტისხეულების რაოდენობრივ მახასიათებელს გამოჩნდება სერიოზული სხვაობა მათ შორის. ახალშობილებში ზრდასრული ადამიანებისაგან განსხვავებით ან საერთოდ არ გვხვდებოდა ბუნებრივი წარმოშობის ბუნებრივი ანტისხეულები ან მათი შეხვედრის შემთხვევაში საკმაოდ დაბალი ტიტრით იყო წარმოდგენილი. ასევე აღსანიშნავია, რომ ანტი - A ანტისხეულის ტიტრი ბევრად მაღალი იყო ანტი- B ანტისხეულების ტიტრთან შედარებით. მსგავსი სურათი გვქონდა დონორების (ზრდასრულების) შემთხვევაშიც.

მძიმე ჰემოლიზური ანემიის მქონე ახალშობილები

ცალკე გვინდა განვიხილოთ მძიმე ჰემოლიზური ანემიის მქონე ახალშობილები, რომელთა შემთხვევაში კიდევ უფრო რთულდება სისხლის ჯგუფის ფენოტიპური განსაზღვრა და ჩნდება გენოტიპირების აუცილებლობა. სირთულე მდგომარეობს შემდგომში: სხვადასხვა იმუნოსეროლოგიური მეთოდის გამოყენებით მათში ვლინდება სხვადასხვა ჯგუფური კუთვლინება.

ჩვენს მიერ შესწავლი 85 ახალშობილიდან 25 მძიმე ანამნეზის მქონე იყო, მათ შორის რამდენიმე - ახალშობილთა ჰემოლიზური სიყვითლის დიაგნოზით, რაც დადასტურებული იქნა კუმბსის პირდაპირი რეაქციის მეშვეობითაც. დანარჩენ შემთხვევებში ჰემოლიზი არ იყო გამოწვეული ABO სისტემის შეუთავსებლობით, რადგანაც იმუნური ანტი-A და ანტი-B ანტისხეულები არ იქნა გამოვლენილი არც დედის შრატში. ერთეულ შემთხვევაში გამოიკვეთა საინტერესო ნიუანსი, კერძოდ, რამდენიმე ახალშობილს (n=4) აღმოაჩნდა K+ სისხლის ჯგუფი, მაშინ როცა დედას აღნიშნული ფაქტორი არ გააჩნდა და K- ფენოტიპის მქონე იყო (სურ. 28). სავსებით შესაძლებელია, რომ ჰემოლიზური რეაქცია სწორედ აღნიშნული ანტიგენით იყო

დაბალი აგლუტინაციაა გამოხატული. ქვემოთ მოცემულ ცხრილში ჩანს ახალშობილთა საკვლევ ნიმუშებში ოთხი გამოვლენილი ვარიანტი (ცხრ.19).

ცხრილი 19. ახალშობილთა ნიმუშების სეროლოგიური რეაქციები

ნიმუშები	ანიტი-A	ანიტი-B	ანიტი-AB	ანიტი-A ლექტინი	ანიტი- H ლექტინი	შედეგის ინტერპრეტაცია
1	+	-	+	-	+	A2
2	+	-	+	+(მალიან სუსტი აგლუტინაცია)	+	A1
3	+	+	+	-	+	A2B
4	+	+	+	+(მალიან სუსტი აგლუტინაცია)	+	A1B

როგორც ქვემოთ მოცემული ცხრილიდან ჩანს A1 და A2 ქვეჯგუფების გავრცელების სიხშირე ახალშობილებში არათანაბარია. თუკი დონორების შემთხვევაში A2 და A2B შედარებით იშვიათ ფენოტიპებადაა ჩათვლილი ახალშობილებში მათი რაოდენობა სჭარბობს A1 და A1B ფენოტიპებს. შესწავლილ ახალშობილთა 7% ატარებს A1 ქვეჯგუფს. 37% შემთხვევაში გვხვდება A2 ქვეჯგუფი. რაც შეეხება AB(IV) ფენოტიპურ ჯგუფის მქონე ორ ახალშობილს მათში სეროლოგიურად გამოვლინდა A2B.

ცხრილი 20. ახალშობილთა A ანტიგენის ქვეჯგუფები

ABO ფენოტიპები	ქვეჯგუფი	N	%
A	A1	6	7
	A2	32	37
AB	A1B	0	0
	A2B	2	2
ჯამში		40	46

აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ სეროლოგიურად გამოვლენილი A2 და A2B ფენოტიპების სიჭარბე ახალშობილებში გამოწვეულია სისხლის ჯგუფური ანტიგენების არასრულფასოვანი სინთეზის გამო. როგორც ლიტერატურულ ნაწილში ავლნიშნეთ ABO სისტემის ანტიგენების სრულ ექსპრესიას სჭირდება პოსტნატალური განვითარების პერიოდი, ამიტომაც ახალშობილთა A1 ჯგუფის ერითროციტები თავისი არასრული სინთეზის გამო სეროლოგიურად რეაქციას არ ავლენს ანტი-A1 ლექტინთან. ამიტომაც სეროლოგიურად A1 ქვეჯგუფის ავლენს მიმიკრიულ თავისებურებებს A2 ქვეჯგუფთან, რაც ონტოგენეზის მომდევნო ეტაპზე ცვალებადი ნიშანია.

H ანტიგენი და მისი სკრინინგის თავისებურებები ახალშობილებში და დონორებში.

ერითროციტურ ჯგუფურ სისტემებს შორის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან სისტემად H ჯგუფური სისტემა მიჩნეული. სხვა ერითროციტური ჯგუფური სისტემებისაგან განსხვავებით აღნიშნული სისტემა შეიცავს მხოლოდ ერთ მინორულ - H ანტიგენს. როგორც ლიტერატურულ ნაწილში იყო აღნიშნული H გენეტიკური სისტემა დამოუკიდებელი გენეტიკური სისტემაა და ის დამოკიდებული არაა ABO სისტემაზე. H და ABO სისტემების ანტიგენების მაკოდირებელი გენური ლოკუსები მოთავსებულია სხვადასხვა არაჰომოლოგიურ ქრომოსომებში. მაგრამ ცნობილი ფაქტია, რომ H ანტიგენი მნიშვნელოვან და გადამწყვეტ როლს თამაშობს ABO სისტემის ანტიგენების სეროლოგიურ ჩამოყალიბებაზე. A და B ანტიგენების სინთეზში მათ აქვთ ე. წ. წინამორბედი ნივთიერების როლი. დავინტერესდით შეგვესწავლა H ანტიგენის სეროლოგიური თავისებურებანი როგორც დონორებში, ასევე ახალშობილებში.

შესწავლილი ორი AB (IV) ჯგუფის ახალშობილის შემთხვევაში H ანტიგენის აგლუტინობელოზობის უნარი დონორების მსგავსად შედარებით სუსტია (ცხრ.28).

28. AB (IV) ჯგუფის დონორების სეროლოგიური თავისებურებები

ნიმუშები	ანტი-A	ანტი-B	ანტი-AB	ანტი-H	A ერითრ.	B ერითრ.
1	+	+	+	+(სუსტი დონის აგლუტინაცია)	-	-
2	+	+	+	+(სუსტი დონის აგლუტინაცია)	-	-

ბუნებრივი ანტისხეულების რაოდენობრივი მახასიათებლები

საინტერესო იყო ბუნებრივი ანტისხეულების ტიტრის შესწავლა ახალშობილებში. საანალიზოდ რანდომულად შევარჩიეთ 10 შემთხვევა (ცხრ.29). საანალიზოდ აღებული იქნა მხოლოდ ის ნიმუშები, სადაც ბუნებრივი ანტისხეულები გამოვლინდა. როგორც ზემოთ ავლნიშნეთ, ახალშობილებში მათი სინთეზი ძირითადად არ ხდება.

ცხრილი 29. ბუნებრივი ანტისხეულების ტიტრი ახალშობილებში

N	ანტი-A	ანტი-B
1.	1:64	1:64
2.	1:64	1:64
3.	1:128	1:128
4.	1:128	1:128
5	1:256	1:128
6	1:128	1:32
7	1:64	1:32
8	1:64	1:64
9	1:64	1:128
10	1:32	1:128

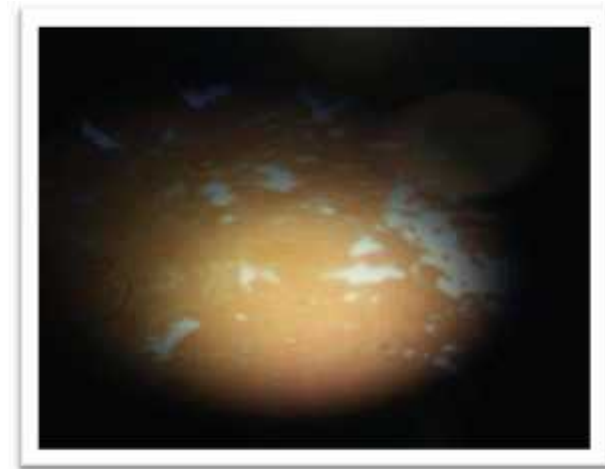
3	+	-	+	+ (საშუალო დონის აგლუტინაცია)	-	+
4	+	-	+	+ (საშუალო დონის აგლუტინაცია)	-	-
5	+	-	+	+ (საშუალო დონის აგლუტინაცია)	-	-

B (III) ჯგუფის ახალშობილთა H ანტიგენიც სეროლოგიურად ვლინდება. B (III) ჯგუფის ახალშობილთა H ანტიგენი ხასიათდება ასევე საშუალო აგლუტინობელურობის უნარი (ცხრ.27). ზემოთაღნიშნულის მსგავსად B (III) ჯგუფის ახალშობილების H ანტიგენიც თავისი სეროლოგიური შესაძლებლობით თითქმის უტოლდება B (III) ჯგუფის დონორების H ანტიგენის აგლუტინობელურობის თავისებურებას.

ცხრილი 27. B (III) ჯგუფის ახალშობილების სეროლოგიური თავისებურებები

ნიმუშები	ანტი-A	ანტი-B	ანტი-AB	ანტი-H	A ერიტრ.	B ერიტრ.
1	-	+	+	+ (საშუალო დონის აგლუტინაცია)	-	-
2	-	+	+	+ (საშუალო დონის აგლუტინაცია)	-	-
3	-	+	+	+ (საშუალო დონის აგლუტინაცია)	+	-
4	-	+	+	+ (საშუალო დონის აგლუტინაცია)	-	-
5	-	+	+	+ (სუსტი აგლუტინაცია)	+	-

ჩვენს მიერ შესწავლილ 40 დონორში და 17 ახალშობილში გაანალიზებული იქნა H ანტიგენის სეროლოგიური თვისებები. 40 დონორიდან თანაბარი რაოდენობითაა აღებული (10-10) ABO სისტემის თითოეული ფენოტიპური (O(I), A(II), B(III) და AB (IV) ჯგუფი). ასევე ახალშობილების O(I), A(II), B(III) ჯგუფის შემთხვევაში გაანალიზებული იქნა 5-5 ნიმუში, ხოლო AB (IV) შემთხვევაში კი მხოლოდ ორი ნიმუში (გამომდინარე იქედან რომ შესწავლილ 85 ახალშობილში მხოლოდ ორი ატარებდა AB ჯგუფურ თავისებურებას). საანალიზოდ აღებულ O(I) ფენოტიპური ჯგუფის ყველა დონორში H ანტიგენმა გამოავლინა ძლიერი აგლუტინობელურობის უნარი, რაც მეტყველებს იმ ფაქტზე, რომ O(I) ჯგუფის მატარებლთა ერითროციტებში დიდი რაოდენობით გვხვდება H ანტიგენი (სურ.25) (ცხრ.21).



სურათი 25 . H ანტიგენის ძლიერი აგლუტინობელურობა O(I) ფენოტიპური ჯგუფის მქონე დონორებში

რილი 21. O(I) ჯგუფის დონორების სეროლოგიური თავისებურებები

ნიმუშები	ანტი-A	ანტი-B	ანტი-AB	ანტი-H	A ერიორ.	B ერიორ.
1	-	-	-	+	+	+
2	-	-	-	+	+	+
3	-	-	-	+	+	+
4	-	-	-	+	+	+
5	-	-	-	+	+	+
6	-	-	-	+	+	+
7	-	-	-	+	+	+
8	-	-	-	+	+	+
9	-	-	-	+	+	+
10	-	-	-	+	+	+

დანარჩენი A(II), B(III) და AB (IV) ჯგუფების შემთხვევაში H ანტიგენის სეროლოგიურად გამოვლინების სურათი O(I) ფენოტიპური ჯგუფისაგან განსხვავებულია. აღნიშნულ შემთხვევაში ვლინდებოდა H ანტიგენის საშუალო დონის ან სუსტი აგლუტინაცია (სურ.26,27). ყოველივე ეს კი მიუთითებს A(II), B(III) და AB (IV) ჯგუფის მტარებლებში მისი მინიმალურს რაოდენობაზე. განსაკუთრებით სუსტ აგლუტინობელობას H ანტიგენი ავლენდა AB (IV) ფენოტიპური ჯგუფის შემთხვევაში.

აგლუტინობელობა მცირედით ჩამოუვარდება O (I) დონორთა H ანტიგენის სეროლოგიურ თავისებურებებს.

ცხრილი 25. O(I) ჯგუფის ახალშობილთა სეროლოგიური თავისებურებები

ნიმუშები	ანტი-A	ანტი-B	ანტი-AB	ანტი-H	A ერიორ.	B ერიორ.
1	-	-	-	+	-	-
2	-	-	-	+	-	-
3	-	-	-	+	-	-
4	-	-	-	+	+	-
5	-	-	-	+	-	+

როგორც ქვემოთ მოტანილი ცხრილიდან ჩანს (ცხრ.26) A(II) ჯგუფის ახალშობილებში H ანტიგენი სეროლოგიურად ვლინდება. ხუთივე ახალშობილში გვხვდება H ანტიგენის საშუალო აგლუტინობელობის უნარი. აღსანიშნავია, რომ A(II) ჯგუფის ახალშობილების H ანტიგენი თავისი სეროლოგიური შესაძლებლობით თითქმის უტოლდება A(II) ჯგუფის დონორების H ანტიგენის აგლუტინობელობის უნარს.

ცხრილი 26. A(II) ჯგუფის ახალშობილთა სეროლოგიური თავისებურებები

ნიმუშები	ანტი-A	ანტი-B	ანტი-AB	ანტი-H	A ერიორ.	B ერიორ.
1	+	-	+	+	-	-
2	+	-	+	+	-	-

ორი შემთხვევების გარდა აგლუტინაციის ვიზუალიზაციისათვის გამოყენებული იქნა მიკროსკოპირების მეთოდი. ერთ შემთხვევაში კი H ანტიგენი სეროლოგიურად საერთოდ ვერ გამოვავლინეთ (ცხრ.24).

ცხრილი 24 . AB (IV) ჯგუფის დონორების სეროლოგიური თავისებურებები

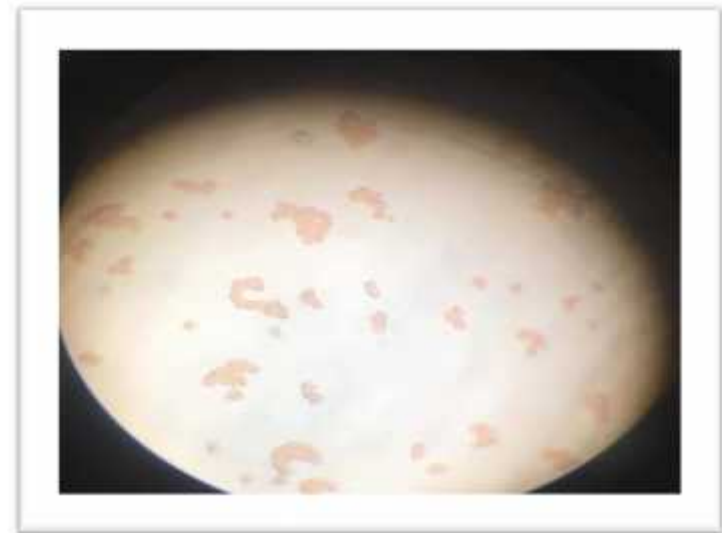
ნიმუშები	ანტი-A	ანტი-B	ანტი-AB	ანტი-H	A ერთ.	B ერთ.
1	+	+	+	(სუსტი დონის აგლუტინაცია)	-	-
2	+	+	+	(სუსტი დონის აგლუტინაცია)	-	-
3	+	+	+	(სუსტი დონის აგლუტინაცია)	-	-
4	+	+	+	(სუსტი დონის აგლუტინაცია)	-	-
5	+	+	+	(სუსტი დონის აგლუტინაცია)	-	-
6	+	+	+	(სუსტი დონის აგლუტინაცია)	-	-
7	+	+	+	(სუსტი დონის აგლუტინაცია)	-	-
8	+	+	+	(სუსტი დონის აგლუტინაცია)	-	-
9	+	+	+	(საშუალო დონის აგლუტინაცია)	-	-
10	+	+	+	-	-	-

როგორც ზემოთ ავლინეთ H ანტიგენის აგლუტინობელოზა შეფასდა ახალშობილთა ნიმუშებშიც. აღებული იქნა 17 ახალშობილის ნიმუში, მათგან 5 ნიმუში 0 (I) ფენოტიპური სპეციფიურობის მატარებელია.

0 (I) ფენოტიპური თავისებურების მქონე ახალშობილთა ხუთივე საკვლევ ნიმუშში H ანტიგენი სეროლოგიურად გამოვლინდა (ცხრ.25), მაგრამ აღსანიშნავია ის, რომ ვიზუალურად მისი



სურათი 26 . H ანტიგენის საშუალო დონის აგლუტინობელოზა A(II), B(III) და AB (IV) ფენოტიპური ჯგუფის მქონე დონორებში



სურათი 27 . H ანტიგენის სუსტი აგლუტინობელოზა A(II), B(III) და AB (IV) ფენოტიპური ჯგუფის მქონე დონორებში

როგორც ქვემოთ მოტანილი ცხრილიდან ჩანს (ცხრ.22) A(II) ჯგუფის დონორებში H ანტიგენი სეროლოგიურად ვლინდება. უმრავლეს შემთხვევაში (6/10) გვხვდება მისი საშუალო აგლუტინობელურობის უნარი. 10 დონორიდან 4 დონორში დაფიქსირდა H ანტიგენის ძალიან სუსტი სეროლოგიური თავისებურებები. შესაძლებელია აღნიშნული ფაქტორით ვისაუბროთ გენების ჰომო- ან ჰეტეროზიგოტურ ვარიანტებზე. კერძოდ იქ, სადაც გვხვდება H ანტიგენის ძალიან სუსტი აგლუტინობელურობა გვაქვს ჰომოზიგოტური მდგომარეობა. რაც მომდევნო კვლევის ეტაპს წარმოადგენს.

ცხრილი 22 . A(II)ჯგუფის დონორების სეროლოგიური თავისებურებები

ნიმუშები	ანტი-A	ანტი-B	ანტი-AB	ანტი-H	A ერთრ.	B ერთრ.
1	+	-	+	+ (საშუალო დონის აგლუტინაცია)	-	+
2	+	-	+	+ (საშუალო დონის აგლუტინაცია)	-	+
3	+	-	+	+ (საშუალო დონის აგლუტინაცია)	-	+
4	+	-	+	+ (საშუალო დონის აგლუტინაცია)	-	+
5	+	-	+	+ (საშუალო დონის აგლუტინაცია)	-	+
6	+	-	+	+ (საშუალო დონის აგლუტინაცია)	-	+
7	+	-	+	+ (სუსტი აგლუტინაცია)	-	+
8	+	-	+	+ (სუსტი აგლუტინაცია)	-	+
9	+	-	+	+ (სუსტი აგლუტინაცია)	-	+
10	+	-	+	+ (სუსტი აგლუტინაცია)	-	+

B (III) ჯგუფის დონორებში H ანტიგენი სეროლოგიურად ვლინდება (ცხრ.23). B (III) ჯგუფის დონორთა ნახევარში (5/10) გვხვდება H ანტიგენის საშუალო აგლუტინობელურობის უნარი,

ნახევარში კი აღნიშნული აგლუტინაცია საკმაოდ დაბალი სიძლიერისაა და შეუიარაღებელი თვალით მისი გარჩევა შეუძლებელი იყო. როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ აქაც შეიძლება მეტ-ნაკლები სიზუსტით ვისაუბროთ გენების ჰომო- ან ჰეტეროზიგოტურ ვარიანტებზე. რაც ასევე მომდევნო კვლევის ეტაპს წარმოადგენს.

ცხრილი 23. B (III) ჯგუფის დონორების სეროლოგიური თავისებურებები

ნიმუშები	ანტი-A	ანტი-B	ანტი-AB	ანტი-H	A ერთრ.	B ერთრ.
1	-	+	+	+ (საშუალო დონის აგლუტინაცია)	+	-
2	-	+	+	+ (საშუალო დონის აგლუტინაცია)	+	-
3	-	+	+	+ (საშუალო დონის აგლუტინაცია)	+	-
4	-	+	+	+ (საშუალო დონის აგლუტინაცია)	+	-
5	-	+	+	+ (სუსტი აგლუტინაცია)	+	-
6	-	+	+	+ (სუსტი აგლუტინაცია)	+	-
7	-	+	+	+ (სუსტი აგლუტინაცია)	+	-
8	-	+	+	+ (სუსტი აგლუტინაცია)	+	-
9	-	+	+	+ (სუსტი აგლუტინაცია)	+	-
10	-	+	+	+ (სუსტი აგლუტინაცია)	+	-

შესწავლილი ათი AB (IV) ჯგუფის დონორის შემთხვევაში H ანტიგენის აგლუტინობელურობის უნარი განსაკუთრებით სუსტია.